ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

STAPHYLOCOCCUS AUREUS İÇİN CİLT ÖRNEKLERİNDE VE HASTANE ORTAMINDA BAZI VİRÜLANS FAKTÖR GENLERİNİN TANIMLANMASI

Hanaa AHMED ESSA ESSA

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2022

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Hanaa AHMED ESSA ESSA tarafından hazırlanan **"*Staphylococcus aureus* için Cilt Örneklerinde ve Hastane Ortamında Bazı Virülans Faktör Genlerinin Tanımlanması"** adlı tez çalışması 07/04/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Müge FIRAT

Eş Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Qanat MAHMOOD ATİYEA

Jüri Üyeleri :

Başkan : Doç. Dr. Mustafa Sencer KARAGÜL
Kartepe Atçılık MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü
Kocaeli Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi İlker ŞİMŞEK
Eldivan SHMYO Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Müge FIRAT
Eldivan SHMYO Veterinerlik Bölümü
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "***Staphylococcus aureus* için Cilt Örneklerinde ve Hastane Ortamında Bazı Virülans Faktör Genlerinin Tanımlanması**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (07/04/2022).

Hanaa AHMED ESSA ESSA

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

STAPHYLOCOCCUS AUREUS İÇİN CİLT ÖRNEKLERİNDE VE HASTANE ORTAMINDA BAZI VİRÜLANS FAKTÖR GENLERİNİN TANIMLANMASI

Hanaa AHMED ESSA ESSA

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Müge FIRAT
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Qanat MAHMOOD ATIYEA

Staphylococcus aureus, yüzeysel ve derin cerrahi yara enfeksiyonlarında en sık görülen patojenlerden biridir. Ayrıca kronik ülser enfeksiyonuna (basınç ülseri, diyabetik ayak) neden olabilir. SMR'lerin (küçük çoklu ilaç direnci) klinik önemi, toplum ve tarım sektörü ile ilişkili hastanelerden alınan örneklerden izole edilen suşların fenotipik ve genotipik tanımlanması için daha hassas ve spesifik tanı araçlarının uygulanması ihtiyacında yatmaktadır. Beşeri tıp raporlarına kıyasla, bu çalışmanın bulguları, söz konusu Staphylococcus spp.'nin direnç profillerinin tanımlanması ve belirlenmesi olduğunda halk sağlığını ilgilendiren izolatların tanımlanması ve karakterize edilmesi için geleneksel moleküler araçların yararlılığını doğrulamaktadır. Yeni araştırmaya göre mecA geni metisilin direnci sağlayan tek gen değildir. Virülans faktörü etkisinin çeşitli mekanizmalarıyla ilgili daha fazla araştırma yapılırsa, virülans faktörleriyle ilişkili toksinler ve proteinler yeni stratejiler tarafından bozulabilir.

2022, 73 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: *Staphylococcus aureus*, Virülans faktörü, Cilt, Hastane

ABSTRACT

Master of Science Thesis

IDENTIFICATION OF SOME VIRULANCE FACTOR GENES FOR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN SKIN SAMPLES AND HOSPITAL ENVIRONMENT

Hanaa AHMED ESSA ESSA

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Asst. Prof. Dr. Müge FIRAT
Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Qanat MAHMOOD ATIYEA

Staphylococcus aureus is one of the most common pathogens in superficial and deep surgical wound infections. It can also cause chronic ulcer infection (pressure ulcers, diabetic foot). The clinical importance of *Staphylococcus aureus* small multidrug resistance (SMRs), the need to implement more sensitive and specific diagnostic tools for the phenotypic and genotypic identification of strains isolated from samples obtained from hospitals, associated with the community and the agricultural sector is evident. The findings of this study validate the usefulness of conventional molecular tools for identifying and characterising isolates of public health interest when it comes to the identification and determination of resistance profiles of Staphylococcus spp. The mecA gene isn't the only one that confers resistance to methicillin, according to new research. Toxins and proteins associated with virulence factors can be disrupted by new strategies if further research into the various mechanisms of virulence factor action is carried out.

2022, 73 pages

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Virulence factor, Skin, Hospital

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Müge FIRAT'a, yanı sıra çalışmalarım esnasında manevi desteğini esirgemeyen her zaman yanımda olan annem, babam, kardeşlerim, eşim ve çocuklarım sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Son olarak, bu çalışmanın yazılmasında bana yardımcı olan herkese teşekkür ediyorum. Ayrıca eş danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Qanat MAHMOOD ATIYEA'ya teşekkür etmek istiyorum.

Hanaa AHMED ESSA ESSA

Çankırı, Mart 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vii**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **viii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ix**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **x**
1. GİRİŞ **1**
2. LİTERATÜR ÖZETİ **4**
2.1 Staphylococcus aureus **4**
2.2 Staphylococcus *aureus*: Mikrobiyolojik Özellikler ve Patogenez **4**
2.3 Epidemiyoloji **5**
2.4 Patojeni **6**
2.4.1 Hücre duvarının bileşenleri **8**
2.4.2 Enzimler **9**
2.4.3 Toksinler **9**
2.5 Klinik Görüntüler **10**
2.6 *S. aureus*'un Genetik Özellikleri **11**
2.7 *S. aureus'ta* Virülans Faktörleri **14**
2.7.1 Süperantijenler **16**
2.7.2 Sitolizinler **16**
2.8 Diğer Virülans Faktörleri **17**
2.9 Kolonizasyon Yerleri **18**
2.10 *S. aureus*'un Virülansında Adezinlerin Rolü **19**
2.11 Konakçı Mikroorganizma İlişkisi **19**
2.12 Antimikrobiyallere Direnç **20**
2.12.1 Metisiline dirençli *S. aureus* **22**
2.12.2 *S. aureus* ve MLSB fenotipi **23**
2.13 Fibronektin Bağlayıcı Protein (Fnbs Fibronektin Bağlayıcı Protein) **25**

2.14 Topaklanma Faktörü (*Clf*s Topaklanma Faktörü)..... 26
2.15 Hemolitik Toksinler..... 27
2.15.1 α Hemolitik toksin veya α toksin (Hla)..... 28
2.15.2 β Hemolitik toksin veya β toksin (Hlb)..... 29
2.15.3 γ Hemolitik toksin veya gama toksini (Hlg)..... 29
2.15.4 δ Hemolitik toksin veya delta toksini (Hld)..... 31
2.16 Stafilokokal Enterotoksinler..... 31
2.16.1 Stafilokokal enterotoksin A (SEA)..... 32
2.16.2 Stafilokokal enterotoksin B (SEB)..... 33
2.16.3 Stafilokokal enterotoksin C (SEC)..... 34
2.16.4 Stafilokokal enterotoksin D (SED)..... 34
2.16.5 Stafilokokal enterotoksin E (SEE)..... 35
2.16.6 Stafilokokal enterotoksin G (SEG)..... 35
2.16.7 Stafilokokal enterotoksin H (SEH)..... 35
2.16.8 Stafilokokal enterotoksin I (SEI)..... 35
2.16.9 Stafilokokal enterotoksin J (SEJ)..... 36
2.17 Toksik Şok Sendromu Toksini -1 (TŞST-1)..... 36
2.18 Kapsüler Polisakkarit..... 36
2.19 Biyofilm Oluşumu..... 38
3. MATERYAL VE METOT..... 42
3.1 Çalışma Alanı ve Çalışmanın Popülasyonu..... 42
3.2 Çalışmaya Dahil Olma ve İstisna Kriterleri..... 42
3.3 Klinik Numune Toplama..... 42
3.4 Mikrobiyolojik Prosedürler..... 42
3.4.1 *Staphylococcus aureus* bakterilerinin izolasyonu..... 43
3.4.2 Staphylococcus aureus'un tanımlanması..... 44
3.5 Moleküler Tipleme..... 46
3.5.1 Genomik DNA ekstraksiyonu..... 46
3.5.2 *Mec*A geninin tespiti için PCR..... 47
3.5.3 Panton-Valentine Lökosidini (PVL) kodlayan *luk*S-F geninin tespiti için PCR……..48
3.6 Veri analizi..... 48

4. BULGULAR VE TARTIŞMA 50
4.1 İzolasyon Sonuçları 50
4.2 Demografik Çalışma 50
4.2.1 Hastaların demografisi 50
4.3 Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Sonucu 52
4.4 Tartışma 56
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 62
KAYNAKLAR 63
ÖZGEÇMİŞ 75

SİMGELER DİZİNİ

α	Alfa
β	Beta
δ	Delta
γ	Gama
g	Gram
KB	Kilobaz
L	Litre
µg	Mikrogram
mm	Milimetre
nm	Nanometre
N	Normal
ºC	Santigrat derece
%	Yüzde

KISALTMALAR DİZİNİ

AGR	Aksesuar gen regülatörü
BK	Birleşik Krallık
BLAZ	Beta-laktamaz geni
KKRA	Kaset kromozom rekombinaz A
KKRB	Kaset kromozom rekombinaz B
KOÜ	Koloni oluşturma ünitesi
KLSE	Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
KOA GENE	Koagülaz geni
KoNS	Koagülaz-negatif stafilokoklar
KoPS	Koagülaz-pozitif stafilokoklar
DNA	Deoksiribo nükleik asit
EDM GENE	Eritromisin direnç metilaz geni
ETA	Eksfolyatif toksinler A
ETB	Eksfolyatif toksinler B
FK	Fraksiyon kristalleştirilebilir
Gİİ	Gıda ve İlaç İdaresi
GYP GENE	Gen yüzey proteini A geni
Hİ-MDSA	Sağlık hizmetleriyle ilişkili metisiline dirençli *S. aureus*
IGA	İmmünoglobulin A
IGG	İmmünoglobulin G
LÖKH	Lökosidin hızlı
LÖKY	Lökosidin yavaş
MDCA	Metisiline dirençli gen
MDSA	Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*
YMMTMY	Yapıştırıcı matris moleküllerini tanıyan mikrobiyal yüzey
AOÇX	Açık okuma çerçevesi X
PBP2a	Penisilin bağlayıcı proteinler
PCR	Polimeraz zincirleme reaksiyonu
DAJE	Darbeli alan jel elektroforezi
PG	Peptidoglikan
PL	Panton-Valentin lökosidin
RNA	Ribonükleik asit
SA	*Staphylococcus aureus*
SE	Stafilokokal enterotoksin
SMR	Küçük çoklu ilaç direnci
SKK	Stafilokok kaset kromozomu
SPAG	Spermidin asetiltransferaz gen

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 (A) Kümeler halinde gruplanmış Gram pozitif *S. aureus* (B) Kanlı agarda üremiş *S. aureus* altın rengi kolonileri (Van *et al.* 2011) 5
Şekil 2.2 Stafilokok hücre duvarının yapısı (Dmitriev *et al*. 2004)..... 9
Şekil 2.3 fnbA geninin farklı bölgelerinin şematik diyagramı (Bausier et al.2015)..... 27
Şekil 2.4 Kapsüler polisakkaritlerin biyokimyasal yapıları (Ferry *et al.* 2005) 38
Şekil 3.1 D testi 46
Şekil 4.1 *S. aureus*'ta femA geninin (132 bp) PCR amplifikasyonunun ürününü gösteren agaroz jel elektroforezi 50
Şekil 4.2 Eritromisin ve klindamisin arasındaki halenin düzleşmesi ile pozitif D testi 53
Şekil 4.3 mecA geninin (533 bp) amplifikasyon ürününün agaroz jel elektroforezi..... 54
Şekil 4.4 Oksasilin için MIC tespiti için Etest®..... 54
Şekil 4.5 lukS-F geninin (433 bp) amplifikasyon ürününün agaroz jel elektroforezi ... 55

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Staphylococci tarafından üretilen ana enzimler ve toksinler (Leung 2014)15
Çizelge 4.1 Bağdat şehrinde hastaneye başvuran araştırılan hastaların sosyodemografik özellikleri 51
Çizelge 4.2 Bağdat'ta hastaneye başvuran hastanın deri örneklerinden ve nazofarenksinden izole edilen *S. aureus*'un antimikrobiyal duyarlılık profili 52
Çizelge 4.3 Bağdat hastanesinde farklı lokasyonlarda (poliklinikler) başvuran hastalardan izole edilen *S. aureus'un* antimikrobiyal duyarlılık ve virülans profili 55

1. GİRİŞ

Staphylococcus cinsi, çoğu ortakçı ve fırsatçı yapıda, deri ve mukoza zarlarının mikro biyotasının bir parçası olan, farklı konakçılara uyum sağlama ve cansız yüzeylerde aylarca hayatta kalma kapasitesine sahip 30'dan fazla bakteri türünden oluşur (Bendahou *et al.* 2008). *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) bu cinsin patojenik türüdür, ancak son yıllarda koagülaz negatif stafilokoklar (KONS), antimikrobiyal direnç ve virülans genlerini kolaylıkla kazanmaları nedeniyle insanlarda ve hayvanlarda enfeksiyöz ajanlar olarak ortaya çıkmıştır (Raheema *et al.* 2020).

Halk sağlığı ilgi alanında bulunan *S. aureus* metisiline dirençli (MDSA) antibiyotiklerin uygunsuz kullanımı dirençli suşlar üzerinde seçici bir baskı oluşturur. *S. aureus*'un sınırlı sayıda klonu ve metisilin'e (MDS) dirençli diğer *Staphylococcus* türlerinin dünyada yayılımı söz konusu olup kökenleri ortak bir atadan veya yatay transfer yoluyla mecA genini almış birkaç klondan gelebilir (Adnan 2019).

MecA geni, bakterilerin antibiyotik varlığında duvarın oluşumuna devam etmesine izin veren beta-laktamlar için düşük afiniteye sahip bir transpeptidaz olan penisilin bağlayıcı proteinin (PBP2a) varyantını kodlar. *S. aureus* suşu N315'ten dizilenen ilk mecA geni ile benzerlik derecesine göre sınıflandırılan mec geninin dört genotipi vardır: benzerliği %95'ten fazla olan ve tanımlanan iki varyantıyla (mecA1 ve mecA2) mecA, %60 benzerlik ile *Macrococcus* caseolyticus'ten izole edilmiş mecB ve %68 benzerlik ile S. aureus'tan izole edilen mecC (Paterson 2014). Bu gen, gen değişimi için hareketli bir elemente (genomik ada) karşılık gelen *Staphylococcus* kromozomal kasetinde (SKK) bulunur. Şimdiye kadar, ccr ve mec komplekslerinin kombinasyonuna göre beş tip SCCmec tanımlanmıştır (I, II, III, IV, V) (Abbas *et al.* 2017). Ccr genleri (AB1, AB2, AB3, AB4 ve C), SCC'yi kromozomda entegre eden spesifik bölgeler olan rekombinazları, ve mecR1 ve mecI düzenleyici genleri ve insersiyon sekansı (IS) 431 ve 1272'yi içeren mec kompleksini kodlar. Bu genler, IS'ye benzer diğer direnç genlerinin birleştirilmesinden ve gruplandırılmasından sorumludur. *S. sciuri*, mecA'nın kaynağı olarak kabul edilir; bununla birlikte, her durumda gen, çeşitli SKKmec türlerini

taşıyan ve özellikle antibiyotik kullanımı için seçici baskının olduğu aynı nişi paylaştıklarında rezervuar görevi görebilen NEC'lerde bulunuyormuş gibi görünmektedir (Abbas *et al.* 2017).

MRSA'nın ilk izolasyonu 1961 yılında İngiltere'de hastane ortamlarında (MDSA-HA) yapılmıştır (MCTC 10442, SCCmec I) ve dünyaya yayılması nedeniyle arachnid klonu olarak adlandırılmıştır. 1982'de N315 suşu (SKKmec II) Japonya'da ve daha sonra New York'ta ve 1985'te Yeni Zelanda'da 85/2082 suşu (SKKmec III) izole edilmiştir. İkincisi dünya çapında dağıtılmıştır. 1990 yılında, hastaneler veya çalışanları ile çok az teması olan ve bu nedenle spesifik risk faktörleri olmayan kişilerde bir MDSA salgını (SKKmec IV veya V) bildirilmiştir. Bu suşlar, daha sınırlı bir direnç spektrumuna sahip, çoğu β-laktama duyarlı ve çeşitli coğrafi bölgelerde baskın klonlarla hızla yayılma kabiliyetine sahip olan toplulukla ilişkili suşlar (MDSA-CA) olarak adlandırılmıştır (Wielders *et al.* 2002).

Bu aynı özellik, domuzlardan, sığırlardan, kümes hayvanlarından, evcil hayvanlardan ve hayvanlarla yakın temasta olan insanlardan izole edilen MDSA suşu ST398'de rapor edilmiş ve bu çiftlik hayvanı üretimi ile ilişkili suşlar (MDSA-LA) olarak adlandırılmıştır (Wielders *et al.* 2002).

Çalışmanın Amaç ve Hedefleri

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'un (MRSA) araştırılması ve kontrolü, yüksek patojenik potansiyeli ve çok sayıda hastane enfeksiyonuna dahil olması nedeniyle büyük önem taşımaktadır. Hastane ortamında çoklu dirençli koagülaz negatif stafilokokların varlığı yaygın olmakla beraber patojenik potansiyelleri *S. aureus*'unki kadar yüksek değildir, ancak önemli bir çoklu direnç rezervuarı oluşturabilirler. Irak'ta *S. aureus* prevalansı son yirmi yılda giderek artmıştır. Bu patojenin Irak'ta halk sağlığı için önemi ve meydana gelen epidemiyolojik ve moleküler değişiklikler nedeniyle, belirtilen amaçlarla bu çalışma önerilmiştir. Mayıs 2021'den Ağustos 2021'e kadar Bağdat Eğitim Hastanesi'nde metisiline dirençli *S. aureus* suşları izole edilmiştir.

