Özgün Araştırma/Original Article *Mikrobiyol Bul 2026;60(4):425-436*/doi: 10.5578/mb.20260459

Geliş Tarihi (Received): 20.03.2026 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 19.07.2026

Staphylococcus aureus İzolatlarında hVISA Sıklığının PAP-AUC Yöntemiyle Saptanması ve Delafloksasinin In Vitro Etkinliğinin Araştırılması

Determination of hVISA Prevalence in *Staphylococcus aureus* Isolates Using the PAP-AUC Method and Evaluation of the In Vitro Activity of Delafloxacin

Merve AKTI[1](ID), Hatice YAZISIZ[1](ID), Hande AFŞARLAR[2](ID), Djursun KARASARTOVA[2](ID), Ünsal SAVCI[2](ID), Meral Dilara ÖĞÜNÇ[1](ID)

[1] Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya.
[1] *Akdeniz University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Antalya, Türkiye.*

[2] Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çorum.
[2] *Hitit University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Çorum, Türkiye.*

**Bu çalışma Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından TIP19004.23.001 numaralı proje olarak desteklenmiştir. Çalışmadan elde edilen veriler,19-23 Kasım 2025 tarihlerinde gerçekleşen 8. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi'nde sözlü sunum olarak sunulmuştur.*

Makale Atıfı: *Aktı M, Yazısız H, Afşarlar H, Karasartova D, Savcı Ü, Öğünç MD. Staphylococcus aureus izolatlarında hVISA sıklığının PAP-AUC yöntemiyle saptanması ve delafloksasinin in vitro etkinliğinin araştırılması. Mikrobiyol Bul 2026;60(4):425-436.*

ÖZ

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) enfeksiyonlarının tedavisinde vankomisinin artan kullanımı vankomisin direnci endişelerini beraberinde getirmekte ve MRSA'ya karşı delafloksasin gibi alternatif yeni antimikrobiyaller geliştirilmektedir. Bu çalışmada, *S.aureus* izolatlarında heterodirençli vankomisin orta dirençli *S.aureus* (hVISA) sıklığının popülasyon profili analizi-eğri altında kalan alan (PAP-AUC) yöntemiyle belirlenmesi ve delafloksasine karşı in vitro duyarlılığının sıvı mikrodilüsyon (SMD) yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca bu izolatlarda metisilin direnci saptayan farklı yöntemlerin performansları karşılaştırılmıştır. Çalışmaya 2021-2023 yılları arasında yara, doku, derin trakeal aspirat ve balgam örneklerinden izole edilen toplam 105 *S.aureus* izolatı dahil edilmiştir. İzolatların tanımlanması konvansiyonel yöntemler ve matris destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş süresi kütle spektrometrisi (Bruker Daltonics, Almanya) sistemiyle gerçekleştirilmiştir. Metisilin direnci; sefoksitin (30 µg) (Bioanalyse, Türkiye) disk difüzyon, VITEK 2 otomatize sistem (bioMérieux, Fransa) ve *mec*A ile *mec*C gen bölgelerinin polimeraz zincir reaksiyonu [polymerase chain reaction (PCR)] ile araştırılmasıyla saptanmıştır. İzolatların vankomisin, teikoplanin ve delafloksasin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri SMD yöntemiyle belirlenmiştir. hVISA varlığı, teikoplanin agar tarama ve makro-gradiyent test yöntemleriyle araştırılmış; altın standart yöntem olarak kabul edilen PAP-AUC analiziyle doğrulama yapılmıştır. *mec*A geni PCR ile %61 oranında saptanırken, hiçbir izolatta *mec*C geni tespit edilmemiştir. Referans yöntem olan PCR ile karşılaştırıldığında; sefoksitin disk difüzyon, VITEK 2 oksasilin MİK ve VITEK 2 sefoksitin tarama yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla %100 ve %97.6; %100 ve %92.7; %100 ve %87.8 bulunmuştur. SMD

İletişim (Correspondence): *Doç. Dr. Hatice Yazısız, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye.* ***Tel (Phone):*** *+90 (242) 249 34 73,* ***E-posta (E-mail):*** *drhyazisiz@yahoo.com.tr*

yöntemiyle tüm izolatlar vankomisin duyarlı iken bir izolat teikoplanine dirençli saptanmıştır. Teikoplanin agar tarama yöntemi ile 12 izolat olası hVISA olarak tanımlanmıştır. PAP-AUC yöntemiyle, bunlardan ikisinde (%1.9) [bir MRSA ve bir metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA)] hVISA varlığı doğrulanmıştır. *S.aureus* izolatlarının delafloksasin duyarlılık oranı %81.9 (MRSA'da %75, MSSA'da %92.7) olarak saptanmıştır. Sonuç olarak, *S.aureus* izolatlarında metisilin direncinin saptanmasında sefoksitin disk difüzyon yöntemi en yüksek performansı göstermiştir. Stafilokok enfeksiyonlarında, vankomisin tedavi başarısızlığına yol açma potansiyeli taşıyan hVISA düşük oranda saptanmıştır. Yeni bir tedavi seçeneği olan delafloksasine karşı direnç oranı ise %18.1 bulunmuş, MRSA izolatlarında daha yüksek direnç gözlemlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *Staphylococcus aureus; metisilin direnci; MRSA; hVISA; PAP-AUC; delafloksasin.*