Hastanede bu direnç fenotipine sahip mikroorganizmaların sıklığının düşük olması aşağıdaki amaçları göz önünde bulundurmamıza neden olmuştur:

1. Bağdat şehrinde Bağdat Eğitim Hastanesine başvuran *Staphylococcus aureus* taşıyıcı hastaların prevalansının tahmin edilmesi.
2. Irak, Bağdat şehri Bağdat Eğitim Hastanesi (BEH) 'nde izole edilen tüm *S. aureus* suşlarının linezolide direnç mekanizmalarının karakterize edilmesi ve tanımlanması.
3. Bu dönemde izole edilen metisiline dirençli ve linezolide dirençli *S. aureus*'un klonal ilişkilerinin belirlenmesi ve BEH'de dolaşan klonlarla karşılaştırılması.
4. Çok dirençli *S. aureus* tedavisinde kullanılan başlıca antimikrobiyallere duyarlılığın belirlenmesi.
5. Hastaların klinik verilerinin analiz edilmesi ve linezolid ile tedavi süresi ile farklı direnç mekanizmalarının ortaya çıkışı arasındaki olası ilişkinin belirlenmesi.
6. Mayıs-Ağustos 2021 aylarında farklı Irak hastanelerinde izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında metisiline direnç yüzdesinin belirlenmesi.
7. Bağdat şehrinde farklı hastanelerde yatan *S. aureus* hastalarının kolonizasyonu ile ilişkili faktörlerin belirlenmesi.
8. İzole edilmiş *S. aureus*'un duyarlılık profilinin belirlenmesi.
9. İzole edilmiş *S. aureus*'u genotipik olarak karakterize edilmesi.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Staphylococcus aureus

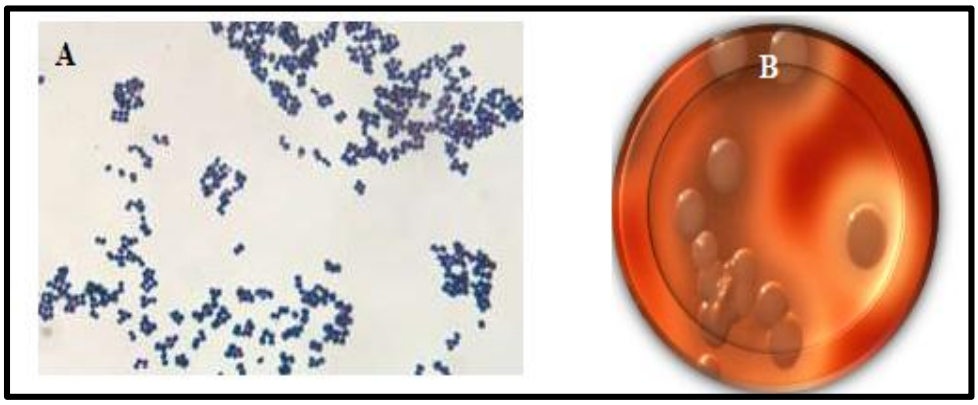
Staphylococcus aureus (*S. aureus*), farklı çevresel koşullara uyum sağlama konusunda belirgin bir yeteneğe sahip olup insanlarda ve hayvanlarda bulaşıcı hastalıklara neden olan önemli bir ajanı temsil etmektedir. Bu mikroorganizma, konağın hücre dışı matris bileşenlerine yapışmayı destekleyen, hücrelerine zarar veren ve bakterileri bağışıklık sisteminden koruyan birkaç virülans faktörü üretir (Naimi *et al.* 2003).

S. aureus için halihazırda en az 15 virülans faktörü tanımlanmıştır ve bunlar konağın hücre dışı matris moleküllerini, 25 toksini ve 20 konakçı bağışıklık sistemi kaçırma molekülünü tanıyan mikrobiyal yüzey bileşenleridir (Naimi *et al.* 2003). *S. aureus*'un fibrinojen, fibronektin ve kollajen gibi hücre dışı matris proteinlerini barındırmak için yapışması, enfeksiyonu başlatmak için önemlidir. Bu yapışmaya, MSCRAMM'ler (Yapıştırıcı Matris Moleküllerini Tanıyan Mikrobiyal Yüzey Bileşenleri) adı verilen ve bir transpeptidazın etkisi ile peptidoglikana kovalent bir bağla sabitlenen bakteri hücre duvarı ile ilişkili proteinler aracılık eder. Çoğu *S. aureus* izolatı; hemolitik toksinler, nükleazlar, proteazlar, lipazlar, hiyalüronidaz ve kollajenazı içeren bir grup enzim ve sitotoksin salgılar. Bu enzimlerin ve sitotoksinlerin ana işlevi, konakçı dokuların bakteriyel büyüme için gerekli besinlere dönüştürülmesi olacaktır. Hayvanlardan elde edilen önemli sayıda izolat, toksik şok sendromu toksini ve enterotoksinler gibi diğer ekzotoksinlerin üreticisidir (Baba *et al.* 2008).

Fagositoza direnme yeteneği, yüzeyle ilişkili anti-opsonik proteinlerin ekspresyonu ve bu bakterilerin fagositozunu engelleyen klasik ve alternatif yollardan antikorların birikmesine ve kompleman oluşumuna müdahale eden bir polisakarit kapsülü yoluyla, bu bakteri tarafından enfeksiyonun ilerlemesini destekleyen önemli bir faktördür. *S. aureus* izolatlarında biyofilm oluşturma yeteneği, enfeksiyonların karmaşıklığını artırır. Biyofilm, fiziksel blokaj yoluyla etkili bir bağışıklık kaçırma stratejisidir. Biyofilmlerdeki bakteriler ayrıca kronik enfeksiyonların korunmasına yardımcı olan antimikrobiyal ajanlarla tedaviye daha az duyarlıdır (Ameer *et al.* 2015)

2.2 *Staphylococcus aureus*: Mikrobiyolojik Özellikler ve Patogenez

Staphylococcus aureus, Micrococcaceae familyasının *Staphylococcus* cinsine aittir. *Staphylococcus* cinsinin türleri 0,5 ila 1 µm çapında gram pozitif koklar olup hareketsiz, aerobik ve fakültatif anaeroblardır, spor oluşturmazlar ve genellikle kapsüllü değildir. Cinsin adı 1883'te Ogston tarafından belirlenmiş ve agar besiyerindeki kültürlerden yapılan boyamalarda *Staphylococcus* hücrelerinin benimsediği morfoloji nedeniyle Yunanca staphylé'den (salkım üzüm) türemiştir. Doğrudan numune boyamalarında mikroorganizmalar ayrıca tek, çift veya dörtlü koklar olarak görünürler (Van *et al.* 2011) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 (A) Kümeler halinde gruplanmış Gram pozitif *S. aureus* (B) Kanlı agarda üremiş *S. aureus* altın rengi kolonileri (Van *et al.* 2011)

Staphylococcus cinsi pekçok tür ve alt türden oluşur, bunların arasında insan enfeksiyonlarının etiyolojik ajanları olarak önemleri açısından dikkate değer olanlar; *S. aureus, S. epidermidis, S. haemolyticus, S. lugdunensis, S. schleferi, S. warneri* ve *S. saprophyticus* türleridir. *Staphylococcus aureus* insan için en patojenik ve öldürücü türdür, aynı zamanda deri ve mukoza zarlarında kolonize olarak da bulunabilir. *S. aureus* kolonileri, büyümeleri sırasında karotenoidlerin üretimi nedeniyle karakteristik bir altın sarısı renge sahiptir, bu nedenle adı Latince altın kelimesinden türetilmiştir (Şekil 2.1) ancak birçok suşta pigmentli olmayan varyantlar da bulunur. *S. aureus*, yüksek NaCl konsantrasyonlarında daha iyi büyür, koagülaz, DNAz ve katalaz pozitiftir ve mannitolü fermente eder, bu da onun *Staphylococcus* cinsinin diğer türlerinden ayırt edilmesini sağlar (Kim *et al.* 2019).

2.3 Epidemiyoloji

S. aureus, insan mikroflorasının bir parçası olan fırsatçı bir patojendir ve popülasyonun %30 ila %50'si bu bakteri tarafından kolonize edilebilir, en sık yerleşim yeri nazal kolonizasyondur. *S. aureus*'un ana rezervuarı hasta insan veya taşıyıcıdır. Hastane ortamında, özellikle hemodiyaliz uygulanan hastalarda, tip I diyabet hastalarında, deri lezyonu olan hastalarda, HIV ile enfekte kişilerde ve damar içi madde bağımlılarında (ADVP) kolonizasyon sıklığı daha fazladır (Tong *et al.* 2015).

Staphylococcus aureus ilk olarak 1882'de İskoç cerrah Alexander Ogston tarafından ışık mikroskobu kullanılarak görüntülenmiştir. Mikroskobik özellikleri, çapı 0,5 ila 1,5 µm arasında değişen koksi şekli ve onu Gram pozitif bakteri olarak sınıflandıran menekşe kristalinin hücre duvarında tutulmasıdır. *Staphylococcus* cinsinin en önemli temsilcisi olan Staphylococcaceae familyasına aittir. Hareketsizdirler, spor oluşturmazlar, çoğu fakültatif olarak anaerobiktir ve bazı türler insanlar ve hayvanlar için patojeniktir ve koagülaz üretirler (Kluytmans *et al.* 1997).

Staphylococcus cinsinde yer alan S. *aureus, S. schleiferi, S. intermedius, S. hyicus* ve *S. delphini* türleri koagülaz enziminin üreticileridir. Bu türlerin bazıları genellikle hem insanlarda hem de hayvanlarda farklı fırsatçı enfeksiyonlarla ilişkilidir (Savini 2018). *S. aureus*'un makroskopik özellikleri, kültür ortamında beyaz, sarı ve gri kolonilerin büyümesini içerir. Bakteriler, 4,8-9,4 arasında bir pH aralığını ve 30 dakikaya kadar 60°C sıcaklıkları destekler. Diğer bir önemli özelliği ise, %7,5 ila %10,0 NaCl konsantrasyonuna toleranslı kılan bir Osmo proteininin mevcudiyeti nedeniyle mannitol tuzlu agar üzerinde büyüme yeteneğidir. Mannitol tuzlu agarda, mannitol fermantasyonu nedeniyle kolonilerin çevresinde genellikle sarımsı bir bölge oluşur. *S. aureus* ayrıca β-hemolizin üretimi sebebiyle β-hemolitiktir (Munckhof *et al.* 2008).

Asemptomatik nazofaringeal taşıyıcı aynı zamanda metisiline dirençli *S. aureus*'un (MDSA) en yaygın kaynağıdır. Şu anda, bu mikroorganizma dünya çapında hastane enfeksiyonlarına neden olan en önemli patojenlerden biri olarak kabul edilmektedir. Bir kişi bir MDSA suşu ile temas ettiğinde kolonize olabilir, enfeksiyon geliştirebilir

ve/veya taşıyıcı olabilir. Bu nedenle, enfeksiyon belirtileri yokken bu mikroorganizma klinik bir örnekten izole edildiğinde MDSA tarafından kolonizasyondan söz edilir. En sık kolonizasyon alanları deri lezyonları, solunum yolları ve idrar yollarıdır. MDSA kolonizasyonu aylar veya yıllar boyunca devam edebilir (Savini 2018).

MDSA'nın neden olduğu enfeksiyonlar, metisiline duyarlı suşlarla aynıdır. En sık görülenler cerrahi yara (%10-28), genellikle kateterden kaynaklanan bakteriyemi (%10-21) ve özellikle ventile edilen hastalarda pnömonidir (%15-40) (Pujol *et al.* 1994). Daha az sıklıkta yumuşak doku, idrar, karın içi ve kardiyovasküler enfeksiyonlar ve osteomiyelit vardır (Chambers 2011).

Son olarak, bir kişi bu mikroorganizmanın genellikle enfeksiyona neden olmadığı ve vücutta kalıcılığını kolaylaştıran bir yerde izole edildiğinde MDSA taşıyıcısı olarak kabul edilir. En sık yerleşim yeri rezervuar görevi gördüğü burundur, bunu orofarenks ve perianal, inguinal, aksiller ve rektal bölgeler takip eder (Schaumburg *et al.* 2014).

Farklı çalışmalar, MDSA'nın nazal taşıyıcılarının bu mikroorganizma tarafından daha yüksek hastane enfeksiyonu riskine sahip olduğunu ve MDSA ile enfekte olan hastaların, duyarlı *S. aureus* suşları ile enfekte olan hastalara kıyasla daha yüksek morbidite ve mortaliteye sahip olduğunu açıklamaktadır. Bu gerçek, düşük bir MDSA prevalansını korumaya çalışırken önemlidir; zira bu durum MDSA kolonizasyonunu ve/veya enfeksiyonunu önlemek için bir tedavi ve/veya profilaksi olarak topikal mupirosin uygulamasına ilişkin farklı çalışmalara yol açmıştır. Bu bağlamda, farklı araştırmacılar arasında tartışmalar vardır ve intranazal mupirosinin *S. aureus*'un nazal taşıyıcılığını yok etmedeki rolü net olmamakla beraber etkinliği uygulandığı hastaların tipine bağlı olmasına rağmen cerrahide, periton diyalizi, hemodiyaliz, tekrarlayan cilt enfeksiyonları olan hastalarda daha etkilidir ve ameliyat olmayan hastalarda çok etkili değildir (Schaumburg *et al.* 2014).

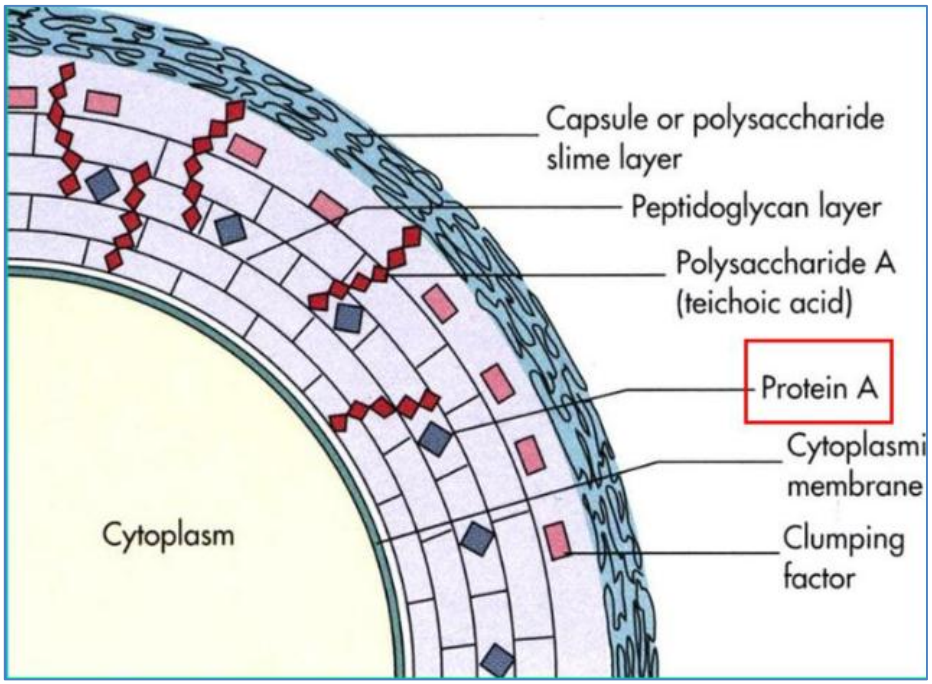
2.4 Patogenez

Normalde, *Staphylococcus* ve konakçıları simbiyotik bir ilişkiye sahiptir, ancak bu bakteriler cilt ve mukozal bariyerler kırılırsa patojen gibi davranabilir. *S. aureus*, insan türünün ana patojenlerinden biridir. *S. aureus*, keşfinden 130 yıldan biraz daha uzun bir süre sonra, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarının, gıda zehirlenmesinin ana etiyolojik ajanı olarak kabul edilmiş ve ayrıca sağlıkla ilgili enfeksiyonların ana nedenlerinden biri olan ciddi hastalıklarla da ilişkili olduğu ortaya konmuştur. *S. aureus*'un neden olduğu enfeksiyonlar küçük kabarcıklar veya apseler olarak başlar ve ayrıca bakteriyemi, osteomiyelit, piyomiyozit, endokardit, menenjit, pnömoni, sepsis gibi bir dizi komplikasyonu tetikleyerek ciddi enfeksiyonlara sebep olabilir. *S. aureus* enfeksiyonlarının patogenezi, bakteriyel virülans faktörleri konak savunmasında bir azalma ile birleştiğinde ortaya çıkar. Patojenik etkisinde, konakçının dokularında yayılma ve çoğalma yeteneklerine ek olarak hücre duvarının bileşenleri ve doku istilasını destekleyen enzimlerin ve toksinlerin üretimi, devreye girer (Haghverdian *et al.* 2018).