ABSTRACT

The increasing use of vancomycin in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections has raised concerns about vancomycin resistance, leading to the development of alternative antimicrobials such as delafloxacin against MRSA.This study aimed to determine the frequency of heteroresistant vancomycin-intermediate *S.aureus* (hVISA) among *S.aureus* isolates using the population analysis profile–area under the curve (PAP-AUC) method and to investigate their in vitro susceptibility to delafloxacin using the broth microdilution (BMD) method. Additionally, the performances of different methods for detecting methicillin resistance in these isolates were compared. A total of 105 *S.aureus* isolates, recovered from wound, tissue, deep tracheal aspirate and sputum specimens between 2021 and 2023, were included in the study. Identification was performed using conventional methods and the matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (Bruker Daltonics, Germany) system. Methicillin resistance was determined using the cefoxitin (30 µg) disk diffusion method (Bioanalyse, Türkiye), VITEK 2 automated system (bioMérieux, France), and polymerase chain reaction (PCR) for the detection of *mec*A and *mec*C gene regions. The minimum inhibitory concentration (MIC) values of vancomycin, teicoplanin and delafloxacin for the isolates were determined via the BMD method. The presence of hVISA was investigated using the teicoplanin agar screening and macro-gradient test methods, followed by confirmation with the gold standard PAP-AUC analysis. The *mec*A gene was detected in 61% of the isolates via PCR, while the *mec*C gene was not identified in any isolate. Compared to the PCR as the reference method, the sensitivity and specificity of cefoxitin disk diffusion, VITEK 2 oxacillin MIC and VITEK 2 cefoxitin screening were 100% and 97.6%; 100% and 92.7%; 100% and 87.8%, respectively. Using the BMD method, all isolates were found to be susceptible to vancomycin, while teicoplanin resistance was detected in one isolate. Twelve isolates were identified as presumptive hVISA by the teicoplanin agar screening method. hVISA was confirmed in only two (1.9%) [one MRSA and one methicillin susceptible *S.aureus* (MSSA)] using the PAP-AUC method. The overall susceptibility rate of *S.aureus* isolates to delafloxacin was 81.9% (75% for MRSA and 92.7% for MSSA). In conclusion, the cefoxitin disk diffusion method demonstrated the highest performance in detecting methicillin resistance in *S.aureus* isolates. hVISA, which has the potential to lead to vancomycin treatment failure in staphylococcal infections was detected at a low rate. The resistance rate to delafloxacin which is a new treatment option was found to be 18.1%, with a higher resistance observed among MRSA isolates.

Keywords: *Staphylococcus aureus; methicillin resistance; MRSA; hVISA; PAP-AUC; delafloxacin.*

GİRİŞ

Staphylococcus aureus, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının yanı sıra kateterle ilişkili enfeksiyonlar, gıda zehirlenmesi, pnömoni veya kan dolaşımı enfeksiyonları gibi çok çeşitli hastalıklara neden olabilen bir bakteridir. Metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) dünya genelinde yüksek morbidite ve mortaliteye neden olabilen önemli bir toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyon etkenidir[1,2]. *S.aureus*'un yeni antibiyotiklere hızla uyum sağlama yeteneği nedeniyle antibiyotik direncinin izlenmesi çok önemlidir[2]. *mec*A geni ya da

onun homologlarının kazanılması stafilokok türlerinde beta laktam direncine neden olan en önemli mekanizmadır[3]. Metisilin direnci saptanmasında polimeraz zincir reaksiyonu [polymerase chain reaction (PCR)] yöntemiyle *mec*A geninin saptanması uzun zamandır altın standart yöntem olarak kabul edilmektedir[1].

Vankomisin, glikopeptitler sınıfındaki ilk antibiyotiktir ve MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde önerilir[4]. Vankomisin orta dirençli *S.aureus* (VISA) fenotipi, başlıca hücre duvarında meydana gelen yapısal ve moleküler adaptasyonlar sonucu ortaya çıkar ve bu değişiklikler glikopeptid antibiyotiklere duyarlılığı azaltır[5]. Heterodirençli vankomisin orta dirençli *S.aureus* (hVISA), duyarlı aralıkta minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri gösterir ancak dirençli bir fenotip sergileyen bir alt popülasyon içerir. VISA ve hVISA'nın neden olduğu enfeksiyonlar, vankomisin tedavisi başarısızlığı oranlarının artmasına yol açar ve hastanede kalış süresinin uzaması, persistan enfeksiyon riskinin artması ve tedavi maliyetlerinin yükselmesi ile ilişkilidir[6]. hVISA araştırılmasında makro gradiyent test, glikopeptid direncinin saptanması için gradiyent test (G-test), teikoplanin tarama agarı ve popülasyon profili analizi-eğri altında kalan alan (PAP-AUC) yöntemleri kullanılabilmektedir[4,7]. Ancak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ve diğer kültür tabanlı yöntemler bu suşları doğru şekilde tespit edememektedir. PAP-AUC yöntemi altın standart olarak kabul edilmekle birlikte; zaman alıcı olması ve teknik karmaşıklığı nedeniyle birçok laboratuvarda rutin olarak kullanılmamaktadır[4].

Delafloksasin akut bakteriyel deri ve deri ekleri enfeksiyonlarının ve toplum kökenli bakteriyel pnömoni tedavisinde Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi onayı almış yeni bir kinolon grubu antibiyotiktir[8,9]. Delafloksasinin; siprofloksasin ve levofloksasin gibi diğer florokinolonlara kıyasla MRSA dahil stafilokoklara karşı en aktif florokinolon olduğu belirtilmektedir. Ayrıca *S.aureus* enfeksiyonlarının tedavisinde umut vadeden bir seçenek olarak bildirilmektedir[10].

Bu çalışmada üçüncü basamak bir hastanede çeşitli klinik örneklerden izole edilen *S.aureus* suşlarında PAP-AUC yöntemiyle hVISA izolatlarının prevalansının araştırılması ve yeni nesil bir florokinolon olan delafloksasinin in vitro etkinliğinin sıvı mikrodilüsyon (SMD) yöntemiyle belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, bu izolatlarda metisilin direnci saptayan farklı yöntemlerin performansları karşılaştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandı (Tarih: 28.02.2023 ve Karar no: 2023-21).

İzolatların Toplanması ve Tanımlanması

Çalışmaya Haziran 2021-Ekim 2023 tarihleri arasında yara, doku, derin trakeal aspirat (DTA) ve balgam örneklerinden izole edilen toplam 105 *S.aureus* izolatı dahil edildi. İzolatların tanımlanması; konvansiyonel yöntemler (Gram boyama, katalaz ve tüpte koagülaz testleri) ve matris destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş süresi kütle spektrometrisi (Bruker Daltonics, Almanya) sistemiyle gerçekleştirildi.

Metisilin Direnci Saptanması

Metisilin direnci, sefoksitin (30 µg) diski (Bioanalyse, Türkiye) kullanılarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi, VITEK 2 otomatize sistem (bioMérieux, Fransa) ve PCR (*mec*A, *mec*C gen bölgesi) yöntemleriyle araştırıldı.

***mec*A ve *mec*C Gen Bölgelerinin Araştırılması**

Bakteriyel DNA üretici firmanın önerileri doğrultusunda EURx GeneMATRIX TISSUE & BACTERIAL DNA Purification kiti (v1.3 EURx, Gdańsk, Polonya) kullanılarak ekstrakte edildi. Amplifikasyon, Mastercycler (Eppendorf, Almanya) cihazı kullanılarak toplam 25 µl hacimde gerçekleştirildi. Reaksiyon karışımı; 1× PCR tamponu, 1.5 mM $MgCl_2$, her bir dNTP'den 100 µM, her bir primerden 0.4 µM, 1.25 U Taq DNA polimeraz (EURx DNA Polymerase, Gdańsk, Polonya), 1 µl kalıp DNA ve son hacim 25 µl olacak şekilde nükleaz içermeyen su içerecek şekilde hazırlandı.

Çıkman ve arkadaşları[11] tarafından kullanılan yöntem referans alınarak *mec*A gen bölgesinin belirlenmesinde F= 5'-TCC AGA TTA CAA CTT CAC CAG G-3' ve R= 5'-CCA CTT CAT ATC TTG TAA CG-3'; *mec*C gen bölgesinin belirlenmesinde F= 5'-GAA AAA AAG GCT TAG AAC GCC TC-3' ve R= 5'-GAA GAT CTT TTC CGT TTT CAG C-3' primerleri kullanıldı. Amplifikasyon işlemi, 94 °C'de dört dakikalık başlangıç denatürasyonunun ardından; *mec*A geni için 30 döngü (94 °C'de 30 saniye, 53 °C'de 30 saniye, 72 °C'de bir dakika) ve dört dakikalık son uzama; *mec*C geni için ise 35 döngü (94 °C'de 30 saniye, 55 °C'de 30 saniye, 72 °C'de bir dakika) ve 10 dakikalık son uzama basamakları şeklinde gerçekleştirildi. PCR ürünleri agaroz jel elektroforezinde yürütüldü ve UV transillüminatör (Major Science) kullanılarak görüntülendi. Pozitif kontrol olarak MRSA referans suşları olan NCTC 12493 (*mec*A pozitif) ve NCTC 13552 (*mec*C pozitif) kullanıldı.

Metisilin direncinin saptanmasında PCR, sefoksitin disk difüzyon, VITEK 2 oksasilin MİK ve VITEK 2 sefoksitin tarama yöntemleri arasında uyumsuzluk saptandığında, izolatlar pasajlanarak saflık açısından kontrol edildi, izolatların tanımlanması doğrulandı. PCR, sefoksitin disk difüzyon, VITEK 2 oksasilin MİK ve VITEK 2 sefoksitin tarama testleri tekrarlandı.

Vankomisin, Teikoplanin ve Delafloksasin Duyarlılıklarının Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile Saptanması

International Organization for Standardization standartlarına uygun olarak; analitik saflıkta vankomisin (Carbosynth, İngiltere), teikoplanin (Carbosynth, İngiltere) ve delafloksasin (Carbosynth, İngiltere) etken maddeleri ile katyonu ayarlanmış Mueller Hinton sıvı besiyeri (BD BBL Mueller Hinton II Broth) kullanılarak sıvı mikrodilüsyon panelleri hazırlandı. MİK değerleri Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi [European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)] önerilerine göre değerlendirildi[12,13].

hVISA Saptanması

Çalışmada hVISA saptanmasında EUCAST önerileri doğrultusunda tarama yöntemi olarak makro gradiyent test ve teikoplanin agar tarama yöntemi, doğrulama yöntemi

olarak PAP-AUC uygulandı. Teikoplanin agar tarama yönteminde 5 mg/L teikoplanin içeren Mueller Hinton plağı (Condalab, İspanya) kullanıldı.

Makro gradiyent test yöntemi ve PAP-AUC yöntemi Wootton ve arkadaşlarının[14] uyguladığı yöntem referans alınarak çalışıldı. Öncelikle sadece teikoplanin gradiyent test şeritleri (bioMérieux, Fransa) konuldu, teikoplanin MİK ≥8 mg/L olan izolatlara vankomisin ve teikoplanin gradiyent test şeritleri (bioMérieux, Fransa) birlikte konuldu. Teikoplanin MİK ≥12 mg/L veya vankomisin ve teikoplanin sonucu ≥8 mg/L izolatlar olası hVISA olarak değerlendirildi. Bu izolatlarda hVISA varlığını doğrulamak için PAP-AUC yöntemi çalışıldı. Çalışmalarda metisiline ve vankomisine duyarlı *S.aureus* (ATCC 29213), VISA (Mu50, ATCC 700699), hVISA (Mu3, ATCC 700698) kalite kontrol suşları kullanıldı[7,14].