2.4.1 Hücre duvarının bileşenleri

Peptidoglikan: *S. aureus* duvarının temel bileşenidir. Direnç ve ozmotik tolerans verir. Önemli biyolojik özelliklere sahiptir: endotoksik aktiviteye sahiptir, monositler tarafından interlökin-1 üretimini tetikler, kemotaksiyi ve lökositlerin agregasyonunu uyarır, komplemanı aktive eder ve opsonize edici antikorların üretimini indükler (Dmitriev *et al.* 2004) (Şekil 2.2) **Teikoik asitler veya polisakkaritler:** Türe özgü fosfat polimerleridir, duvarın peptidoglikanına kovalent olarak bağlanabilirler veya hücre zarının lipidlerine bağlanabilirler. Fonksiyonu, fibronektine spesifik bağlanma yoluyla stafilokokların mukozal yüzeylere bağlanmasına aracılık etmektir. Antikor üretimini indükleme yeteneğine sahiptirler (Schaumburg *et al.* 2014). Peptidoglikanın dış tabakasına kovalent bağlar yoluyla farklı proteinler eklenebilir. i) Mikroorganizmanın yapışmasını kolaylaştıran proteinler (kollajen bağlayıcı protein, fibronektin bağlayıcı protein), ii) Hücreye bağlı kümelenme faktörü veya koagülaz fibrinojene bağlanır böylece bakteriyel agregasyonu kolaylaştırır ve iii) *S. aureus*'a özgü

protein A, komplemanı aktive eder ve IgG'nin Fc fraksiyonunu bloke eder, böylece opsonizasyon ve fagositozu inhibe ederek antikorların aracılık ettiği mikroorganizmanın ortadan kaldırılmasını önler (Dmitriev *et al.* 2004) (Şekil 2.2). **Dış kapsül veya glikokaliks:** Bir polisakkarittir, bakterilerin tutunmasını kolaylaştırır ve antifagositik kapasiteye sahiptir. 5 ve 8 serotiplerinin çoğunun enfeksiyonla ilişkili olduğu 11 kapsüler serotip tanımlanmıştır (Dmitriev *et al.* 2004) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 Stafilokok hücre duvarının yapısı (Dmitriev *et al.* 2004)

2.4.2 Enzimler

Etkilerini enfeksiyon odağına yakın alanlarda üreten maddelerdir. En önemlilerinden ilki olan *katalaz*, fagositoz sırasında mikroorganizmayı koruyan hidrojen peroksiti bozar. İkinci olarak *koagülaz*, iki yapıda bulunur (agregasyon faktörü veya bağlı koagülaz ve serbest veya hücre dışı koagülaz). Her ikisi de pıhtı oluşumuna müdahale eder, fibrinojeni fibrine dönüştürerek bakteri açısından septik süreçleri kolaylaştırır ve apse oluşumunu sağlar. Koagülaz üretimi ile suş virülansı arasında güçlü bir ilişki vardır. Serbest koagülaz tespiti, *S. aureus*'u koagülaz negatif stafilokoklardan ayıran testtir (Shettigar and Murali 2020). *Hiyalüronidaz* ise bağ dokusu matrisindeki

hyaluronik asidi bozar ve enfeksiyonun yayılmasını kolaylaştırır. *Penisilinaz,* Şu anda hemen hemen tüm *S. aureus* suşları tarafından üretilmektedir. Beta-laktam halkasının hidrolizi ile penisilini inaktive eden bir beta-laktamazdır. Çoğu *S. aureus* suşu, nükleik asitleri ve stafilokinaz veya fibrinolitik maddeleri hidrolize eden enzimler olan lipazlar, proteazlar, nükleazlar gibi diğer enzimleri de sentezlemektedir (Shettigar and Murali 2020).

2.4.3 Toksinler

S. aureus'un bazı suşları, enfeksiyon odağından uzak alanlarda eylemlerini üreten ek hücre dışı proteinleri sentezleme yeteneğine sahiptir. İfadeleri, bir protein düzenleyici yardımcı gen (agr) tarafından düzenlenir ve kromozomal veya plazmit DNA tarafından kodlanabilir (Oliveira *et al.* 2018).

Hemolisinler; alfa, beta, gama ve delta olarak dört tane tanımlanmıştır. *S. aureus*'un çoğu suşu tarafından sentezlenirler. Lökositler, makrofajlar, trombositler ve fibroblastlar gibi konakçının belirli ökaryotik hücrelerine etki eden hemolitik ve sitolitik kapasiteye sahiptirler. Alfa toksini en iyi çalışılmış olanıdır. Endotel hücrelerinde indüklenen geçirgenlik değişikliklerinin ve bunun sonucunda iyonik dengedeki değişikliklerin bir sonucu olarak ödem ve doku hasarının gelişiminde rol oynadığı görülmektedir (Shettigar and Murali 2020).

Panton-Valentine lökosidin; suşların %2 ila 3'ü tarafından sentezlenir, F ve S olmak üzere iki protein alt biriminden oluşur, bağımsız olarak sentezlenir ve fagositik hücrelerin zarları üzerinde sinerjistik etki gösterir. Lökosit ve makrofajların zarındaki fosfolipidlere bağlanarak hücre geçirgenliğini değiştirerek hücreyi yok eden gözeneklerin oluşumunu indükler (Oliveira *et al.* 2018).

Eksfolyatif veya epidermolitik toksinler üreten suşların prevalansı coğrafi olarak değişir, ancak genellikle %5-10'dan azdır. İki serotip, A ve B (ETA ve ETB) tanımlanmıştır, her ikisi de haşlanmış deri sendromuna neden olabilir. Eksfolyatif toksin A, ısıya dayanıklı ve kromozom kodluyken, B ısıya dayanıksız ve plazmit kodludur. Sitoliz veya

iltihaplanma olmaksızın epidermisin granüler tabakasının dezmozomlarını yok ederek etki ederler, böylece etkilenen epidermis tabakasında ne lökositler ne de stafilokoklar bulunur. Eksfoliyasyonu tetikleyecek serin proteaz aktivitesine sahiptirler (Shettigar and Murali 2020).

Enterotoksinler; *S.aureus*'un %30-50'si tarafından üretilir. Sekiz stafilokok enterotoksin serotipi (A, B, C, D, E, G, H, I) tanımlanmıştır ve bunların en yaygını A serotipidir. Isıya dayanıklı ve sindirim enzimlerine karşı dirençlidirler, kusma ve enterokolit ile gıda zehirlenmesinden sorumludurlar. Süperantijenlerin immünomodülatör özelliklerine sahiptirler (Oliveira *et al.* 2018).

Toksik şok sendromu toksin 1 (TŞST-1); daha önce pirojenik ekzotoksin C veya enterotoksin F olarak adlandırılan, kromozomal genler tarafından sentezlenen termostabil bir proteindir. Makrofajlar ve T lenfositler tarafından sitokin salınımını indükleyen bir süperantijen görevi görür. Düşük konsantrasyonlarda endotel hücrelerinin ekstravazasyonuna neden olur ve yüksek konsantrasyonlarda sitotoksik etkiye sahiptir (Shettigar and Murali 2020).

2.5 Klinik Görüntüler

S. aureus enfeksiyonu, mikroorganizmanın deriden derin dokulara penetrasyonunu destekleyen kutanöz, travmatik veya cerrahi yaralanmalardan sonra ortaya çıkar. Bu noktalarda bakteriyemi ve metastatik görüntüler üretebilir. *S. aureus*'un neden olduğu enfeksiyonlar genellikle süpüratiftir ve apse oluşturma eğilimindedir (Sahebnasagh *et al.* 2014).

A) *Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları:* Kıl köklerinde başlayan ve komşu dokulara yayılan püstüler veziküllerin oluşumu ile karakterizedir. Folikülit, saç folikülünün yüzeysel bir piyojenik enfeksiyonudur. Perifoliküler dokuya uzanması kanamaya neden olur. Vakaların üçte birinde bakteriyemiye neden olabilir. *S.aureus*'un neden olduğu diğer cilt enfeksiyonları impetigo (esas olarak maruz kalan bölgelerdeki hastaları etkileyen yüzeysel bir enfeksiyon), mastitis, hidradenitis süpürat, selülit, fasiit ve

paronişidir. *S. aureus,* yüzeyel ve derin cerrahi yara enfeksiyonlarında en sık görülen patojenlerden biridir. Kronik ülser enfeksiyonuna da (basınç ülseri, diyabetik ayak) neden olabilir (Sahebnasagh *et al.* 2014).

B*) Bakteriyemi ve endokardit: S. aureus* bakteriyeminin yaygın bir nedenidir. Vakaların üçte birinde enfeksiyonun ilk odağı bilinmemektedir. Hastanede oluşan *S. aureus*'un neden olduğu bakteriyemi, kateterlerin ve diğer invaziv prosedürlerin kullanımı ile ilgilidir, toplumdaki bakteriyemide ise orijinal odak genellikle ekstravaskülerdir (cilt enfeksiyonları ve daha nadiren solunum sisteminde, pnömonide) (Dmitriev *et al.* 2004). Metastatik enfeksiyonlar ve endokardit, bakteriyeminin başlıca komplikasyonlarıdır. *S. aureus* bakteriyemisi olan hastalarda endokardit sıklığı, hastane kaynaklı veya toplum kökenli bakteriyemili olmalarına bağlı olarak sırasıyla %5 ile %21 arasında değişmektedir. *S. aureus*, ister doğal ister prostetik olsun, esas olarak mitral ve aort kapaklarını etkileyen akut enfektif endokarditin en yaygın nedenidir. *S. aureus*'a bağlı akut sağ triküspit kapak endokarditi, şu anda daha az yaygın olmasına ve daha iyi bir prognoza sahip olmasına rağmen, damar içi madde bağımlılarında yaygın olarak görülmektedir. *S. aureus* endokardit komplikasyonları arasında kapak yıkımına bağlı kalp yetmezliği, septik emboli, hematojen beyin veya viseral apseler, miyokardiyal apseler ve pürülan perikardit bulunur (Sahebnasagh *et al.* 2014).

C*) Perikardit:* Perikardit genellikle hematojen kökenlidir, ancak prognozun ciddi olduğu ameliyattan sonra veya penetran travma sebebiyle de oluşabilir.

D*) Kas-iskelet sistemi enfeksiyonları: S. aureus* hematojen yayılım ve kontiguite yoluyla kemik enfeksiyonlarına en sık neden olan mikroorganizmalardan biridir (Van *et al.* 2011). Hastada hematojen osteomiyelit genellikle uzun kemiklerin metafizlerini etkilerken, yetişkinlerde *S. aureus* genellikle süngerimsi vertebral dokuyu etkiler ve vertebral osteomiyelite yol açar. Kronik osteomiyelit, kontiguiteye bağlı olarak daha sıktır ve ortopedik cerrahi ve travmanın bir komplikasyonu olarak ortaya çıkar. Prostetik eklem enfeksiyonuna da neden olabilir. *S. aureus* septik artrit ve bursitin ana etiyolojik ajanıdır. En sık etkilenen eklemler dizler, ayak bilekleri, kalçalar, omuzlar ve interfalangeal eklemlerdir. Piyomiyozit, altta yatan hastalıkları olan insanları etkileyen

çizgili lif kaslarının nadir görülen bir enfeksiyonudur. En yaygın şekli, hematojen orijinli veya bir vertebral enfeksiyonun sonucu olan psoas apsesidir (Savini 2018).

E) *Solunum yolu enfeksiyonları:* Stafilokokal pnömoni nadir fakat ciddi bir durumdur, oral sekresyonların aspirasyonu veya hematojen yayılımdan kaynaklanabilir. İkincisi genellikle sağ endokardit, septik tromboflebit veya kalp pili kurşun enfeksiyonundan oluşur. Toplum kökenli aspirasyon pnömonisi viral durumların bir komplikasyonu olarak ortaya çıkarken, mekanik ventilasyon uygulanan hastalarda nazokomiyal pnömoni daha sık görülür. Pnömoninin en sık görülen komplikasyonu ampiyemdir. Ayrıca kistik fibrozlu hastalarda sinüzit ve bronşiyal enfeksiyonun etiyolojik ajanı olarak *S. aureus*'a da sık rastlanmaktadır (Dmitriev *et al.* 2004).

F) *Merkezi sinir sistemi enfeksiyonları:* Stafilokokal piyojenik menenjit, hematojen orijinli veya apsenin bir komplikasyonu olabilir. Beyin apseleri, endokarditten veya kontiguiteden, sinüzitten, travmadan veya cerrahiden hematojen kaynaklı olabilir. *S. aureus* ayrıca subdural ampiyemin ve spinal veya intrakraniyal epidural apsenin en sık nedenidir (Savini 2018).

G*) İdrar yolu enfeksiyonları: S. aureus* idrar yolu enfeksiyonu çok nadirdir. İdrarda bulunması hematojen kökenli olduğunu düşündürür. Artan enfeksiyonlar enstrümantal manipülasyondan kaynaklanmaktadır (Van *et al.* 2011).

H) *Stafilokok toksinleri tarafından üretilen görüntüler:* Haşlanmış cilt sendromu; yenidoğanlarda ve hastalarda daha sık görülen müköz membranları etkilemeyen büllöz eksfolyatif dermatittir. Genellikle lokalize bir piyodermanın bir komplikasyonu olarak ortaya çıkar (Dmitriev *et al.* 2004).

Toksik şok sendromu; TŞS-1 toksininin üretimi nedeniyle ciddi bir durumdur. Başlangıçta hastalarda ve daha sonra tampon kullanan genç kadınlarda tanımlanmıştır. Şu anda, vakaların çoğu çeşitli yerlerin stafilokok enfeksiyonlarına sekonderdir.

Gıda zehirlenmesi veya stafilokokal toksik gastroenterit: doğrudan mikroorganizmalara değil, toksinlerle kontamine gıdaların yutulmasına bağlıdır. Kusma, kolik ağrısı ve ishal ile birlikte akut, kendi kendini sınırlayan, ateşsiz bir durumdur (Dmitriev *et al.* 2004).

2.6 *S. aureus*'un Genetik Özellikleri

S. aureus; plazmitler, bakteriyofajlar, transpozonlar ve insersiyon dizileri gibi hareketli genetik elementlerin bulunduğu tek bir dairesel kromozomdan oluşan yaklaşık 2800 kb büyüklüğünde bir genoma sahiptir. Bu elementlerin incelenmesi, konjugatif plazmitler kullanılarak konjugasyon, transdüksiyon, transformasyon ve mobilizasyon süreçleri yoluyla suşlar arasındaki genetik transfer mekanizmalarını açıklamayı mümkün kılmıştır. Plazmitler, toksin üretimini ve/veya antibiyotiklere ve ağır metallere karşı direnci kodlayan genleri içeren küçük (2-5 kb) kromozom dışı dairesel DNA moleküleridir. Konjugasyon işlemi ile bir hücreden diğerine aktarılabilirler (Sultan and Latef 2019).

Transpozonlar, uzunlukları birkaç yüz ile birkaç bin nükleotid arasında değişen, genellikle tekrarlayan dizilerle çevrili hareketli DNA parçalarıdır. Transpozisyon iki mekanizma yoluyla gerçekleşir: biri daha sonra kendisini hedef DNA'ya yerleştirmek için mobil elementin eksizyonundan oluşur, diğeri ise transpozonun kendisinin hedef DNA'ya eklenecek bir kopyasını oluşturduğu bir retrotranspozisyon mekanizmasından oluşur. Bu elementlerin bölünmesini ve birleşmesini katalize eden enzimler spesifiktir ve transpozonun kendisinde kodlanmıştır. Transpozonlar bir veya daha fazla antibiyotik direnç belirteci taşıyabilir. Eritromisine direnç için *erm*B genini taşıyan *Tn*551, kanamisin, tobramisin ve gentamisin direncini kodlayan genleri taşıyan *Tn*4001, trimetoprime karşı direnci kodlayan *Tn*4003, penisilinaz üretimi yoluyla penisiline direnç kazandıran bla operon genini içeren *Tn*552 ve eritromisin direnci için ermA genlerini ve spektinomisine direnci kodlayan spc genini içeren *Tn*554 gibi farklı transpozonlar tanımlanmıştır. Gen transferinde en çok kullanılan iki element *Tn*551 ve *Tn*554'tür. *Tn*554, metisiline dirençli *S. aureus* (MDSA) kromozomunda yüksek frekansta bulunur ve bulaşıcı MDSA klonlarının epidemiyolojik izlenmesi için kullanılmıştır (Kareem *et al.* 2020).

2.7 *S. aureus*'ta Virülans Faktörleri

S. aureus'un neden olduğu sayısız hastalık, hücre yüzeyinde bulunan veya salgılanan çeşitli virülans faktörlerinin üretiminin sonucudur. Bu faktörler, hücrenin biyotik ve abiyotik yüzeylere yapışmasını, konak savunmasına karşı direnci, hücre istilasını ve hasarı kolaylaştırır. Bu virülans faktörlerini kodlayan farklı genlerin ekspresyonu, bakterilerin spesifik klinik belirtilere neden olmasını sağlar. Ayrıca, mikroorganizmanın virülansı farklı coğrafi bölgelerden gelen izolatlar arasında farklılık gösterir (Rasheed *et al.* 2020). Üstel büyüme fazı sırasında bakteri, hücre yüzeyinde protein A gibi, kümelenme faktörü ve diğerleri gibi konakçı yapışması ve kolonizasyonundan sorumlu olan ve bağışıklık sisteminin kaçmasına katkıda bulunan moleküller üretir. Durağan fazın başlarında, süperantijenler (SAgs), sitolizinler ve diğer ekzoenzimler dahil olmak üzere diğer virülans faktörleri üretilir (Costa *et al.* 2013). Stafilokoklar, farklı hücresel bileşenleri hidrolize eden etkileyici miktarda toksin ve enzim salgılar. Bu toksinler ve hücre dışı enzimler Çizelge 2.1'de görüldüğü üzere stafilokokların patogenezine katkıda bulunur. Ana toksinler hemolizinler, lökosidin, eksfoliatin, enterotoksinler ve toksik şok toksini TSST-1 206'dır. Ana hücre dışı enzimler deoksiribonükleaz, lipaz, fosfataz, proteaz, katalaz, hiyalüronidaz ve koagülazdır (Costa *et al.* 2013).