Levofloksasin Duyarlılığının Belirlenmesi

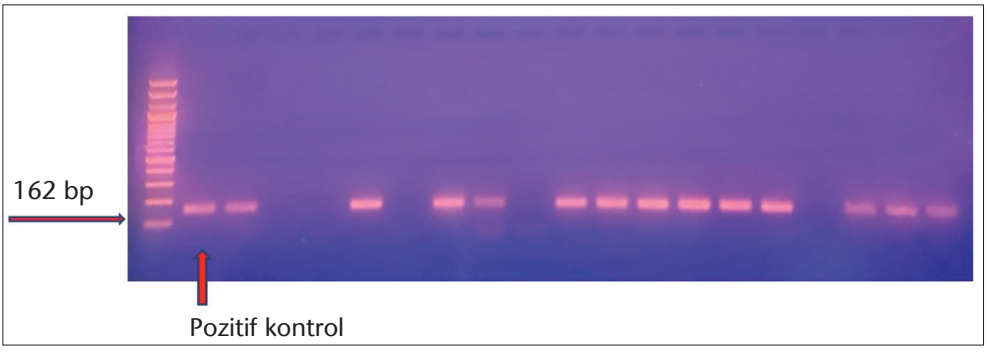
VITEK 2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sisteminde VITEK 2 AST GP kartları (P664-P640) kullanıldı.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler Statistical Package for the Social Sciences v23.0 kullanılarak yapıldı. Veriler tanımlayıcı istatistikler kullanılarak analiz edildi. Kategorik veriler sayı (n) ve yüzde (%) olarak hesaplandı. Yöntemlerin etkinlik karşılaştırmaları için duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değer analizleri yapıldı.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen izolatların (n= 105) hastane birimlerine göre dağılımı incelendiğinde, örneklerin %43.8 (n= 46)'inin yataklı servislerden, %39.0 (n= 41)'unun yoğun bakım üniteleri (YBÜ)'nden ve %17.2 (n= 18)'sinin poliklinik hastalarından elde edildiği saptanmıştır. Klinik örnek tiplerine göre dağılım değerlendirildiğinde ise %47.6 (n= 50)'sının yara sürüntüsü, %35.2 (n= 37)'sinin DTA, %14.3 (n= 15)'ünün balgam ve %2.9 (n= 3)'unun doku örneklerinden izole edildiği belirlenmiştir.



Şekil 1. *mecA geni PCR ürününe ait agaroz jel elektroforezi görüntüsü.*

Tablo I. *Metisilin Direnci Saptamada Sefoksitin Disk Difüzyon Yöntemi ve VITEK 2 Sonuçlarının mecA Geni Varlığına Göre Karşılaştırılması*

Yöntem	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	Pozitif prediktif değer (%)	Negatif preditiktif değer (%)
D-FOX	100	97.6	98.5	100
V-FOX	100	87.8	92.7	100
V-OXA	100	92.7	95.5	100

D-FOX: Sefoksitin disk difüzyon, V-FOX: VITEK 2 sefoksitin tarama, V-OXA: VITEK 2 oksasilin MİK.

PCR yöntemi ile izolatların 64 (%61)'ünde *mec*A geni saptanırken, *mec*C geni hiçbir izolatta tespit edilmemiştir (Şekil 1). Metisilin direncinin saptanmasında referans yöntem olarak PCR esas alınarak; sefoksitin disk difüzyon, VITEK 2 oksasilin MİK ve VITEK 2 sefoksitin tarama yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla %100 ve %97.6; %100 ve %92.7; %100 ve %87.8 olarak hesaplanmıştır. Bu yöntemler arasında en iyi performansın sefoksitin disk difüzyon yöntemine ait olduğu görülmüştür (Tablo I).

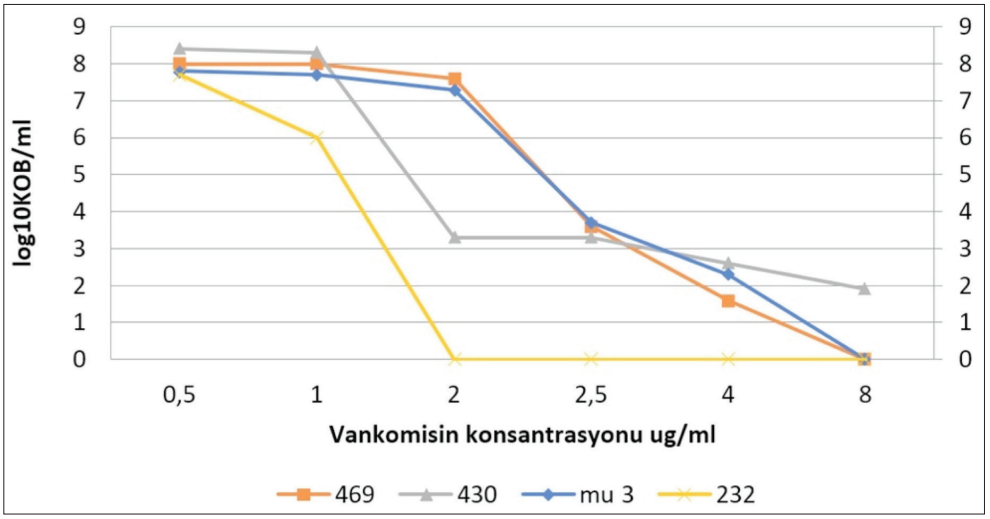
MRSA izolatlarının %45.3'ü yoğun bakım, %42.2'si servis, %12.5'i poliklinik; metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA) izolatlarının %46.3'ü servis, %29.3'ü yoğun bakım, %24.4'ü poliklinik hastalarından izole edilmiştir. MRSA izolatlarının %43.8'inin DTA, %39.1'inin yara, %12.5'inin balgam, %4.7'sinin doku örneklerinden; MSSA izolatlarının %60.9'unun yara, %22'sinin DTA, %17.1'inin balgam örneklerinden izole edildiği gözlenmiştir. Metisilin direnç oranı ayaktan hasta izolatlarında %44.4 (8/18), serviste yatan hasta izolatlarında %58.7 (27/46) ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hasta izolatlarında %70.7 (29/41) olarak belirlenmiştir. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hasta izolatlarında metisilin direnç oranı daha yüksek olmasına rağmen hasta grupları arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p= 0.149). Yara/doku izolatlarında %52.8 (28/53), balgam izolatlarında %53.3 (8/15), DTA izolatlarında %75.7 (28/37) oranında MRSA saptanmıştır, örnek türleri arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p= 0.074).

Tüm *S.aureus* izolatları (n= 105) SMD yöntemi ile vankomisine duyarlı (MİK aralığı= 0.5-2 mg/L) bulunmuştur. Bir izolat teikoplanine (MİK= 4 mg/L) dirençli saptanmıştır. Vankomisin için $MİK_{50}$ değeri 1 mg/L ve $MİK_{90}$ değeri 2 mg/L, teikoplanin için $MİK_{50}$ değeri 0.5 mg/L ve $MİK_{90}$ değeri 1 mg/L olarak bulunmuştur. İzolatların hVISA açısından taranmasında, makro gradiyent test yöntemi ile olası hVISA saptanmazken, teikoplanin agar tarama yöntemi ile 12 izolat (%11.4) olası hVISA olarak belirlenmiştir. Dosya bilgileri incelendiğinde, hastaların vankomisin kullanım öyküleri bulunmamıştır. Çalışmaya dahil edilen izolatlarla oluşan enfeksiyon süreçlerinde hastalara glikopeptid tedavisi başlanıp başlanmadığı incelendiğinde, kültürde üreme sonrası iki hastanın (369-797) vankomisin, iki hastanın (503-744) teikoplanin tedavisi aldığı gözlenmiştir. Olası hVISA olarak değerlendirilen ve PAP-AUC çalışmasına alınan 12 izolatın özellikleri Tablo II'de gösterilmiştir. PAP-AUC yöntemine göre iki izolat (%1.9) hVISA olarak değerlendirilmiştir[14]. PAP-AUC grafiği Şekil 2'de, diğer sonuçlar ise Tablo III'te gösterilmiştir.

Tablo II. *Teikoplanin Agar Tarama Yöntemi ile Olası hVISA Saptanan ve PAP-AUC Çalışmasına Alınan 12 İzolatın Özellikleri*

İzolat No	Klinik	Örnek Türü	*mec*A	Vankomisin MİK (mg/L)	Teikoplanin MİK (mg/L)	Geçirilmiş MRSA enfeksiyonu	Diyabet	Malignite	Ameliyat
232	YB	DTA	(+)	1 mg/L	0.25 mg/L	(-)	(-)	(-)	(-)
346	YB	DTA	(+)	2 mg/L	0.5 mg/L	(-)	(-)	(-)	(-)
361	YB	DTA	(+)	1 mg/L	0.5 mg/L	(-)	(-)	(+)	(+)
369	YB	YARA	(+)	2 mg/L	0.25 mg/L	(+)	(-)	(-)	(-)
391	YB	BALGAM	(+)	2 mg/L	4 mg/L	(+)	(-)	(-)	(-)
430	YB	DTA	(-)	1 mg/L	2 mg/L	(-)	(-)	(-)	(-)
469	S	YARA	(+)	2 mg/L	2 mg/L	(+)	(-)	(-)	(+)
503	YB	YARA	(+)	2 mg/L	1 mg/L	(-)	(-)	(-)	(-)
744	S	BALGAM	(-)	2 mg/L	0.25 mg/L	(-)	(-)	(-)	(-)
797	YB	DTA	(+)	1 mg/L	2 mg/L	(-)	(-)	(-)	(-)
835	S	BALGAM	(+)	1 mg/L	0.5 mg/L	(-)	(+)	(+)	(+)
843	PLK	YARA	(-)	1 mg/L	0.5 mg/L	(-)	(-)	(-)	(-)

YB: Yoğun bakım, S: Servis PLK: Poliklinik DTA: Derin trakeal aspirat, MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon, MRSA: Metisilin dirençli *S.aureus*.



Şekil 2. *En düşük PAP-AUC alanına sahip izolat (232 stok numaralı izolat), hVISA olarak değerlendirilen iki izolat (430 ve 469 stok numaralı izolat) ve Mu3 pozitif kontrol izolatına ait PAP-AUC grafiği.*

Tablo III. *hVISA Olarak Değerlendirilen İki İzolatın Özellikleri*

İzolat Stok No	Klinik	Vankomisin SMD MİK	Teikoplanin SMD MİK	MET ile olası hVISA	MHA5T ile olası hVISA	PAP-AUC değeri	*mec*A	*mec*C
430	Yoğun Bakım	1 mg/L	2 mg/L	Neg	Poz	1.12	Neg	Neg
469	Servis	2 mg/L	2 mg/L	Neg	Poz	0.97	Poz	Neg

SMD: Sıvı mikrodilüsyon, MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon, MET: Makro gradiyent test yöntemi, MHA5T: 5 mg/L teikoplanin içeren Mueller hinton agar tarama yöntemi, PAP-AUC: Popülasyon profili analizi-eğri altında kalan alan, Neg: Negatif, Poz: Pozitif.