Çizelge 2.1 Staphylococci tarafından üretilen ana enzimler ve toksinler (Leung 2014)

Toksinler	**Eylem Türü**	**Biyolojik etkiler**
Lökosidin	Gözenek oluşturan toksin	Liziz nötrofilleri
TŞST 1	Süperantijen->; aşırı duyarlılık	Lökositlerin aktivasyonu. İnterlökinlerin salgılanması (Il1, 2 ve TNF), toksik şok
Eksfoliatif toksin	Gözenek oluşturan toksin	Epidermoliz
α–toksin	Gözenek oluşturan toksin	Hemolizinler ve oluşumu
β–toksin	Gözenek oluşturan toksin	Birçok hücre tipinin zarlarındaki gözenekler
δ–toksin	Gözenek oluşturan toksin	Birçok hücre tipinin zarlarındaki gözenekler
γ–toksin	Gözenek oluşturan toksin	Birçok hücre tipinin zarlarındaki gözenekler
Enterotoksinler		Gıda zehirlenmesi
Koagülaz	Protrombinin aktivasyonu	Fibröz pıhtı oluşumu
Stafilokinaz	Pıhtı dislokasyonu	Mikroembolinin yayılması
Nükleaz, Lipaz, Esteraz Hiyalüronidaz	İlgili substratlarının hidrolizi (DNA, lipidler, hyaluronik asit)	Doku hasarı, cilt hasarı, bağ dokusu hasarı

2.7.1 Süperantijenler

Süperantijenik ekzotoksinler, klinik önemi nedeniyle toksinler arasında daha belirgindir ve stafilokokal enterotoksinleri (SE) ve toksik şok sendromu toksini-1 – TŞST-1'i içerir. 19.000 ila 30.000 dalton arasında değişen, ısıya, proteolize, düşük pH'a ve kurumaya karşı oldukça dirençli, düşük moleküler ağırlıklı ekzoproteinlerdir. Çoğu süperantijenler (Sag); plazmitler, fajlar veya patojenite adaları gibi değişken genetik elementler tarafından kodlanır ve bunların ekspresyonu, çekirdek algılama sistemi dahil olmak üzere küresel düzenleyici sistemler tarafından kontrol edilir (Kareem *et al.* 2020).

Bunlar, T hücrelerinin ve sitokinlerin çoğalmasına neden olan normal bir antijen olarak içselleştirilmeden ve işlenmeden, T hücresi reseptörleri üzerindeki Sınıf II Büyük Dokuuyuşum Kompleksine (MHC) doğrudan bağlanarak poliklonal bir bağışıklık tepkisini indükleyen süperantijenler olarak sınıflandırılır (Rasheed *et al.* 2020).

Enterotoksinler, bakteri büyümesinin üstel sonrası fazı sırasında Staphylococcus türleri tarafından üretilen güçlü ekzotoksinlerdir. Düşük molekül ağırlıklı (25.000 ila 30.000 dalton) ve kısa zincirli (ortalama 250 amino asit) basit proteinlerdir (Kareem *et al.* 2020). Literatürde birkaç SE zaten tanımlanmıştır. Emetik aktivite ile stafilokokal gıda zehirlenmesine neden olabilenler olarak tanımlanırlar ve stafilokokal enterotoksinler A, B, C, D, E, G, H, I, R ve T'yi içerirler ve ayrıca EEl J, K, L, M, N, O, P, Q, S, U, V ve X'i de içerirler. Bu proteinler EE'ye benzer yapılara sahiptir, ancak insanlarda kusmanın indüklendiği kanıtlanmamıştır (Xu and Cormick 2012). EE, uygunsuz kullanım veya depolama ile kontamine olmuş gıdalar yoluyla yutulduğunda, dünya çapında en sık görülen gıda zehirlenmesi biçimlerinden biri ile ilişkilidir. Bu enterotoksinlerin nanogramlarının yutulması, 1 ila 6 saat içinde kusmaya ve 24 ila 48 saat arasında genel halsizliğe neden olmak için yeterlidir (Fijałkowski *et al.* 2014).

TŞST-1, neonatal toksik şok, stafilokok kızıl hastalığı ve ekzantematöz hastalık gibi hastalıklarda ana virülans faktörüdür. Toksin, bakteri kromozomu üzerinde 15 ila 19 kb mobil genetik elementler, stafilokok patojenite adaları içinde yer alan tst geni tarafından kodlanır. TŞST-1, diğer pirojenik ve süperantijenik eksotoksinlere benzer biyolojik

özelliklere sahip 29,1 KDa'lık bir polipeptittir. Olgun protein, moleküler ağırlığı 22 KDa olan bir polipeptit zinciridir. TŞST-1, T lenfosit proliferasyonu yokluğunda monositler tarafından sitokin salgılanmasını uyarabilir (Xu and Cormick 2012). TŞST-1 üreten suşlar, vücudun şok durumuna girmesine ve çoklu organ yetmezliklerine neden olan akut, multisistemik bir hastalık olan ana hastalık olarak toksik şok sendromuna neden olur. Semptomlar ateş, şiddetli miyalji, abdominal rahatsızlık, uyuşukluk ve huzursuzluk, hipovolemi, deskuamasyonu içerir, ikincisi stafilokok sendromunun geç bir özelliğidir. Yeterli ve zamanında tedavi edilmezse, semptomların başlamasından sonraki 24 saat içinde ölümcül şok gelişebilir (Fijałkowski *et al.* 2014).

2.7.2 Sitolizinler

S. aureus tarafından salgılanan bir diğer virülans faktörü grubu, konağın plazma zarlarına zarar veren sitolizinlerdir. Bunlar hemolizinleri (α, β, δ, γ) ve Panton-Valentine lökositini (PVL) içerir. Bu toksinler hemolitiktir ve enfeksiyon bölgelerindeki savunma hücrelerini öldürebilir. α-hemolizin dermonekrotik ve nörotoksiktir, çeşitli hayvan dokularında öldürücü olabilir. Konak üzerindeki bu etkiler, çeşitli hücre tiplerinin zarı boyunca iyon iletimi için gözeneklerin oluşumundan kaynaklanmaktadır. Salgılamadan sonra, bu enzimler ökaryotik hücrelerin zarlarıyla, özellikle eritrositlerin silindirik heptamerleri oluşturan zarlarıyla bütünleşir ve bunları lize eder. β-hemolizin (sfingomyelinaz C), moleküler ağırlığı yaklaşık 35.000 dalton olan ve hayvanlardan izole edilen *S. aureus* tarafından daha fazla miktarda salgılanan bir ekzotoksindir (Novick *et al.* 2001).

PVL, esas olarak lökositler ve makrofajlar olmak üzere membranlarda gözenekler oluşturan, apoptoza veya parçalanmaya yol açabilen ve *S. aureus* tarafından bakteriyel enfeksiyona karşı bağışıklık tepkisini önemli ölçüde etkileyen bir lökotoksindir. Epidermal nekrotik lezyonlar, çıbanlar ve osteomiyelit gibi deri ve doku enfeksiyonları ve ayrıca gençlerde, genellikle bağışıklığı yeterli hastalarda hemorajik nekrotizan pnömoni ile ilişkilidir. Birkaç çalışma, PVL'nin metisiline dirençli suşlarla (MDSA - Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus*) ilişkili olduğunu göstermiştir. Mevcut veriler, metisiline duyarlı suşların (MDSA - Metisiline Duyarlı *Staphylococcus aureus*)

%15,0'a kadarının PVL'yi kodlayan geni taşıdığını ve bu genlerin enfeksiyonlara yol açan suşlarda kolonileştirici suşlara göre daha sık olduğunu göstermektedir (Fijałkowski *et al.* 2014).

Bazı *S. aureus* izolatları ayrıca epidermisin granüler ekstraktının bölünmesini destekleyen ve ciddi cilt sendromlarına neden olan eksfolyatif toksinler (Exfoliative toksin - ET) üretir. Toksin, ekspresyonu esas olarak agr geni (aksesuar gen düzenleyici) tarafından düzenlenen yaklaşık 30 KDa'lık bir proteindir. *S. aureus'un* iki ana ET izoformu, ETA ve ETB, biyolojik ve serolojik olarak farklıdır. ETA'yı kodlayan gen kromozom üzerinde bulunurken, ETB geni pETB adı verilen bir plazmit üzerinde bulunur. Her ikisi de, desmoglein 1'i hedef alan, yalnızca epidermisin yüzey tabakasına hücre yapışmasının kaybına yol açan, oldukça substrata özgü serin proteazlardır (Feng *et al.* 2008).

Bu toksinler öncelikle stafilokokal haşlanmış deri sendromundan (SHDS) veya dehidrasyona, derinin yüzeysel katmanlarının kaybına, ikincil enfeksiyonlara yol açan bir hastalık olan Ritter hastalığından sorumludur, ancak enfeksiyonlu yetişkinler de duyarlıdır. SSSS, hastalığın lokalize bir formu olmakla birlikte daha yaygın olan ve her yaş grubunda ortaya çıkabilen büllöz impetigo adı verilen başka bir klinik form sunabilir. Pürülan eksüdalı büllöz lezyonlar, lokal inflamasyon ve nekroz belirtileri oluşur ve *S. aureus* genellikle lezyonlardan izole edilebilir (Al-Marzoqi *et al.* 2015).

2.8 Diğer Virülans Faktörleri

Bazı suşlar, mikroorganizmanın savunma hücreleri tarafından fagositozunu önlemeye yardımcı olan bir polisakkarit kapsülü oluşturabilir. IgG moleküllerinin Fc bölgesi için yüksek afiniteye sahip olan ve bağışıklık sisteminin etkisini engelleyen protein A'yı üretebilir ve salgılayabilirler (Winn *et al.* 2006). Bakteriler tarafından üretilen enzimler arasında hidrojen peroksitin parçalanmasından sorumlu katalaz ön plana çıkar; DNA ve RNA'nın fosfomononükleozidlere ve koagülaza hidrolizinden sorumlu olan termonükleaz (*Tnase*), opsonizasyon ve fagositoza direnç sağlayan fibrin oluşumundan sorumludur. Koagülaz enziminin üretimi, klinik mikrobiyoloji tarafından insan

enfeksiyonlarından izole edilen *S. aureus*'u tanımlamak için kullanılan ana kriterdir. Çoğu suş hala nükleaz, proteaz, lipaz, hiyalüronidaz ve kollajenaz salgılar (Al-Marzoqi *et al.* 2015).

2.9 Kolonizasyon Yerleri

S. aureus, hem insanların hem de hayvanların deri ve mukozalarında yaygın olarak bulunur. Ön burun deliği kolonizasyonun ana yeridir. Bakterilerin normal olarak bulunduğu nazal olmayan bölgeler; deri, perineal bölge, koltuk altları, eller, ağız, meme bezleri, mide-bağırsak, idrar ve solunum yollarıdır ve farenksin bazı çalışmalarda ön burun deliklerinden daha yüksek kolonizasyon oranı olduğu rapor edilmiştir (Hussein *et al.* 2017).

S. aureus tarafından nazal kolonizasyon diğer türlerden farklı şekilde gerçekleşir. *S. aureus*'un tercih ettiği bölge olan ön burun deliği, tabakalı, keratinize ve siliyer olmayan bir epitele sahiptir. Vücuttaki diğer dokular gibi, ön burun deliklerinin epiteli, bazal tabakadan başlayarak, maruz kalan yüzeyde tam olgunlaşmaya ulaşana kadar, çekirdek kaybı ve artan keratinizasyon gibi bir dizi değişiklik meydana gelene kadar bir olgunlaşma sürecinden geçer. *S. aureus*'un hücre yaşı ve keratinizasyon durumuna göre yapışmasını arttırdığı görülmektedir. Bu kolonizasyon özellikleri, kolonize bölge, doğuştan gelen immün yanıta katkıda bulunan nazal sekresyon bileşenlerinden nispeten arınmış olduğundan, bağışıklık sisteminin stafilokokal kaçış yeteneklerinin bazılarını açıklar (Feng *et al.* 2008).

2.10 *S. aureus*'un Virülansında Adezinlerin Rolü

S. aureus'un adhezyon mekanizması ile ilgili yapılmış olan bir takım çalışmalar vardır. Bir arteriyovenöz şantın (ex vivo) çalışıldığı bir köpek modelinde, bir *Clf*A mutantının (fibrinojen adhezin kodlayan) kana maruz kalan yüzeylere yapışmasının azaldığı bildirilmiştir. Bu mutantın vahşi tip *Clf*A geni ile tamamlanmasının, *S. aureus'*un ebeveyn seviyesine bağlanmasını geri kazanmayı mümkün kıldığı belirtilmiştir. Benzer şekilde, sıçanlarda endokarditin bir in vivo modelinde, *Clf*A mutantının daha az bulaşıcı

olduğu bildirilmiştir. Bir septik artrit modelinde, kolajen adezin (*Cna*) üretiminde eksik olan bir mutantın, *Cna*-152 üreten ebeveyninden daha az bulaşıcı olduğu gösterilmiştir (Hussein *et al.* 2017).

S. aureus'un virülansında fibronektine yapışmanın rolü üzerine *in vivo* çalışmalar tartışmalıdır. Bir çalışmada, FnBP üretiminde eksik olan bir mutant, kalp kapakçıklarına yapışması açısından ebeveyn suşu ile karşılaştırılmıştır. Yapıştırıcı üretiminde kusurlu mutant, ebeveyninkinden çok daha düşük yapışma ve ayrıca endokardiyal enfeksiyonu indükleme yeteneğinde azalma göstermiştir. Aksine, başka bir grup çalışmasında, mutantın ve vahşi suşun bulaşıcılığında herhangi bir farklılık bulunmamıştır. Fibronektine bağlılık, özellikle implante edilmiş yapay materyaller (veya biyomateryaller) ile enfeksiyonlar bağlamında incelenmiştir. Eksplante edilmiş materyalin kullanıldığı ex vivo çalışmalar, biriken fibronektinin *S. aureus'un* yapışmasına izin vermede oynadığı önemli rolü göstermiştir (Ferry *et al.* 2005).

2.11 Konakçı Mikroorganizma İlişkisi

Daha önce bahsedilenlere ek olarak, konakçı, mikroorganizma ve çevresel faktörler olarak ayrılan ve *Staphylococcus* tarafından nazal kolonizasyonu etkileyen bir dizi faktör vardır, ancak gerçekte bu ilişkiler oldukça karmaşık ve birbiriyle bağlantılıdır (Ali *et al.* 2020). Konakçıyla ilgili olarak, nazal kolonizasyonun oluşmasında önemli rol oynayan genetik ve immünolojik faktörler vardır. Genetik faktörler arasında taşıyıcılık durumu ile histo-uyumluluk antijeninin tipi arasında açık bir ilişki vardır. Konakçı-patojen ilişkisini etkileyen bazı genetik değişiklikler; immünoglobulin G'nin Fc kısmındaki değişiklikleri, insan glukokortikoid reseptörlerindeki değişiklikleri, tip I diyabetli hastalarda D vitamini reseptörlerindeki değişiklikleri ve diğerleri arasında, nasal bölgedeki mikroorganizmaların kolonizasyonunu ve bakımının kolaylaştırılmasını içermektedir (Novick *et al.* 2001).

S. aureus yapışmasına karşı doğuştan gelen bağışıklık savunmaları, dolaşım ve hücresel bağışıklık faktörlerini içerir. Anatomik adezyon bölgesinin konumu dikkate alındığında, nazal sekresyonlar da savunma sisteminde önemli bir rol oynar. Nazal sıvı; lizozimler,

laktoferrinler, lökosit salgılanan proteaz inhibitörleri (LSPİ), alfa ve beta-defensinler, katelisidinler, immünoglobulinler A ve G ve antimikrobiyal peptitler gibi bir dizi elementten oluşur. Nazal sıvı bileşiminin bir parçası olan her bir antimikrobiyal elementin bağımsız bir etki şekli olmasına rağmen, kanıtlar, bunlar arasında kolonizasyona karşı korumaya katkıda bulunan sinerjistik bir etki olduğunu göstermektedir. Bu unsurlardan birinin veya birkaçının ekspresyonuyla ilgili herhangi bir sorun, kişiyi nazal taşıyıcı olmaya yatkın hale getirir (Xu and Cormick 2012).

Mikroorganizma ile ilgili olarak, genetik özellikler *S. aureus* kolonizasyonunun önemli belirleyicileridir. Önemli genlerin bazı örnekleri, *S. aureus* suşlarının %90,0'ında yaygın olan fiksasyon elemanlarını kodlayan *sdr*E genini içerir. *Clf*B geni tarafından kodlanan kümelenme B faktörünün kolonizasyonun gerçekleşmesi için gerekli olduğu gösterilmiştir (Wertheim *et al.* 2008). Diğer bir örnek, insan nazal epitelinde izole edilen hemen hemen tüm suşlarda bulunan fibronektin bağlayıcı proteinleri kodlayan *fnb*A ve *fnb*B genleridir (Novick *et al.* 2001). Bu ve diğer önemli genlerin, YMMTMYB (yapışkan matris moleküllerini tanıyan mikrobiyal yüzey bileşenleri) grubunun bir parçası olan, peptidoglikan içinde demirlenen ve adezinler olarak işlev gören, fibronektin, kollajen ve fibrinojene bağlanan proteinleri kodladığını vurgulamak önemlidir. Bu proteinler kolonizasyonun sağlanması için önemlidir, ancak hiçbiri yalnızca nazal izolatlarda bulunmaz (Al-Khafaji *et al.* 2013).

Nazal kolonizasyon için eşit öneme sahip bir başka faktör de anatomik bölgedeki çevresel koşullar tarafından belirlenir. Ön burun deliği ve nazofarenks, mikroorganizmalar için insanlara giriş noktalarıdır ve yerel doğuştan gelen bağışıklığın oldukça spesifik araçlarını açıklar. Bu araçlarla bile, hem konakçının hem de mikroorganizmanın bir dizi özelliği nedeniyle, bu bölgenin mikroorganizmalardan arındırılması olası değildir, çünkü bunlar sürekli olarak dış ortamdan burun deliklerine taşınır. Bu nedenle, günlük olarak, farklı türlerin çok çeşitli mikroorganizmalarına karşı bağışıklığımızı test etmekte, böylece rekabetçi bir ortam oluşturmakta ve bakteriyel girişim adı verilen bir fenomen oluşturmaktayız. *S. aureus* ve diğer mikroorganizmalar arasındaki bazı etkileşimler iyi bilinmektedir, örneğin *Corynebacterium sp.* tarafından kolonize edilen insanlar *S. aureus* tarafından düşük kolonizasyon prevalansına

sahiptirler, ve hatta kalıcı taşıyıcılarda *S. aureus*'un yerini *Corynebacterium sp.* alabilir. Diğer bir örnek, viridans grubundan *S. aureus* ve Streptococcus arasındaki negatif korelasyondur (Saber *et al.* 2017).