S.aureus izolatlarında delafloksasin duyarlılık oranı %81.9 olarak saptanmıştır (MRSA izolatlarında %75, MSSA izolatlarında %92.7). Tüm izolatlarda delafloksasin için MİK50/90 değeri 0.008 mg/L/0.5 mg/L; MSSA izolatlarında 0.008 mg/L/0.016 mg/L; MRSA izolatlarında 0.008 mg/L/0.5 mg/L bulunmuştur. Balgam-DTA izolatlarının %21.2'si, yara-doku izolatlarının ise %15.1'i delafloksasine dirençli bulunmuştur. PAP-AUC yöntemi ile hVISA olarak belirlenen iki izolat delafloksasine duyarlı saptanmıştır. Levofloksasin direnç oranı *S.aureus* izolatlarında %19 (MRSA izolatlarında %26.6, MSSA izolatlarında %7.3) olarak tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

MRSA son yıllarda solunum yolu, kan dolaşımı ve deri enfeksiyonları ile sıklıkla ilişkilendirilmekte olup, hem hastane ortamında hem de toplumda yaygın olarak görülerek önemli düzeyde morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır[15]. Metisilin direncinin belirlenmesinde fenotipik ve genotipik tanı yöntemlerinden yararlanılmaktadır[2].

PCR yönteminin referans alındığı çalışmamızda; metisilin direncini saptamaya yönelik fenotipik yöntemler arasında en yüksek performansı sefoksitin disk difüzyon yöntemi (%100 duyarlılık, %97.6 özgüllük) göstermiştir. Bu veriler, sefoksitin disk difüzyon testinin rutin laboratuvar tanısında güvenilir bir seçenek olduğunu desteklemektedir. Sadece bir izolat PCR yöntemi ile *mec*A geni negatif bulunurken disk diffüzyon yöntemi ile sefoksitine dirençli olarak saptanmıştır. Clinical and Laboratory Standards Institute, *mec*A geni negatif bulunan ve sefoksitin dirençli olduğu belirlenen izolatların metisilin (oksasilin) dirençli olarak rapor edilmesini önermektedir[16]. *mec*A varyant geni aracılığıyla oluşan metisilin direnci, *mec*A PCR ile tespit edilememektedir. Bu durumda *mec*A homologlarını da içeren PCR testinin uygulanması önerilmektedir[3,17].

Vankomisin, MRSA'nın klinik tedavisinde tercih edilen ilaçtır ancak son yıllarda akılcı olmayan kullanımı nedeniyle vankomisine duyarlılık azalmaktadır[15]. hVISA prevalansının belirlenmesi enfeksiyon kontrolü ve vankomisin tedavisindeki başarısızlıktaki rolü nedeniyle önemlidir fakat çoğu hastanede bu oran bilinmemektedir[18]. 1997-2019 yılları arasındaki verileri kullanarak yapılan sistematik bir inceleme ve meta-analiz, 2010 yılından önce VISA ve hVISA'nın genel prevalansının sırasıyla %1.2 ve %4 olduğunu, bu yıldan sonra ise prevalansın %4.3 ve %5.3'e yükseldiğini göstermiştir[6]. hVISA suşlarının küresel dağılımını değerlendiren diğer bir sistematik inceleme ve meta-analizde (1997-2021), klinik MRSA izolatları arasında genel prevalans oranının %6.4 olduğu, kıtalararası dağılıma bakıldığında bu oranın Asya'da %6.1 ve Avrupa ile Amerika'da %6.8 olduğu bildirilmiştir[4]. Ülkemizde MRSA izolatları ile yapılan çalışmalarda, PAP-AUC yöntemi kullanılarak hVISA oranları %1.5, %13.7 ve %17.30 olarak bildirilmiştir[19-21]. Bu üç araştırmada da görüldüğü üzere; izolatların toplandığı yıllar, örneklem sayıları, test edilen hasta popülasyonları ve hVISA tarama yöntemlerindeki varyasyonlar nedeniyle sonuçları doğrudan karşılaştırmak mümkün olmamaktadır. Çalışmamızda hVISA saptanmasında EUCAST önerileri doğrultusunda tarama yöntemi olarak makro gradiyent testi ve teikoplanin agar tarama yöntemi, doğrulama yöntemi olarak PAP-AUC uygulanmıştır. Teikoplanin agar tarama yöntemi ile %11.4 oranında olası hVISA saptanırken, PAP-AUC yöntemiyle %1.9 oranında hVISA saptanmıştır. Bizim çalışmamız; test edilen hasta popülasyonunun sadece yatan hastalarla sınırlı kalmayıp poliklinik hastalarını da içermesi, örnek türlerinin çeşitliliği, MSSA izolatlarının da değerlendirmeye dahil edilmesi ve kullanılan hVISA tarama yöntemleri gibi farklılıklarla bu çalışmalardan ayrılmaktadır.

hVISA çalışmaları ağırlıklı olarak MRSA izolatları üzerinde yürütülmüştür. Bununla birlikte, çeşitli çalışmalar MSSA izolatları arasında da hVISA fenotipinin varlığını göstermiştir. Liang ve arkadaşları[22], doğrulanmış 22 hVISA izolatının 13'ünün MSSA olduğunu bildirmiş ve bu durumun hVISA'nın MSSA popülasyonu içinde de ortaya çıkabildiğini gösterdiğini belirtmiştir. Aynı çalışmada hVISA sıklığı MRSA izolatlarında MSSA izolatlarına göre anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur (%23.1'e karşı %7.9; p= 0.014). Agarwal ve arkadaşları[23] tarafından yapılan çalışmada genel hVISA prevalansı %8.82 olarak bildirilmiştir. MRSA izolatlarının %4'ünde ve MSSA izolatlarının %13.46'sında hVISA saptandığı belirtilmiştir. Bu bulgular, MSSA suşlarının da bu fenotipi taşıyabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda ise hVISA oranı MRSA izolatlarında %1.6, MSSA izolatlarında ise %2.4 olarak saptanmıştır. Bu bulgular doğrultusunda, yalnızca MRSA izolatlarında değil, MSSA izolatlarında da hVISA araştırılmasının yapılmasının, hVISA'nın gerçek prevalansının belirlenmesine katkı sağlayabileceği kanaatine varılmıştır.