En çok hatırlanan ve çalışılan bakteriyel enterferans ilişkisi, *S. aureus* ve *S. pneumoniae* arasındaki negatif korelasyondur. Bu olumsuz ilişki çocukluk ve ergenlik döneminde yaygındır. Genel olarak, doğum ile altı ay arasında kolonizasyon, muhtemelen anneden alınan *S. aureus* tarafından yapılır. Altı aydan yedi yıla kadar *S. pneumoniae* kolonizasyonu hakimdir ve yedi yıldan sonra kolonizasyon tekrar *S. aureus*'tur (Ferry *et al.* 2005).

Kolonizasyonu belirleyen çevresel faktörler arasında çocuğun kendi yaşadığı çevre ile olan ilişkisini de sayabiliriz. Büyük kardeş sayısı, aile genişliği, hastaneye devamlılık, pasif sigara içiciliği, annenin eğitim düzeyi gibi faktörler de *S. aureus* kolonizasyonu ile ilişkilidir. Aile dışı gruplar tarafından bakılan çocuklarda, aile üyeleri tarafından bakılan çocuklara kıyasla, solunum patojenleri tarafından nazal ve nazofaringeal kolonizasyon prevalansı ve bakteriyel solunum hastalığına yatkınlık daha yüksektir. İnsan taşıyıcılarının, *S. aureus* türünün bir patojen olarak korunmasında önemli bir faktör olduğu açıktır. *S. aureus* taşıyıcılarının profillerini bilmek esastır. *S. aureus*'un kolonizasyonunun özellikleri ve varlığının her zaman enfeksiyona yol açmadığı dikkate alındığında, taşıyıcı durum bakterilerin toplulukta ve diğer ortamlarda yayılma kaynağı olarak çalışır (Al-Snafi 2019).

2.12 Antimikrobiyallere Direnç

S. aureus suşları arasında patojenik potansiyeline ek olarak, antimikrobiyallere karşı bakteriyel direnç de bir diğer çarpıcı faktördür. Mikrobiyal direnç, mikroorganizmaların öldürücü konsantrasyonlarda antimikrobiyal varlığında bile çoğalma yeteneğini ifade eder. Direnç son yıllarda Irak'ta ve dünya çapında hızla artmış, bu da en sık enfeksiyona neden olan bakterilerin duyarlılık profili ve moleküler karakterizasyonu hakkında giderek artan bir bilgi ihtiyacı doğurmuştur (Al-Hasnawy *et al.* 2012).

Bir mikroorganizmayı antimikrobiyallerin etkisine karşı dirençli hale getiren pek çok faktör vardır; asıl ve teorik olarak kontrol edilebilir olanı yanlış kullanımıdır. 2013 yılında, (Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri HKM), Amerika Birleşik Devletleri'ndeki Antibiyotik direnci tehditleri yayınında, reçete edilen tüm antimikrobiyallerin %50'sinden fazlasının gereksiz yere yapıldığını veya sınırlı ve genellikle eksik bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (CDC 2013).

Irak'ta Ulusal Sağlık Gözetim Kurumu 2020'de yayınlanan antimikrobiyallerin satışında daha fazla kontrol elde etmek amacıyla bir dizi norm oluşturan ve bunların nüfus arasında kolay ticarileşmesini engelleyen 44 numaralı Üniversite Yönetim Kurulu Kararı genellikle gelişigüzel kullanımının risklerini göz ardı etmektedir. Bu nedenle *S. aureus*, halk sağlığında en önemli patojenlerden biri olan bakteriyel direnç mekanizmaları geliştirebilen veya kazanabilen çeşitli mikroorganizmaların bir parçasıdır (Al-Mathkhury 2013).

2.12.1 Metisiline dirençli *S. aureus*

Epidemiyoloji dikkate alındığında, türün en ilginç direnç varyantı MDSA'dır (Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*). Penisilin, *S. aureus*'un neden olduğu enfeksiyonlardan ölüm oranlarının yüksek olduğu 1940'ların başında kliniğe tanıtılmıştır. Yeni keşfin kullanımı üzerindeki etkisi büyük olmuş, ancak kısa süre sonra sağlıkla ilgili ortamlarda penisiline dirençli suşlar ortaya çıkmış ve kısa bir süre sonra bu suşlar toplumda bulunmuştur. 1960'ların başında, penisilin β-laktam halkalarını inaktive eden enzimler olan β-laktamazların etkisine dirençli yarı sentetik penisilin, metisilin geliştirilmiştir. Ancak kısa sürede metisiline dirençli *S. aureus* (Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* – MDSA) ortaya çıkmıştır (Hama *et al.* 2014).

S. aureus'un metisilin ile ilgili direnç kapasitesi, alternatif bir penisilin bağlayıcı proteinin (PBP – Penisilin Bağlayıcı Protein), *PBP*2a veya *PBP*2' varlığından kaynaklanır ve metisilin ve diğer β antimikrobiyaller -laktamların etki hedefini değiştirir. PBP'ler, bakteri duvarı sentezine katılan ve β-laktamlarla yüksek afiniteye sahip enzimlerdir. PBP2a bu afiniteye sahip değildir ve hücre duvarı üretimini sağlar.

PBP2a üretimi, MDSA suşlarında yaygın olarak bulunan stafilokokal kaset kromozom *mec* (SKK*mec*) olarak adlandırılan bir direnç adasının veya genomik adanın parçası olan *mec*A geni tarafından kodlanır. SKK*mec*'in sınıflandırılması, *mec* ve *ccr* komplekslerinin (kaset kromozom rekombinazları) birleştirilmesiyle yapılır (Şekil 2.2).

mec kompleksi *mec*A genine yakın elementlere (*mec*RI, *mec*I ve insersiyon dizileri) göre tanımlanır ve kompleksin üç ana sınıfı vardır: A, B ve C1 ve C2 olmak üzere iki farklı *mec* kompleksine sahip C sınıfı. *Ccr* kompleksi, *ccr* geni (kasetin kromozoma eklenmesinden veya kesilmesinden sorumlu) ve ORF'ler (Açık Okuma Çerçeveleri) tarafından oluşturulur. %50 genetik benzerliğe sahip üç farklı *ccr* tipi (*ccr*A, *ccr*B, *ccr*C) tanımlanmıştır ve *S. aureus* arasında *ccr* ayrıca tip 1, 2, 3, 4 ve 5'e ayrılmıştır. Şu ana kadar on bir SCC*mec* türü karakterize edilmiştir (Hussein *et al.* 2017).

2007'de İngiltere'de sığır mastitisinin epidemiyolojik bir çalışması, fenotipik olarak MDSA (oksasilin ve sefoksitin direnci) olarak doğrulanan bir *S. aureus* LGA251 suşunun izolasyonuna yol açmıştır. Ancak *mec*A geni için doğrulayıcı testler negative olmuştur. İngiltere'deki Wellcome Trust Sanger Enstitüsü'nde yapılan genetik dizileme yoluyla, *mec*A geninin bir homologu bulunmuş, geleneksel *mec*A'ya yalnızca %69 benzerlik göstermiş, ancak bu aynı zamanda β-laktamlara direnci de kodlamıştır. Başlangıçta bu homolog gene *mec*ALGA251 adı verilmiş olup günümüzde *mec*C olarak adlandırılmaktadır. Son yıllarda *mec*A'ya homolog genlerin varlığı önem kazanmaktadır ve şimdiye kadar homoloji derecesine göre dört grup tanımlanmıştır: *mec*A1, *mec*A2, *mec*B ve *mec*C olarak ayrılmaktadırlar (Kadhuim 2018).

Bu yeni izole edilen suşlar CA-MDSA (Toplulukla İlişkili Metisiline Dirençli *S. aureus*) olarak sınıflandırılırken, hastane ortamıyla ilişkili MDSA suşları HA-MDSA (Sağlık Bakımıyla İlişkili Metisiline Dirençli *S. aureus*) olarak sınıflandırılmıştır. Son zamanlarda, CA-MDSA ve HA-MDSA arasındaki bu ayrım, toplum suşları sıklıkla hastanelerde bulunduğundan ve benzer şekilde, hastane suşları topluma taşındığından, gerçek ayrım ancak genotipik değerlendirme ile mümkün olduğundan zorlaşmıştır (Hussein *et al.* 2017).

Her ikisi de metisiline dirençli olsa da, CA-MDSA ve HA-MDSA arasında hem genetik hem de fenotipik olarak farklılıklar vardır. HA-MDSA genellikle hastane ortamında reçete edilen antimikrobiyallere artan maruziyetten kaynaklanan çoklu dirençlidir, CA-MDSA ise metisiline sınırlı dirence sahiptir. Öte yandan, Panton-Valentine lökositini kodlayan genleri taşıyan topluluk MDSA suşlarının yüksek bir yüzdesi vardır ve bunlar *S. aureus* tarafından üretilen diğer eksotoksinlerle birlikte CA-MDSA suşlarının daha büyük patojenitesine katkıda bulunmaktadır. Diğer bir önemli faktör, enfeksiyon için risk faktörlerinin bulunduğu sağlık bakım ortamlarındaki hastaları etkileyen HA-MDSA'nın fırsatçı özelliğidir, CA-MDSA ise risk faktörlerine maruz kalmadan sağlıklı bireyleri etkilemektedir (Al-Kaabi 2016).

Epidemiyolojik bir bakış açısından, CA-MDSA, daha ciddi komplikasyonlara ilerleyebilecek veya ilerlemeyebilecek cilt lezyonlarının gelişmesiyle daha önce sağlıklı olan çocuklarda, ergenlerde ve genç erişkinlerde tanımlanmıştır. Toplumda bu enfeksiyonların ortaya çıkması için risk faktörleri arasında, kümeler halinde, üyeleri arasında yoğun fiziksel temasın olduğu ve özellikle hastaneler, okullar, hapishaneler, spor salonları ve gecekondular gibi ortamlarda bulunan ve sağlık hizmetlerine çok az erişime sahip kişilerin bir arada bulunması yer almaktadır (Al-Saimary 2013).

2.12.2 *S. aureus* ve MLSB fenotipi

β-laktamların kullanımına alternatif olarak, kimyasal olarak farklı olmalarına rağmen benzer bir etkiye sahip olan ve 50S ribozomal alt biriminin ribonükleik asit reseptörü 23S ribozomalına (rRNA) tersinir bir bağlanma ile bakteriyel protein sentezini inhibe eden MLSB kompleksinden (Makrolidler, Linkozamidler ve Streptograminler tip B) antimikrobiyaller kullanılır. Bu kompleksin ilaçları, MDSA suşları gibi birinci seçenek ilaçlara dirençli suşların neden olduğu enfeksiyonlarda ve ayrıca klindamisin gibi mükemmel farmakokinetik özelliklere sahip olduklarından, oral yoldan verildiğinden ve alerjik reaksiyonlarda çok az yer aldığından kullanılırlar (Hussein *et al.* 2019).

MLSB kompleksinin antimikrobiyal direnç mekanizması, yapısal olarak eksprese edilebilen (cMLSB) veya indüklenebilen (iMLSB) erm genleri (*ermA, ermB ve ermC* –

eritromisin ribozom metilaz) tarafından kodlanır. Her iki expresyon biçiminde, 23S ribozomal RNA'nın A2058 tortusunun metilasyonu meydana gelir ve MLSB kompleksindeki antimikrobiyallerin bağlanma bölgesini değiştirir. Buradaki fark, indüklenmiş dirençte, mRNA'yı aktive eden ve metilaz üretimini başlatan, düşük konsantrasyonlarda genellikle eritromisin olmak üzere bir indükleyiciye ihtiyaç duyulmasıdır. Öte yandan, kurucu ekspresyon herhangi bir indükleyici gerektirmez ve bu direnç, mikroorganizmanın MLSB sınıfının antimikrobiyallerine dirençli olduğu bir disk difüzyon testi ile kolayca tespit edilir (Ameer *et al.* 2015).

D testi, klindamisin diskine yakın mükemmel bir indükleyici olan eritromisin varlığının, klindamisine direnci indükleyen erm genlerinin ekspresyonuna neden olduğu ve D'nin düzleşmesiyle tespit edildiği MLSB kompleksine karşı indüklenmiş direnç değerlendirmesi için özel bir tekniktir. Bu durumlarda, CLSI, MLSB kompleksinin tüm antimikrobiyallerine karşı direncin bildirilmesini önerir (Al-Saimary 2013). MLSB fenotipinin epidemiyolojik önemini tartışan az sayıda çalışma vardır, klinik olarak net olan şey, MLSB kompleksine direnç indükleyebilen *S. aureus* suşlarının saptanmasının iyi bir prognoza yol açıp açmayabileceğidir (Goudarzi *et al.* 2016).

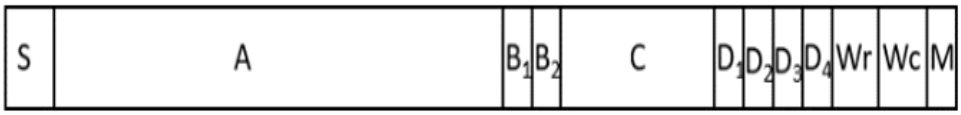
2.13 Fibronektin Bağlayıcı Protein (Fnbs Fibronektin Bağlayıcı Protein)

Adezyon, kolonizasyon ve konakta nihai bir enfeksiyonun gelişmesi için ön koşuldur. *S. aureus*, FnbA ve FnbB olmak üzere iki homolog fibronektin bağlayıcı protein sentezler. Bu proteinler birbirine yakın iki gen tarafından kodlanır ve fnbA stop kodonunun 682bp'sinden sonra fnbB geninin S alanı başlar. fnbA geni yedi bölgeye dağılmış 3057pb tarafından oluşturulur, 1018 amino asidi kodlar ve stop kodonu olarak TAA'ya sahiptir. fnbA geninde üç tekrar bölgesi tanımlanmıştır: 30 amino asidin tekrarlandığı B bölgesi (B1, B2), 38 amino asidin üç kez tekrarlandığı ve kısmen dördüncü kez tekrarlandığı (D1-D4) D bölgesi ve 14 amino asidin beş kez tekrarlandığı Wr bölgesi (Wr1-Wr5) (Menzies 2003). fnbB geni, fnbA genine homolog dizinin iyi bir kısmına sahiptir. Sinyal bölgesi amino asitlerinin (S) %94'ünün iki adezin arasında aynı olduğu bulunmuştur. Ara bölgeden (C), amino asitlerin %94'ü her iki protein arasında aynıdır. fnbB geninde B tekrar bölgesi yoktur. Bu adezinler (FnbA ve FnbB), *S. aureus*

tarafından enfeksiyöz süreçlerde adezyonun ilk aşamasında büyük öneme sahip olan iki protein olup fibronektin ve elastin'e bağlanır, FnbA ayrıca fibrinojene de bağlanabilir. Fibronektin, konakçıda kanda çözünür formda ve hücre matrislerinde lifli formda bulunan 440kDa'lık bir glikoproteindir. Enfeksiyöz süreç sırasında farklı zamanlarda bu proteine bakteriyel yapışmaya izin verdiği için önemlidir .Öte yandan, iki bağımsız araştırmacı grubu, FnbA ve FnbB proteinlerinin aracılık ettiği yeni *S. aureus* biyofilm fenotiplerini tanımlamıştır (Herman-Bausier *et al.* 2015).

2.14 Topaklanma Faktörü (*Clf*s Topaklanma Faktörü)

*Clf*A ve *Clf*B genleri alelik varyantlar değil, farklı genlerdir. *Clf*A, *S. aureus*'un tüm büyüme evrelerinde bulunur ve *Clf*B, bakterinin anaerobik koşullar altında üstel büyüme evresinde bulunur. *Clf*A ve *Clf*B adezinlerinin organizasyon yapısı, FnbA gibi hücre duvarına sabitlenmiş diğer yüzey proteinlerine benzerdir (Şekil 2.3). A spacer bölgesini ve M membran uzatma alanını bağlayan uzun tekrarlanan bir Asp-Ser dipeptit bölgesinden oluşan R alanının varlığında bu adezinlerin farklı bir yönü, bu alan her iki yapıştırıcıda da mevcuttur (Higgins *et al.* 2006). S sinyal dizisi, A ve C boşluk bölgeleri, hücre duvarı alanı dışındaki B ve D farklı tekrar bölgeleri, Wr ve Wc hücre duvarı uzantı alanı tekrar bölgesidir.



Şekil 2.3 fnbA geninin farklı bölgelerinin şematik diyagramı (Herman-Bausier *et al.* 2015)

*Clf*A ve *Clf*B, fibrinojene bağlanır ve trombosit agregasyonunu destekler. Bununla birlikte, çözünür fibrin, *S. aureus*'un *Clf*s proteinlerinin aracılık ettiği trombosit agregatlarının oluşumundan sorumlu ana protein gibi görünmektedir. *Clf*B ayrıca sitokeratin 10'u bağlama yeteneğine de sahiptir (Higgins *et al.* 2006). Adezyona katılan birçok molekül aynı zamanda farklı bağışıklık kaçırma mekanizmalarında da rol oynar. Örneğin, komplementer sistemin aktivasyonu, bu adezinlerin bazıları tarafından

bozulur. *Clf*A, tamamlayıcı düzenleyici faktör 1'e (C1) bağlanır ve C3b'nin inaktive edilmiş bir forma (iC3b) dönüşümünü arttırır ve *S. aureus* fagositozunu bozar (Anderson *et al.* 2016).

2.15 Hemolitik Toksinler

Başlangıçta, bu toksinler, eritrosit lizisine neden olma özelliklerine dayanarak bu şekilde adlandırılmıştır. Demir, tüm organizmalar için sınırlayıcı bir besin olup birçok biyolojik süreçte gereklidir. Bakteriyel hemolizinler için önerilen bir rol, hemoglobin ve miyoglobinde bulunan hem grubunun eritrositlerden salınmasıdır. *S. aureus,* hem grubunun alınmasına ve demirin çıkarılmasına izin veren çoklu bileşen sistemlerine sahiptir. Alfa, beta, delta ve gama toksinleri, immünolojik olanlar da dahil olmak üzere birçok konak hücreye karşı sitotoksik etkiye sahip farklı S. aureus izolatları tarafından üretilir (Divyakolu *et al.* 2019).