SMD yöntemiyle belirlenen vankomisin MİK değerinin, vankomisin tedavi başarısızlığı için önemli bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir[24]. Fatsis-Kavalopoulos ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada[25] vankomisin MİK değerinin SMD yöntemiyle belirlenmesi, hVISA için güçlü bağımsız prediktör olarak saptanmış ve MİK değerindeki her 1 mg/L'lik artışın, bu fenotipin görülme olasılığını 15 kattan fazla artırdığı gösterilmiştir ($p< 0.001$). Sreejisha ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada[26] izole edilen 11 hVISA izolatının 10'unun vankomisin MİK değerinin 1-2 µg/mL aralığında olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda tüm izolatların %1.9'u, MİK değeri 1 mg/L olan izolatların %1.8'i, MİK değeri 2 mg/L olan izolatların %2.7'si hVISA olarak saptanmış ve MİK değeri artışı ile hVISA oranının arttığı görülmüştür.

Çalışmamızda yeni bir florokinolon olan delafloksasin invitro aktivitesi değerlendirilmiştir. İspanya'da 59 *S.aureus* izolatında (40 MRSA ve 19 MSSA) yapılan bir çalışmada %16.9 oranında delafloksasine direnç saptanmış ayrıca $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri, MRSA izolatlarında (0.19 mg/L ve 0.75 mg/L) MSSA izolatlarına oranla (0.008 mg/L ve 0.25 mg/L) daha yüksek bulunmuştur[27]. Kandan izole edilen 110 MRSA izolatı ile yapılan çalışmada izolatların %68'inin delafloksasine duyarlı (delafloksasin $MİK_{50}$ değeri 0.25 mg/L, $MİK_{90}$ değeri 1 mg/L) olduğu saptanmıştır[9]. Çalışmamızda delafloksasin duyarlılık oranı tüm izolatlarda %81.9, MRSA izolatlarında %75, MSSA izolatlarında %92.7 olarak saptanmıştır. Delafloksasin $MİK_{50/90}$ değeri sırasıyla MSSA izolatlarında 0.008 mg/L ve 0.016 mg/L; MRSA izolatlarında 0.008 mg/L ve 0.5 mg/L saptanmıştır. Sonuçlarımız yapılan çalışmalar ile uyumludur ancak yeni bir florokinolon olmasına rağmen özellikle MRSA izolatlarında direnç oranlarının yüksekliği (%25) dikkat çekicidir. Bildiğimiz kadarıyla, bu çalışma ülkemizde *S.aureus* izolatlarında delafloksasinin aktivitesini MİK düzeyinde değerlendiren ilk çalışmadır.

Örneklerin tek bir merkezden alınmış ve sınırlı sayıda izolatla çalışılmış olması, araştırmamızın kısıtlılıklarındandır. Ayrıca sonuçlar in vitro verilerden oluşmaktadır.

Bu çalışma, klinik *S.aureus* izolatlarında metisilin direncinin saptanmasında sefoksitin disk difüzyon yönteminin, altın standart olan *mec*A PCR ile en uyumlu fenotipik yöntem olduğunu ortaya koymuştur. PAP-AUC yöntemi ile hem MRSA hem de MSSA izolatlarında hVISA varlığının doğrulanması, klinikte tedavi yaklaşımlarının belirlenmesi açısından önemli olabilir. Yeni nesil bir florokinolon olan delafloksasin, stafilokokal enfeksiyonların tedavisinde alternatif terapötik bir ajandır. Ancak, klinik kullanımda bulunan neredeyse tüm antibiyotik sınıflarına karşı *S.aureus*'un direnç geliştirme potansiyeli vardır. Özellikle MRSA suşlarında, diğer kinolonlarda olduğu gibi delafloksasin direnci olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Tarih: 28/02/2023 ve Karar no: 2023-21).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Azzam A, Khaled H, Mosa M, Refaey N, AlSaifi M, Elsisi S, et al. Epidemiology of clinically isolated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and its susceptibility to linezolid and vancomycin in Egypt: A systematic review with meta-analysis. BMC Infect Dis 2023; 23(1): 263. https://doi.org/10.1186/s12879-023-08202-2
2. Sanchini A. Recent Developments in Phenotypic and Molecular Diagnostic Methods for Antimicrobial Resistance Detection in *Staphylococcus aureus*: A Narrative Review. Diagnostics (Basel) 2022; 12(1): 208. https://doi.org/10.3390/diagnostics12010208
3. Becker K, David MZ, Skov RL. Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci, pp: 392-428. In: Carroll KC, Pfaller MA, Landry ML, McAdam AJ, Patel R, Karlowsky JA, Pritt BS (eds), Manual of Clinical Microbiology 2023, 13th ed. Washington, DC: ASM Press.
4. Keikha M, Karbalaei M. Global distribution of heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* strains (1997-2021): A systematic review and meta-analysis. J Glob Antimicrob Resist 2024; 37: 11-21. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2024.02.002
5. Hu T, Wang L. Vancomycin resistance in gram-positive infections: Evolutionary strategies of survival. Arch Microbiol 2026; 208(3): 148. https://doi.org/10.1007/s00203-025-04698-1
6. Shariati A, Dadashi M, Moghadam MT, van Belkum A, Yaslianifard S, Darban-Sarokhalil D. Global prevalence and distribution of vancomycin resistant, vancomycin intermediate and heterogeneously vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* clinical isolates: a systematic review and meta-analysis. Sci Rep 2020; 10(1): 12689. https://doi.org/10.1038/s41598-020-69058-z
7. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Klinik ve/veya epidemiyolojik önemi olan direnç mekanizmaları ve direnç özelliklerini saptama kılavuzu. V 2.01 2017. Erişim adresi: https://www.tmc-online.org/userfiles/file/EUCAST-ceviri-2017.pdf (Erişim tarihi: 03.11.2023)
8. Markham A. Delafloxacin: First Global Approval. Drugs 2017; 77(13): 1481-1486. Erratum in: Drugs 2018; 78(15):1651. https://doi.org/10.1007/s40265-017-0790-5
9. Saravolatz LD, Pawlak JM, Wegner C. Delafloxacin activity against *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility or resistance to methicillin, vancomycin, daptomycin or linezolid. J Antimicrob Chemother 2020; 75(9): 2605-8. https://doi.org/10.1093/jac/dkaa209
10. Ribeiro ÁCDS, Santos FF, Valiatti TB, Lenzi MH, Santos INM, Neves RFB, et al. Comparative in vitro activity of Delafloxacin and other antimicrobials against isolates from patients with acute bacterial skin, skin-structure infection and osteomyelitis. Braz J Infect Dis 2024; 28(6): 103867. https://doi.org/10.1016/j.bjid.2024.103867
11. Cikman A, Aydin M, Gulhan B, Karakecili F, Kurtoglu MG, Yuksekkaya S, et al. Absence of the *mec*C gene in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from various clinical samples: The first multi-centered study in Turkey. J Infect Public Health 2019; 12(4): 528-33. https://doi.org/10.1016/j.jiph.2019.01.063
12. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Reading guide for broth microdilution. Version 4.0, 2022. Erişim adresi: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/2022_manuals/Reading_guide_BMD_v_4.0_2022.pdf (Erişim tarihi: 05.08.2024).
13. International Organization for Standardization. ISO 20776-1: Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility devices. Geneva: International Organization for Standardization; 2019.