2.15.1 α Hemolitik toksin veya α toksin (Hla)

Bu toksini (hla) kodlayan gen, 1980'de kırmızı hücreleri parçalama yeteneğini *E. coli*'ye aktaran faj rekombinasyon metodolojisi aracılığıyla tanımlanmıştır. Hla lokusu 1620 nükleotitten oluşur ve suda çözünür bir monomer olarak salgılanan 319 amino asidi kodlar. Hücre dışı olgunlaşma sürecinden sonra, toksin, yaklaşık 33 kDa'lık aktif formu olan 26 amino asit kaybeder. Hla ekspresyonu, farklı küresel düzenleyici sistemler tarafından kontrol edilir. Bu düzenleyici devreler, in vivo olarak Hla ekspresyonunun sıkı kontrolüne izin verir ve muhtemelen değişen çevresel koşullara hızlı ve spesifik bir tepki vermeyi kolaylaştırır (Anderson *et al.* 2016). Uzun bir süre boyunca, Hla aktivitesi, tavşan eritrosit lizizinin yüksek duyarlılığına karşı insan eritrositlerinin nispi duyarsızlaşmasına ilişkin tartışmalara odaklanmıştır. Son yıllarda, ADM10 (A Disintegrin ve Metalloproteaz 10), aşağıdaki bulgularla desteklenen bir Hla reseptörü proteinli olarak tanımlanmıştır:

1) Konak hücre zarı ADM10, Hla tarafından çökeltilir.

2) ADM10, toksin yapımı ve oligomerizasyonu için gereklidir ve Hla aracılı sitotoksisitede ADM10 gereksinimi, yüksek afiniteli hücresel reseptör ihtiyacının tahmin edildiği düşük toksin konsantrasyonlarında daha fazladır (Cassidy and Harshman 1976).

3) Hla tarafından gerekli olan türe özgü hemolitik aktivite insan eritrositlerinin yüzeyindeki yokluğun aksine tavşan eritrositlerinde ADM10 ekspresyonu ile ilişkilidir (Bhakdi and Tranum-Jensen 1992).

α toksini; eritrositler, epitelyal hücreler, endotelyal hücreler, T lenfositler, monositler ve makrofajlar gibi bir dizi konak hücreye karşı hareket edebildiği için *S. aureus* tarafından üretilen en önemli sitotoksin olarak kabul edilir. Bu ajanın neden olduğu enfeksiyonların patogenezinde önemli bir rol oynayabileceği düşünülmekte ve bu ifade iki satır kanıtla desteklenmektedir. İlk olarak, *S. aureus*'un neden olduğu hastalıklardan etkilenen konakçılar, toksin ekspresyonunun derecesine bağlı olarak Hla'ya karşı bir serum antikor yanıtı geliştirir. *S. aureus* sepsis riski altındaki bireylerde, Hla ve diğer dört *S. aureus* toksinine karşı yüksek serum antikor titrelerine sahip bireylerde risk azalmıştır. İkinci kanıt dizisi, mikrobiyal genetik ve protein profili analizi çalışmalarına dayanmaktadır. "Faj tipi 80/81" olarak adlandırılan *S. aureus* suşu, 1950'li ve 1960'lı yıllardaki salgınlarda oldukça virülent olarak nitelendirilerek çok önemli olmuştur. Faj tipi 80/81 soyunun hla ve agr lokusları (Aksesuar Gen Düzenleyicisi) incelendiğinde, Hla ekspresyonunun kapasitesi ve bu toksinin aracılık ettiği enfeksiyonların üretimi doğrulanmıştır. EMDSA-16 soyu ve ilişkili klonları durumunda, her iki lokusta da Hla üretimini engelleyen ve bu soyun virülansını azaltan nokta mutasyonları gözlenmiştir (Cassidy and Harshman 1976).

2.15.2 β Hemolitik toksin veya β toksin (Hlb)

β hemolitik toksin 1935 yılında Glenny ve Stevens (1935) tarafından tanımlanmıştır. Eritrositlerin, lökositlerin, nöronların ve diğer hücre tiplerinin hücre zarında bulunan sfingomiyelini parçalayarak parçalanmaya neden olan Mg^{2+}'ya bağımlı bir sfingomyelinaz C'dir. Hlb geni, 1989'da tanımlanmış, klonlanlanmış ve dizilenmiştir;

Hlb, 330 amino asitlik bir 39kDa proteini olarak sentezlenir; daha sonra parçalanır ve 35 kDa'lık aktif formda atılır (Dinges *et al.* 2000).

Nükleotid dizisi ve dolayısıyla amino asit dizisi tanımlandığında, *Bacillus cereus* sfingomyelinazın 200 amino asit dizisi ile %55,7 benzerlik olduğu gözlenmiştir. β toksini aynı zamanda sıcak-soğuk toksin olarak da bilinir, çünkü 37°C'de koyun kırmızı kan hücreleri ile etkileşime girer ancak onları parçalamaz. Kırmızı kan hücreleri 4°C'ye yerleştirilirse hücreler parçalanır. Bu durum, 37°C'de kanlı agar plakalarında hemoliz olmaması ve ardından 4°C'de tam hemoliz ile görülür (Salgado *et al.* 2014).

β toksin, sığır mastiti ve kronik insan derisi enfeksiyonları ile ilişkili çoğu *S. aureus* izolatı tarafından üretilir (Salgado *et al.* 2014). Hlb'nin aktif bölgesindeki mutasyonlar üzerine hemolitik aktivitenin ve lenf toksisitesinin sfingomyelinaz fonksiyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir. In vitro ve in vivo Hlb çalışmaları, bu toksinin bulaşıcı süreçlerin patogenezinde ve potansiyel bir halk sağlığı sorunu olarak önemini göstermektedir. Bir in vitro deneyde, Hlb'nin sığır salgı epitel hücrelerini yaraladığı, α toksininin zararlı etkisini arttırdığı ve *S. aureus*'un salgı epitel hücrelerine yapışmasını arttırdığı ve bunun da bakterilerin daha fazla çoğalmasına izin verdiği gözlemlenmiştir. İnsan monositlerinin Hlb ile parçalanması, monositlerin %50'sinin (106 hücre/mL) 60 dakikada sadece 0,001 U/mL Hlb ile parçalanmasıyla ve interlökin-1β, çözünür interlökin-6 reseptörü ve çözünür CD14 aracılığı ile salıverilmesiyle hızlı kinetik göstermiştir. Bu anlamda monositlerin Hlb tarafından yok edilmesi, enfeksiyon hastalıklarının başlaması ve ilerlemesinde önemli olan sitokinlerin salınımı ile ilişkilendirilmiştir. Öte yandan, endotel hücrelerinin sitotoksik aktivitesi yoluyla interlökin 8 üretimini azaltan beta toksinin in vitro anti-inflamatuar etkisini gözlemlemiştir (Marshall *et al.* 2000).

Hlb'nin, DNA varlığında *S. aureus* arasında kovalent bağlar oluşturan, sfingomyelinaz aktivitesinden bağımsız olarak biyofilm bağlama aktivitesi olarak adlandırılan nötr sfingomyelinaz olduğunu ve β toksinin biyofilm oluşumunun güçlü bir uyarıcısı olduğunu bildirmiştir (Taslı *et al.* 2008).

2.15.3 γ Hemolitik toksin veya gama toksini (Hlg)

Gama toksine sahip DNA parçası 1988'de klonlanmış ve genetik kanıtlardan, hemolitik aktivitenin gerçekleşmesi için iki bağımsız gen tarafından kodlanan sırasıyla 32 kDa ve 36 kDa'da üretilen iki polipeptidin ortak etkisinin gerekli olduğu bulunmuştur, bu toksinin fizikokimyasal ve biyolojik özelliklerinin ve onu oluşturan polipeptitler arasındaki ilişkilerin daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır. Polipeptitler, S ve F (Yavaş ve Hızlı salınan Proteinler) bileşenleri olarak adlandırılır. Her iki polipeptidi de üreten izolatlarda, üç S biriminden biri (HlgA, HlgC ve LukS-PV) ve iki F biriminden biri (HlgB ve LukF-PV), hemolitik toksinin altı olası formuyla birlikte bulunabilir. Her grup içindeki birimler arasında yüksek oranda özdeş diziler de gözlenmiştir (Moraveji *et al.* 2014).

*luk*S-PV ve *luk*F-PV (Panton-Valin-Lökosidin) genleri, *luk*S-PV geni, polipeptidin aktif formunu elde etmek için bölünen kalıntı 28 amino asidi içeren 312 amino asitlik bir polipeptidi kodlarken, diğer taraftan *luk*F-PV geni, polipeptidin aktif formunu elde etmek için bölünen 24 kalıntı amino asit dahil olmak üzere 325 amino asidi kodlamaktadır. Hemolitik γ toksinin altı olası formu arasında, HlgA-HlgB, HlgA-*Luk*F-PV and HlgC-HlgB kombinasyonlarının yüksek hemolitik aktiviteye sahip olduğu ve HlgA-HlgB'nin en yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Kalan kombinasyonlar düşük hemolitik aktivite göstermiş, ancak altı kombinasyon lökositlerin parçalanmasında etkili olmuştur. γ hemolitik toksinin farklı kombinasyonlarının klinik ve biyolojik etkisi, bir in vivo modelde değerlendirilmiş ve inflamasyon ve nekroz yoğunluğuna göre farklı kombinasyonların aşağıdaki sırası gözlemlenmiştir: HlgA-*Luk*F-PV > HlgA- HlgB ≥ *Luk*S- PV-HlgB ≥ *Luk*S-PV-*Luk*F-PV > HlgC-HlgB ≥ HlgC-*Luk*F-PV (Yan *et al.* 2008).

2.15.4 δ Hemolitik toksin veya delta toksini (Hld)

Delta toksin, çok çeşitli hücreleri parçalayabilen polimerik yapılar oluşturan düşük moleküler ağırlıklı bir ekzotoksindir (26 amino asit). Bu toksin, hücre yüzeyi ve salgılanan virülans faktörlerinin global düzenleyicisi olarak işlev gören RNA III'ü eş

zamanlı olarak sentezleyen gen tarafından kodlanır. hld geni, ilk 160'ın 45 açık okuma kodonu oluşturduğu 514 nükleotit tarafından oluşturulur. Delta toksini S. aureus izolatlarının %97'si tarafından üretilir ve *Staphylococcus* koagülaz negatiflerinin %50 ila %70'inin bu toksini ürettiği tahmin edilmektedir (Verdon *et al.* 2009).

Delta toksinin etki mekanizması farklı çalışmalarda ilgi konusu olmuştur. Bu toksinin α sarmalının ikincil yapısından, zıt konumlarda hidrofobik ve hidrofilik alanların varlığı ile delta toksininin hücre zarını tahrip eden bir yüzey aktif madde ajanı gibi davrandığı öne sürülmüştür. Hedef hücrenin parçalanma hızı, düşük moleküler ağırlıklı parçacıkların ilk önce salındığı ve ardından toksine maruz kaldığı ve daha büyük moleküllerin salındığı bu hipotezi desteklemektedir (Moraveji *et al.* 2014).

2.16 Stafilokokal Enterotoksinler

SE'ler; ortamda salgılanan, suda ve tuzlu suda çözünen küçük proteinlerdir. Bu enterotoksinlerin birincil yapısında lizin, aspartik asit, glutamik asit ve tripsin amino asitleri bol miktarda bulunur. Bugüne kadar enterotoksinler ile enterotoksin benzeri (Enterotoksin benzeri SEl) arasında 23 serotip bilinmektedir (Pinchuk *et al.* 2010).

SE'ler, yakın bir filogenetik ilişkiye, ortak yapılara, fonksiyonlara ve homolog dizilere sahip geniş bir toksin ailesidir. Kristalografik analiz, bu moleküllerin elipsoidal bir şekle sahip olduğunu ve α-sarmal ve β-kıvrımlı tabakaların bir karışımını içeren iki alan oluşturmak üzere kıvrıldıklarını ortaya çıkarmıştır. SE'lerin gastrointestinal toksin ve spesifik olmayan T hücrelerinin proliferasyonunu uyaran bir süperantijen olmak üzere iki işlevi vardır. Bu işlevler proteinlerin ayrı alanlarında bulunur, fakat ilişkilidir, bu nedenle (mutasyonların neden olabileceği) bir işlevin kaybı, diğer işlevin kaybını da belirlemektedir (Hu *et al.* 2018). Enterotoksijenisite ve kusturucu etki, toksinin bağırsağın nöral reseptörlerine etki etmesinden sonra merkezi sinir sisteminin uyarılmasıyla ilgilidir. SE'lerin sebep olduğu gıda zehirlenmesi, toksinin alınmasından sonra kısa bir kuluçka süresi (2 ila 6 saat) ve ardından bulantı, kusma, karın ağrısı ve ishal ile karakterizedir. Çoğu konakta, artan bağırsak peristalsisi ve vücuttan sıvı kaybı nedeniyle ishal oluşur (Balaban and Rasooly 2000). Bu enterotoksinin bağırsak epiteli

ile temasının, hücre içi kalsiyum salınımını artırarak epitel fonksiyonunu ve bu dokudaki hücre sinyalleşmesi üzerindeki etkisini tehlikeye attığı öne sürülmüştür. SE'ler pepsin ve tripsin gibi gastrointestinal proteazların aktivitesine dirençlidir ve yüksek sıcaklıklara maruz kaldıktan sonra bile biyolojik aktivitelerini sürdürürler (Verdon *et al.* 2009).

Bir süperantijen olarak aktivite, spesifik olmayan T hücrelerinin proliferasyonunu ifade eder. T hücresi aracılı hücresel bağışıklık tepkisini tetiklemek için ilk olay, antijenin T hücre zarı reseptörü (T Hücresi Antijen Reseptörü THR) tarafından tanınmasıdır. Antijen, THR tarafından, antijen sunan hücrelerin yüzeyinde görüntülenen zar proteinleri olan MHC sınıf I ve II'nin molekülleri ile ilişkili işlenmiş bir peptit olarak sunulur. Bu tanıma türü, az sayıda T hücresinin belirli bir antijeni tanıyabildiği bağışıklık tepkisinin yüksek özgüllüğünün temelidir (Pinchuk *et al.* 2010).

Öte yandan, güçlü bir T lenfosit aktivatörü olarak SE'lerin bir süperantijeni olarak aktivitesi, birçok T hücresi ile spesifik olmayan bir şekilde etkileşime girmesine izin verir. Antijen sunan hücreler üzerindeki SE'ler için reseptörler (TCR Vβ), sınıf II MHC molekülü ile etkileşime girerek T hücrelerinin spesifik olmayan aktivasyonunu teşvik eder. Bu etkileşim nedeniyle SE'ler, T lenfositlerin %25'ine kadarını aktive eder; aksine, klasik antijenler T hücrelerinin %0,0001-0,01'ini uyarır. Tümör nekroz faktörü (TNF) α ve β gibi sitokinlerin yoğun salgılanması ile birlikte T hücrelerinin spesifik olmayan aktivasyonu; interlökinler (IL) 1 ve 2 ve interferon (INF) γ, septisemi ve toksik şok sendromunda gözlenen, hücreleri apoptoza götüren ve immünosupresyona neden olan klinik belirtilerden sorumludur (Balaban and Rasooly 2000).

2.16.1 Stafilokokal enterotoksin A (SEA)

SEA'yı kodlayan gen, bir faj tarafından taşınır. DNA hibridizasyon çalışmaları, bu fajın daireselleşme ve karşılıklı çaprazlama yoluyla bakteri kromozomuna entegre olduğunu göstermektedir. Gen, 257 amino asit kalıntısına sahip enterotoksin A öncüsünü kodlayan 771 nükleotitten oluşur. SEA'nın aktif formu, dizinin son hidrofobik kısmında 24 amino asidin çıkarılmasından sonra elde edilir. Farklı izoelektrik noktalara sahip üç

izoform, işleme varyasyonları veya translasyon sonrası modifikasyonları önermektedir. SEA'nın ekspresyonu, üstel büyüme fazının ikinci yarısından başlar ve düzenleyici aksesuar gen (agr) tarafından düzenlenmez (Johler *et al.* 2016).

2.16.2 Stafilokokal enterotoksin B (SEB)

SEb geni bakteri kromozomunda, 0,75 x 10^6 Da plazmitinde ve 56,2 kilobaz pZA10 plazmitinde bulunabilir. Genin yaklaşık 801 nükleotidi vardır ve enterotoksin B öncü proteini, fonksiyonel SEB elde etmek için çıkarılan dizinin son kısmında 27 amino asit kalıntısı dahil olmak üzere 267 amino asit tarafından oluşturulur (Johns and Khan 1988). Seb geni, klinik gıda zehirlenmesi vakalarından izole edilen *S. aureus* suşlarında bakteri kromozomunda gözlenir. Ancak, *S. aureus'*un diğer suşlarında, seb geni 750 kb'lik bir plazmit tarafından taşınır (Huseby *et al.* 2008).

2.16.3 Stafilokokal enterotoksin C (SEC)

SEC'ler, önemli immünolojik çapraz ilişki ile bir grup korunmuş enterotoksin (SEC1, SEC2 ve SEC3) tarafından oluşturulur (Higgins *et al.* 2006). Sığırlardan elde edilen izolatlarda, sec geninin patojenite adası SaPIbov tarafından taşındığı gözlenmiştir (Marshall *et al.* 2000). sec1 geni, 56,2 kilobaz pZA10 plazmidi tarafından taşınır. sec1, sec2 ve sec3 genleri 801 nükleotide sahip olup enterotoksinleri aktif hücre dışı formlarında elde etmek için uzaklaştırılan 27 amino asit kalıntısı içeren 266 amino asit enterotoksin öncü proteinini kodlar (Naimi *et al.* 2003).

SEC3, SEC2'den dört amino asit ve SEC1'den dokuz amino asit ile farklıdır; 167 terminal amino asit tortusu, SEC3'te bir korunmuş amino asit dışında, üç tip enterotoksin içinde aynıdır. Sığır ve koyunlardan elde edilen *S. aureus* izolatlarını inceleyerek her suşun konakçıya özgü bir varyant ürettiğini gözlemlemiştir; bu sonuç, toksin heterojenliğinin, ilgili konakçıda *S. aureus*'un hayatta kalmasını kolaylaştıran sec geninin bir modifikasyon ve seçim sürecinden kaynaklandığını göstermektedir (Johler *et al.* 2016).

2.16.4 Stafilokokal enterotoksin D (SED)

SED geni, pIB485 adı verilen 27,6 kilo bazlı penisilinaz plazmitinde yer alır ve bu plazmit, tüm SED üreten *S. aureus* izolatlarında bulunur. Sed geni 777 nükleotid içerir ve aktifinde enterotoksin elde etmek için çıkarılacak 30 amino asit kalıntısı içeren 258 amino asit öncü proteini kodlar (Hussein *et al.* 2019). Bu enterotoksin, sınıf II MHC molekülü ile etkileşimdeki afiniteyi arttırmak için çinkoya bağlı süperantijenler grubunun (SEA, SED, SEE, SEH, SEI ve SEJ) bir parçasıdır. SED sentezi, *S. aureus'*un aksesuvar düzenleyici geni (agr) tarafından düzenlenir. Bu düzenlemenin bir sonucu olarak, üstel büyüme aşamasından sonra sed ifadesi ortaya çıkmaktadır (Ameer *et al.* 2015).

2.16.5 Stafilokokal enterotoksin E (SEE)

SEE geni bakteriyofajda bulunmakla beraber SEA genininkine benzer nükleotid dizisinin %84'ünü sunar. SEE geni 774 nükleotid içermekte olup SEE 257 amino asitlik bir öncü protein olarak sentezlenir ve enterotoksinin aktif formu 230 amino asit kalıntısı içermektedir (Ferry *et al.* 2005).

2.16.6 Stafilokokal enterotoksin G (SEG)

SEG ve SEI genleri başlangıçta iki *S. aureus* suşunda tanımlanmıştır, ancak her iki gen de *S. aureus*'un klinik izolatlarında bir arada bulunmuştur. SEG geni bakteri kromozomu üzerindeki enterotoksin gen kümesinde bulunur. Bu gen 777 nükleotid içerir ve 233 amino asitlik aktif enterotoksin elde etmek için parçalanan 258 amino asitlik bir öncü proteini kodlamaktadır (Hennekinne *et al.* 2010).

2.16.7 Stafilokokal enterotoksin H (SEH)

DNA dizisinde 654 nükleotide sahiptir ve 218 amino asit aktif proteini kodlar. NH_2-terminal amino asit dizisi benzersiz olup immünolojik testlerde SEH ile daha önce

açıklanan enterotoksinler arasında çapraz aktivite tanımlanmamıştır (Munson *et al.* 1998).

2.16.8 Stafilokokal enterotoksin I (SEI)

SEI geni ayrıca bakteri kromozomundaki enterotoksin gen kümesinde bulunur. 729 nükleotitten oluşur ve 242 amino asidin öncüsünü sentezler; enterotoksin aktif formunda 218 amino asitten oluşur (Ferry *et al.* 2005).

2.16.9 Stafilokokal enterotoksin J (SEJ)

27,6 kilobaz penisilinaz plazmiti (pIB485), SEJ'yi kodlayan bir açık okuma çerçevesi ortaya çıkarmıştır. SED ve SEJ genleri zıt yönlerde kopyalanmakta olup 895 nükleotid ile ayrılır. SEJ geninin PCR amplifikasyon çalışmaları, SED geni ile plazmidi taşıyan *S. aureus* izolatlarının da SEJ genine sahip olduğunu öne sürmektedir (Hennekinne *et al.* 2010).

SEG ve SEİ genleri ile enterotoksin genlerinin gruplanmasını sınırlayan bölgeler arasındaki boşlukta, enterotoksin benzeri SEK, SEL ve SEM'e atıfta bulunan üç açık okuma bölgesi ve ayrıca iki psödogen ψ ent1 ve ψ ent2 mevcuttur (Higgins *et al.* 2006).

2.17 Toksik Şok Sendromu Toksini-1 (TŞST-1)

Başlangıçta, TŞST-1, bu serotipin şu anda mevcut olmadığını açıklayan SEF olarak sınıflandırılmıştır. TŞST geni, SaPIbov patojenite adası tarafından taşınır (Verdon *et al.* 2009). Bu gen, insan izolatlarına kıyasla hayvanlarda hastalıkla ilişkili *S. aureus* izolatlarında önemli ölçüde daha sıktır (Hu *et al.* 2018). SE'ler ve TŞST-1, ortak bir atadan türetildiklerini düşündürecek şekilde ortak biyolojik yapılara ve aktiviteye (gastrointestinal toksin ve süperantijen) sahiptir. Toksik şok toksini, 39°C'nin üzerinde ateş, pullanma ile birlikte ekzantem, kasları etkileyebilen hipotansiyon (şiddetli miyalji), böbrek (üre ve kreatinin yükselmesi), karaciğer (transaminazların yükselmesi

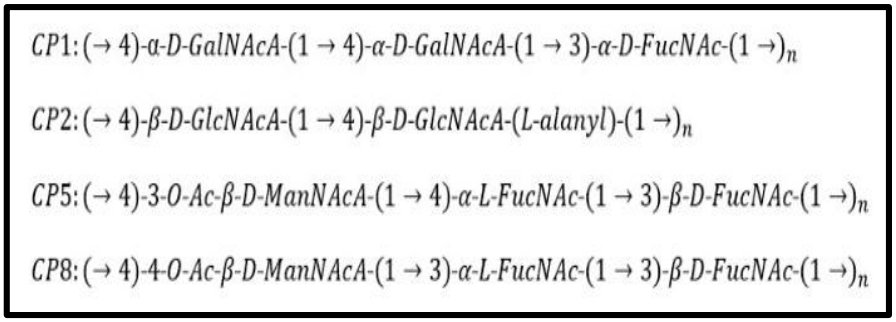
ve hiperbilirubinemi), hematopoietik sistemler (trombositopeni ve lenfositopeni) ve merkezi sinir (oryantasyon bozukluğu, fokal nörolojik bulgu yok) gibi klinik belirtileri belirler (Hennekinne *et al.* 2010).

2.18 Kapsüler Polisakkarit

Hem insanlarda hem de hayvanlarda enfeksiyonlara karışan *S. aureus* izolatlarının çoğu, en sık serotip 5 (CP5) ve 8 (CP8) olmak üzere kapsüler polisakkaritler (Kapsüler Polisakkaritler CP) üretir (Johler *et al.* 2016). Tarif edilen diğer iki serotip, tavşan antiserumları ile reaksiyonlara dayalı olarak CP1 ve CP2 olmuştur (Şekil 2.4). Bu serotiplere sahip izolatlar, katı besiyerinde mukoid koloniler üretir ve klinik izolatlarda nadiren bulunur. CP1, 2, 5 ve 8 antiserumları ile reaksiyona girmeyen izolatlar, tiplendirilemeyen olarak adlandırılmalıdır (Munson *et al.* 1998).

CP5 ve CP8 serotiplerinin ekspresyonu, çevresel koşullardan ve bakteri üremesinden etkilenir. Örneğin, demir ve sodyum sınırlamaları olan bir kültür besiyerinde *S. aureus*'un büyümesi CP8 ekspresyonunu destekler. CP5 ekspresyonu, yüksek konsantrasyonlarda maya özütü, alkali yetiştirme koşulları, artan CO_2 konsantrasyonları ve anaerobiyoz nedeniyle tehlikeye girebilir; bununla birlikte, büyüme sütte gerçekleştiğinde CP5 ekspresyonu tercih edilir (Munson *et al.* 1998). Kapsüler polisakkaritin işlevi ile ilgili olarak, en çok kabul gören teori, stafilokok enfeksiyonlarının patogenezinin, mikroorganizmanın konakçının kanında veya dokularında kalmasına izin veren antifagositik koruma sağlamasıdır. Diğer araştırmacı grupları, kapsüler polisakkaritlerin ekspresyonunun, bu izolatların meme bezinin hücre içi nişinde daha uzun süre kalmasına izin verirken, kapsüler polisakkaritleri eksprese eden izolatların daha büyük bir inflamatuar reaksiyonu teşvik ettiğine ve daha hızlı elimine edildiğine inanmaktadır. Son çalışmalar, cap5-agr grup I genotipli izolatların, düşman çevre koşullarına cap8-agr grup II genotiplerinden daha iyi adapte olduğunu ve ikinci genotipin (cap8-agr II) daha az istilacı kapasiteye sahip olduğunu göstermektedir (Hennekinne *et al.* 2010). Kapsüler polisakkaritler CP1, CP2, CP5 ve CP8'in biyokimyasal yapıları Şekil 2.4'te gösterilmiştir. CP5 ve CP8 benzer tekrar şekerlerine sahiptir, ancak iki polisakarit, şekerler arasındaki bağlardaki farklılıklar ve artık

monosakaritin O-asetilasyon bölgesi nedeniyle serolojik olarak farklıdır (Ferry *et al.* 2005) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 Kapsüler polisakkaritlerin biyokimyasal yapıları (Ferry *et al.* 2005)

CP5 ve CP8'i kodlayan genler, doğada kromozomal ve aleliktir. Kapsüler gen kümesi, tek bir anlamda kopyalanan cap5 A'dan cap5 P'ye kadar yakın bağlantılı 16 gen tarafından oluşturulur. cap5 HIJK çekirdek bölgeleri birbirine homologdur ve alel spesifiktir. Bu anlamda, biyolojik olarak mümkün olmadığında, her iki geni de taşıyan izolatları tanımlayan bazı çalışmaların, her biri alellerden birini taşıyan iki farklı suşun izolasyonunun daha muhtemel olması dikkat çekicidir. Zubair *et al.* (2015) tarafından yayınlanan çalışmada klinik mastitis vakalarından elde edilen izolatlardan biri varsayımsal olarak her iki alleli de taşıyacaktır veya Vautor *et al.* (2009) tarafından sığırlarda mastitise neden olan 5/229 *S. aureus* izolatının yayınlandığı çalışma aynı özellikleri sergileyecektir (Salasia *et al.* 2011).

2.19 Biyofilm Oluşumu

Biyofilmler, kendi kendine üretilen polimerlerden oluşan bir matris içinde kapsüllenmiş ve canlı veya hareketsiz bir yüzeye yapıştırılmış bakteri hücrelerinin yapılandırdığı topluluklarıdır. Biyofilm bakteri büyüme modeli, antikorların ve beyaz kan hücrelerinin bu bakteri topluluklarına karşı etkisizliğini açıklamaktadır (Archer *et al.* 2011). Biyofilm oluşumu, hücre dışı niş içindeki bakteriler için en önemli hayatta kalma mekanizmalarından biridir. Konağın bağışıklık sistemine karşı koruma ve antimikrobiyal ajanlara karşı aktivite sağlar. Konağın bağışıklık sistemine karşı koruma,

makrofajların fagositik aktivitesine, opsonizasyona ve polimorfonükleer hücrelerin reaktif oksijen türlerine karşı biyofilm oluşturan polimer tarafından sağlanır. Nötrofillerin biyofilm üreten *S. aureus* izolatlarına karşı bakterisidal aktivitesinde bir azalma da gözlenmiştir (Barrio *et al.* 2000). Biyofilm içinde gelişen mikroorganizmaların antimikrobiyal ajanlara karşı direncinden farklı mekanizmaların sorumlu olduğu bilinmektedir, ki bunlar: antimikrobiyal ajanın biyofilm içine penetrasyonu, biyofilm içindeki mikroorganizmaların büyüme hızındaki değişiklik ve kalıcı hücreler de dahil olmak üzere biyofilmdeki büyüme moduna bağlı olarak bakterilerdeki fizyolojik değişiklikler (Archer *et al.* 2011).

Mikrobiyal büyümenin planktonik fazı, ajanın bir yüzeyden diğerine dağılma fazı olarak görülebilir. Çoğu doğal ortamda mikroorganizmalar mevcut yüzeylere yapışmaya çalışır. Bakterinin yüzeye ilk yapışmasından sonra, yapışan hücrelerin dahil edilmesinden yüzey hareketliliği ve ikili bölünme sorumludur. Biyofilm oluşumunun ilk aşaması iki alt adımı içerir: birincisi, farklı genlerin etkileşiminin sonucu olan hücre duvarı ile ilişkili adezinler tarafından kolaylaştırılan bir yüzeye hücre yapışmasını içermekte olup ikinci alt adım, hücre çoğalması ve hücre dışı bir polisakkarit ile birbirine bağlı birçok hücre katmanından oluşan olgun biyofilm yapısının oluşumu ile karakterize edilir. Son olarak, olgunlaşma sürecinde birçok Staphylococcus, biyofilmdeki bakterilere daha fazla koruma sağlayan viskoz bir tabaka oluşturur. Bu viskoz tabakanın kimyasal yapısı iyi tanımlanmamıştır, ancak kanıtlar, ağırlıklı olarak hidratlı polisakkaritlerden oluştuğunu göstermektedir (Hennekinne *et al.* 2010).

Bakteriyel biyofilmin büyüme potansiyeli, biyofilm içindeki besinlerin mevcudiyeti ile sınırlı olmakla beraber biyofilm boyunca farklı akış kanalları besin perfüzyonunu korumayı amaçlar. Biyofilm olgunlaşmasını etkileyen diğer faktörler; dahili pH, oksijen perfüzyonu, karbon kaynağı ve ozmolaritedir. Biyofilm kritik bir kütleye ulaştığında, dış hücre tabakası, biyofilmden serbest kalan ve diğer yüzeyleri kolonize eden planktonik durumda hücreler üretmeye başlar (Barrio *et al.* 2000).

Staphylococcus tarafından biyofilm oluşturma yeteneği, biyofilmin fenotipik ekspresyonu veya bu oluşumla ilişkili genlerin taranması yoluyla incelenebilir,

subklinik mastitisli sığır sütü örneklerinden elde edilen *S. aureus* ve *S. epidermidis* izolatlarının biyofilm üreticisi olduğunu göstermiştir. Arjantin'de yürütülen bir başka çalışma, sığırlarda mastitise neden olan *S. aureus* ve koagülaz negatif *Staphylococcus* (SKN) izolatlarında adezyon ve biyofilm oluşumunu destekleyen genlerin yanı sıra biyofilmin fenotipik ifadesinde yüksek frekansları ortaya çıkarmıştır. *S. aureus* durumunda, mastitis vakalarında biyofilm üretimi önemli ölçüde azalır, ancak meme bezinin kolonizasyon kapasitesini arttırır (Triveni *et al.* 2018).

Biyofilm üretimi, loci ica (Hücreler Arası Yapışma), bap (Biofilm-Associated Protein), agr (Aksesuar Gen Düzenleyici) ve sar (Stafilokok Aksesuar Düzenleyici) ile ilişkilidir. Bununla birlikte, biyofilm üretebilen izolatlar, bu genlerin tamamını taşımayabilir, bu da diğer mekanizmaların da biyofilm oluşumuyla ilişkili olduğunu gösterir çalışmasında bap geni, farklı SCN türlerinde (*S. epidermidis, S. chromogenes, S. xylosus, S. simulans* ve *S. hyicus*) tanımlanmış, klonlanmış ve dizilenmiştir. Araştırmacılar, patojenite adası SaPIbov2'den yatay bir gen transferini öneren *S. aureus*'un ortolog geni ile karşılaştırıldığında bu gende yüksek bir benzerlik gözlemlemişler; bap genini taşıyan izolatlar güçlü biyofilm üreticileri olsalar da hiçbirinde icaABCD operonları tespit edilmemiştir (Croes *et al.* 2009).

Biyofilmde bakteri üremesinde, çekirdek tespiti, hücre popülasyonundaki yoğunluğa yanıt olarak gen ekspresyonunda senkronizasyona izin veren bir hücreden hücreye iletişim mekanizmasıdır. *S. aureus* durumunda, biyofilm gelişiminde çekirdek saptamasının düzenlenmesi agr sistemine bağlıdır. farklı bakteri türlerindeki benzer yüzey aktif madde moleküllerinin biyofilm dağılımını indükleyebildiği vurgulanmıştır; bu anlamda, antimikrobiyaller ile yüzey aktif madde moleküllerinin eşzamanlı kullanımı, bakteriyel biyofilmlerin yok edilmesi için umut verici bir alternatif olabilir (Blackledge *et al.* 2013). Bakteri iletişimine müdahale eden küçük moleküller ve çekirdek ve sinyal çeviri sisteminin iki bileşenini tespit etmeyi zorlaştıran sinyal yollarıyla ilgili bilgiler derlenmiştir. Hücre dışı matrisin bileşenlerini bozarak onun yıkımına neden olan enzimlerin kullanımı da ele alınmaktadır. Bakteriyel biyofilm oluşumuyla mücadele için diğer stratejiler, biyofilm oluşumunun ilk aşamasında bakteriyel yapışmanın engellenmesi (spesifik olmayan ve spesifik yapışmanın

engellenmesi) ve etki sürelerini artırmak için antibiyotiklere karşı biyofilm toleransını artırmayı amaçlayan stratejilerdir (Solano *et al.* 2014).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Çalışma Alanı ve Çalışmanın Popülasyonu

Irak'ın Bağdat kentindeki Bağdat Eğitim Hastanesi'nde araştırma başlatılmış olup bu çalışmanın hedef popülasyonu, Mayıs 2021-Ağustos 2021 döneminde şehirde yaşayan ve hastaneye başvuran 17 ila 60 yaş arası hastalar olmuştur.