14. Wootton M, MacGowan AP, Walsh TR, Howe RA. A multicenter study evaluating the current strategies for isolating *Staphylococcus aureus* strains with reduced susceptibility to glycopeptides. J Clin Microbiol 2007; 45(2): 329-32. https://doi.org/10.1128/JCM.01508-06

15. Li J, Cheng F, Wei X, Bai Y, Wang Q, Li B, et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): Resistance, Prevalence, and Coping Strategies. Antibiotics (Basel) 2025; 14(8): 771. https://doi.org/10.3390/antibiotics14080771

16. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 36th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA; 2026.

17. García-Álvarez L, Holden MT, Lindsay H, Webb CR, Brown DF, Curran MD, et al. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mec*A homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: A descriptive study. Lancet Infect Dis 2011; 11(8): 595-603. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70126-8

18. Wootton M, Howe RA, Hillman R, Walsh TR, Bennett PM, MacGowan AP. A modified population analysis profile (PAP) method to detect hetero-resistance to vancomycin in *Staphylococcus aureus* in a UK hospital. J Antimicrob Chemother 2001; 47(4): 399-403. https://doi.org/10.1093/jac/47.4.399

19. Uçar Ş, Duman Y, Tanrıverdi ES, Tekerekoğlu MS, Otlu B. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* izolatlarında çeşitli yöntemlerle VISA ve hVISA varlığının araştırılması. Mikrobiyol Bul 2022; 56(4): 593-605.

20. Sancak B, Yagci S, Gür D, Gülay Z, Ogunc D, Söyletir G, et al. Vancomycin and daptomycin minimum inhibitory concentration distribution and occurrence of heteroresistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* blood isolates in Turkey. BMC Infect Dis 2013; 13: 583. https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-583

21. Tunç EK, Kuzucu Ç, Otlu B. Investigation of reduced vancomycin susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2017; 47: 39-46.

22. Liang J, Hu Y, Fu M, Li N, Wang F, Yu X, et al. Resistance and Molecular Characteristics of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Heterogeneous Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus*. Infect Drug Resist 2023; 16: 379-88. https://doi.org/10.2147/IDR.S392908

23. Agarwal A, Singhal L, Kour I, Gupta P, Kaur N, Vasesi D, et al. Prevalence and detection of heteroresistant vancomycin-ıntermediate *Staphylococcus aureus* (hVISA) among clinical isolates: A comparative evaluation of screening methods. Cureus 2025; 17(7): e88122. https://doi.org/10.7759/cureus.88122

24. Yun JH, Chang E, Bae S, Jung J, Kim MJ, Chong YP, et al. Risk factors for vancomycin treatment failure in heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* bacteremia. Microbiol Spectr 2024; 12(8): e0033324. in: Microbiol Spectr 2025; 13(4):e0331424. https://doi.org/10.1128/spectrum.03314-24

25. Fatsis-Kavalopoulos N, Kim YK, Chong YP, Bae S, Lim SY, Kim YS, et al. Vancomycin heteroresistance (hVISA) in MRSA links to treatment failure and supports a revised PAP-AUC threshold. Nat Commun 2025; 16(1): 11251. https://doi.org/10.1038/s41467-025-66118-8

26. Sreejisha M, Mulki SS, Shenoy S, Dhanashree B, Chakrapani M, Bhat G. Heterogeneous Vancomycin Intermediate *Staphylococcus aureus* Infections in Diabetic and Non-Diabetic Patients - A Hospital-Based Comparative Study. Infect Drug Resist 2023; 16: 9-17. https://doi.org/10.2147/IDR.S393415

27. de la Rosa JMO, Fernández MA, Rodríguez-Villodres Á, Casimiro-Soriguer CS, Cisneros JM, Lepe JA. High-level delafloxacin resistance through the combination of two different mechanisms in *Staphylococcus aureus*. Int J Antimicrob Agents 2023; 61(6): 106795. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2023.106795

Bu eser CC BY-NC Atıf-GayriTicari Türev Eser Yaratma 4.0 Uluslararası Lisansı kapsamında lisanslanmıştır.
Veri Paylaşım Beyanı: Bu çalışmanın bulgularını destekleyen veriler, makul talepler doğrultusunda sorumlu yazardan temin edilebilir.
©Telif Hakkı 2026 Mikrobiyoloji Bülteni'ne aittir. Makale metnine www.mikrobiyolbul.org web sayfasından ulaşılabilir.