3.2 Çalışmaya Dahil Olma ve İstisna Kriterleri

Iraklı hastalar, toplamadan önceki yedi gün içinde antimikrobiyal almışlarsa ve/veya deri örneklerinden sürüntü alınmasına karşı kontrendike olan herhangi bir hastalığı varsa, uygun görülmemişlerdir.

3.3 Klinik Numune Toplama

S. aureus suşları, Mayıs 2021'den Ağustos 2021'ye kadar Irak'ın Bağdat hastanelerindeki her iki cinsiyet ve değişik yaştaki 100 hastadan alınan klinik örneklerden izole edilmişlerdir. Hastalar, örnekleme sırasında çalışmanın amaçları hakkında bilgilendirilmiş olup ilgili aydınlatılmış onamları alınmıştır.

Hastaların (erkek ve kadın) onamı alındıktan ve inceleme kurulunun kurumsal onayından sonra bakteri ile enfekte deri lezyonlarından ultra ince ve esnek kalsiyum aljinat sürüntüleri ve nazofaringeal sekresyon sürüntüleri alınmıştır (Fisherbrand, Fischer Scientific, Pittsburg, PA). Merkezi bir laboratuvar, numuneleri Dünya Sağlık Örgütü tarafından belirlenen kriterleri takip ederek işlemiştir (Bekhet *et al.* 2014). Toplanan örnekler, 1 mL yağsız-süt-tripton-glukoz-gliserol ortamı (STGG) içeren kriyojenik tüplere konulmuş ve 10 ila 20 saniye vortekslendikleri ve işlenene kadar bir dondurucuda -80°C'de saklandıkları Bağdat Uygulamalı Bakteriyoloji Laboratuvarı'na gönderilmiştir.

3.4 Mikrobiyolojik Prosedürler

3.4.1 *Staphylococcus aureus* bakterilerinin izolasyonu

Toplanan örnekler bu amaçla hazırlanan kanlı agara inoküle edildi ve 37ºC'de 24 saat inkübe edildi. İzolatlar şekil, boyut, renk, pigment ve hemolitik aktivite açısından incelendi ve mannitol tuz agar (MTA) üzerine ekilerek 37°C'de 24 saat inkübe edildi (Daum *et al.* 2002, Boyle-Vavra *et al.* 2005).

Mannitol fermentasyonu ile stafilokokları (yumuşak, yuvarlak, kremsi, gri ila sarı koloniler) düşündüren sarı bir halo ve/veya morfolojiye sahip koloniler, morfoloji ve boya etkileşimi ile katalaz, pıhtılaşma ve DNAz kanıtlarını doğrulamak için Gram boyamaya tabi tutuldu. Her bir yalıtım levhası kolonisinden sadece bir morfolojik model seçildi. Gram pozitif kok, katalaz, koagülaz ve DNA üreticileri olarak sunulan izolatlar, daha fazla moleküler karakterizasyon için -80 °C'de %30 gliserol ilaveli TSB (Triptik Soy Agar) içinde dondurulduğu.

3.4.1.1 Besiyerleri

Medya, üretici firma talimatlarına göre hazırlanmıştır. Ortam, tüm bileşenler bir su banyosu kullanılarak tamamen eriyene kadar kaynatıldı. Ortam sterilitelerini sağlamak için 37 ºC'de 24 saat inkübe edildi. Stafilokok izolatlarının izolasyon ve tanımlama çalışmalarında, %5 koyun kanı ile zenginleştirilmiş Kanlı Agar (Oxoid-İngiltere), ‘’*Staphylococcus* Medium 110 Agar’’ (Oxoid-İngiltere), ‘’Triptic Soy Agar’’ (Merc-Almanya), ‘’Tripticase Soy Broth’’ (Merc-Almanya) besi yerleri kullanıldı. Besi yerleri üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlandı. Hazırlanan besi yerleri sterilite kontrolü için bir gece 37 ºC’de bekletildikten sonra kullanılıncaya kadar +4 ºC’de saklandı.

D-test yöntemi için üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlanan Müeller-Hinton Agar (Merc-Almanya) 15 cm çapındaki petrilere kalınlığı 4 mm olacak şekilde döküldü.

Hazırlanan besi yerleri sterilite kontrolü için bir gece 37 ºC'de bekletildikten sonra kullanılıncaya kadar +4 ºC'de saklandı.

3.4.2 Staphylococcus aureus'un tanımlanması

Morfolojik özelliklerin tespiti için mannitol tuzu agarından bakteri izolatlarının tek bir kolonisi alındı ve temiz bir lam üzerine bulaştırıldı. Smear Gram boyama ile boyandı. Gram pozitif bakteriler mor görünürken Gram negatif bakteriler kırmızı göründü. Gram boyama yaymasında ayrıca bakterilerin şekli ve düzeni de incelendi (Harley *et al.* 1994).

Biyokimyasal testleri gerçekleştirmek için Harley *et al.* (1994) tarafından açıklanan prosedürler takip edildi.

Mannitol fermantasyon testi için bakteri aşısı, bir mannitol tuzu agar plakasına ekildi ve gece boyunca 37 °C'de inkübe edildi. Bakteriyel fermantasyon meydana geldiğinde, agar sarıya döndü. Fermentasyon olmadığı durumda medya rengi pembe kalırken, verilen izolat negatif bir mannitol fermenter olarak kabul edildi.

Katalaz testi için saf kültürden küçük bir miktar, tahta bir çubuk kullanılarak bir mikroskop lamı üzerine aktarıldı, ardından birkaç damla %3 hidrojen peroksit eklendi. Pozitif sonuçlar hava kabarcıkları oluşumu ile belirlendi.

Oksidaz testi için temiz bir Petri kabına bir parça filtre kağıdı ve 2-3 damla taze hazırlanmış oksidaz reaktifi (%1N, N, N, N-tetrametil-p-) yerleştirildi. Fenilendiamindihidroklorür, filtre kağıdına eklendi. Test edilen organizmalardan bir koloni filtre kağıdına aktarıldı ve bir aplikatör çubuğu ile reaktifin üzerine ovuldu. Pozitif sonuç 10-15 saniye içinde mavi-mor renk oluşumu ile belirlendi.

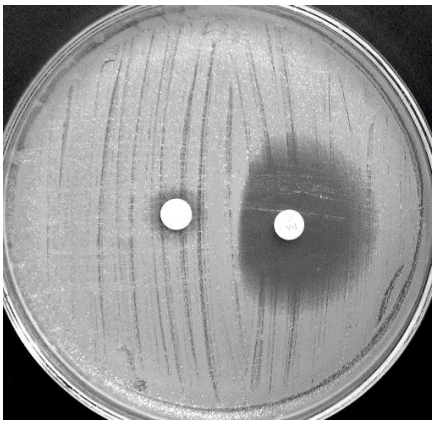
Koagülaz testi için bir tüpteki 0,5 mL sitratlı plazmaya 0,5 mL 18-24 saatlik bakteri besiyeri kültürü eklendi ve ardından 37 °C'de inkübe edildi ve her 30 dakikada bir incelendi. 4 saat içinde pıhtı oluşumu pozitif sonuç kabul edildi; negatif tüpler 24 saat sonra yeniden incelendi.

Antimikrobiyal duyarlılık testi için, moleküler metodoloji ile tanımlanan *S. aureus*, CLSI (CLSI 2020) tarafından tavsiye edildiği gibi disk difüzyon testine tabi tutuldu. Mikroorganizmalar nütrient agarda yetiştirildi ve 37 ºC'de 24 saat inkübe edildi. İlk büyümeden sonra, 1,5 x 10^8 KOÜ/mL (MacFarland ölçeğinde 0,5) konsantrasyon elde etmek için % 0,85 salin solüsyonunda standart bir inokulum hazırlandı ve Müeller-Hinton agar üzerine ekildi. Kullanılan antimikrobiyal diskler: sefoksitin, siprofloksasin, klindamisin, eritromisin, penisilin, kinopristin-dalfopristin, sülfametoksazol-trimetoprim, rifampisin ve tetrasiklin olmuştur. *S. aureus* ATCC® 25923 suşu ile kalite kontrol yapıldı. İnhibisyon bölgelerinin okunması CLSI kriterlerine göre yapıldı. Duyarlılık testi ile eş zamanlı olarak jel üzerine 15 mm aralıklarla yerleştirilen eritromisin, klindamisin ve kinopristin-dalfopristin diskleri kullanılarak MLSB fenotipinin varlığının değerlendirilmesi yapıldı (CLSI 2020).

Minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesi için etest® disk difüzyon yöntemi kullanıldı. Sefoksitine dirençli olan *S. aureus* izolatları, minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) belirlemek için Etest® tekniğine tabi tutuldu. İnokulum hazırlandı ve Etest® Stripleri (farklı konsantrasyonlarda oksasilin içeren) halihazırda aşılanmış plakalara yerleştirildi ve aerobiyozda 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. *S. aureus* ATCC® 29213 suşu ile kalite kontrol yapıldı. MIC okuması üreticinin talimatlarına göre yapıldı ve sonuçlar bir CLSI belgesine göre yorumlandı (CLSI 2020).

Eritromisine dirençli olmasına rağmen, klindamisine duyarlı izolatların indüklenebilir klindamisin direncini belirlemek için "D-testi" yapılmıştır (Iraj *et al.* 2009). Disk difüzyon tekniği ile 2 µg klindamisin diski ve 15 µg eritromisin diski aralarına 15-26 mm aralıklarla yerleştirildi. İndüklenebilir klindamisin direncine sahip suşlar (Şekil 3.1) D-testi (+) olarak değerlendirildi. Antibiyotik duyarlılık testinde sonuçların doğru ve yorumlanabilir olması için bazı kriterler dikkate alındı (Bal *et al.* 2006).

- Nodüler yoğunluk
- Agar kalınlığı, bileşimi ve pH
- Disk uygulamalarında zamanlama
- Disk etkinliği
- İnkübasyon sıcaklığı ve süresi



Şekil 3.1 D testi

3.5 Moleküler Tipleme

3.5.1 Genomik DNA ekstraksiyonu

Genomik DNA, modifikasyonlarla kaynatma ekstraksiyonu yöntemi kullanılarak ekstrakte edildi (Dibbern *et al.* 2015). *S. aureus* türüne ait olduğu düşünülen izolatlar TSB (Triptik Soy Agar) plaklarına inoküle edildi ve 37 ºC'de 24 saat inkübe edildi. Üç ila dört bakteri kolonisi, 1 µL lizostafin (10 mg/mL) ile 50 µL 1X Tris-EDTA tampon çözeltisi (10 mM Tris, pH 7,5 ve 1 mM EDTA, pH 8,0) içinde süspanse edildi. Süspansiyon 15 dakika boyunca 95 ºC'ye kadar ısıtıldı ve süspansiyona 150 µL steril MiliQ su hacmi eklendi. 13.000 x g'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant, PCR reaksiyonu için şablon DNA olarak kullanıldı**.**

femA gen tespiti için PCR**:** Khodadadi vd. (2016) tarafından önerilen protokol izlenerek tüm izolatların türlerini (*S. aureus*) doğrulamak için femA geninin amplifikasyonu yapıldı (Khodadadi *et al.* 2016).

Reaksiyon karışımı, reaksiyon tamponu (20 mM Tris-HCl, pH 8,4; 50 mM KCl; 1,5 mM $MgCl_2$); her dNTP'den 100 µM; her bir oligonükleotid primerinden 0,2 µM; 2,5 U Taq DNA polimeraz; 20 µg şablon DNA içerecek ve nihai hacmi 50 µL olacak şekilde hazırlandı. Amplifikasyon reaksiyonu için 94 ºC'de 5 dakika, 94 ºC'de 2 dakikalık 35 döngü, 57 ºC'de 2 dakika, 72 ºC'de 1 dakika ve 72 ºC'de 7 dakikalık ek uzatma gerçekleştirildi. Amplifikasyon ürünlerinin elektroforezi, 90 dakika boyunca 90 V'de 1 X Tris-Borate-EDTA tamponu içinde %1,5'lik bir agaroz jeli üzerinde gerçekleştirildi. Moleküler ağırlık standardı olarak 50 bp işaretçisi kullanıldı. Jeller, etidyum bromür (0,5 µg/mL) ile boyandıktan sonra görselleştirildi ve Imager® GelDocTM XR fotoğraf dokümantasyon sistemi (BioRad® Laboratories) ile görüntü alındı**.**

3.5.2 *Mec*A geninin tespiti için PCR

*mec*A geninin tespiti, MRSA'yı tanımlamak için bir işaretleyici olarak kullanıldı (Khan *et al.* 2012). *mec*A geninin amplifikasyonu için kullanılan primerler aşağıdaki gibidir:

Mec-P4: 5'-TCCAGATTACAACTTCACCAGG–3'

*Mec*A-P7: 5'-CCACTTCATATCTTGTAACG – 3'

Reaksiyon karışımı, reaksiyon tamponu (20 mM Tris-HCl, pH 8,4; 50 mM KCl; 1,5 mM $MgCl_2$); her dNTP'den 80 µM; her primerden 0,25 µM; 1 U Taq DNA polimeraz; 20 µg şablon DNA içercek ve nihai hacmi 50 µL olacak şekilde hazırlandı. Amplifikasyon reaksiyonu için 94°C'de 4 dakika, 94°C'de 30 saniyelik 30 döngü, 53°C'de 30 saniye, 72°C'de 1 dakika ve 72°C'de 4 dakikalık ek bir uzatma gerçekleştirildi. PCR tüpleri elektroforez ile analiz edilene kadar 4ºC'de tutuldu.

Amplifikasyon ürünleri, 120 V'ta 30 dakika boyunca 1 X Tris-Borate-EDTA tamponu içinde %1 agaroz jel üzerinde elektroforeze tabi tutuldu. 1 kb artı işaretleyici, moleküler ağırlık standardı olarak kullanıldı. Jeller, etidyum bromür (0,5 µg/mL) ile boyandıktan sonra görselleştirildi ve Imager® GelDocTM XR fotoğraf dokümantasyon sistemi (BioRad® Laboratories) ile görüntü alındı.

3.5.3 Panton-Valentine Lökosidini (PVL) kodlayan *luk*S-F geninin tespiti için PCR

*Fem*A genini sunan ve dolayısıyla *S. aureus* olarak kabul edilen tüm izolatlar, virülans belirteci PVL'nin saptanması için araştırıldı. *luk*S-F geninin amplifikasyonu için kullanılan primerler, GenBank veri tabanında (GenBank erişim numarası AB006796) saklanan genomik DNA dizilerinden sentezlendi. Reaksiyon karışımı, reaksiyon tamponu (20 mM Tris-HCl, pH 8,4; 50 mM KCl; 1,5 mM MgCl2); her dNTP'den 80 µM; her primerden 0,25 µM; 1 U Taq DNA polimeraz; 20 µg şablon DNA içercek ve nihai hacmi 50 µL olacak şekilde hazırlandı. Amplifikasyon reaksiyonu için 94ºC'de 5 dakika, 94ºC'de 30 saniyelik 25 döngü, 55ºC'de 30 saniye, 72ºC'de 1 dakika ve 72ºC'de 7 dakikalık ek uzatma gerçekleştirildi. Amplifikasyon ürünleri, 1 saat boyunca 120 V'ta 1 X Tris-Asetat-EDTA tamponu içinde %1,5 agaroz jel üzerinde elektroforeze tabi tutuldu. Jeller etidyum bromür (0,5 µg/mL) ile boyandı ve Imager® GelDocTM XR fotodokümentasyon sistemi (BioRad® Laboratories) ile görüntü alındı**.**

3.6 Veri analizi

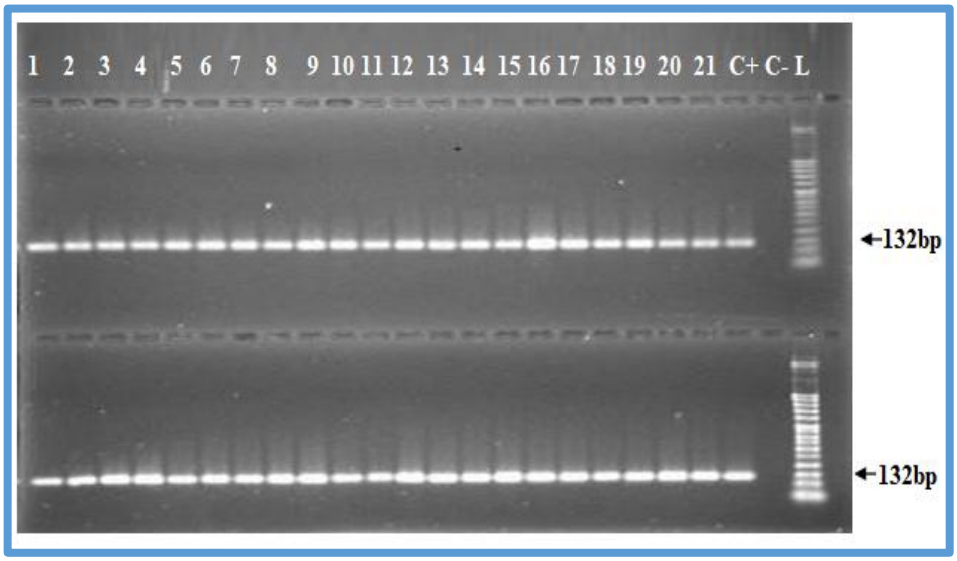
Veritabanı, EpiInfo Windows 3.2 programı ile oluşturulmuş ve nazofaringeal patojen taşıyıcıları için tanımlayıcı ve olası risk faktörleri, Statistical Package for Social Sciences (SPSS) sürüm 17.0 kullanılarak analiz edilmiştir. β-laktamlara ek olarak en az iki sınıf antimikrobiyallere dirençli suşlar çoklu dirençli olarak tanımlandı. Taşıyıcı durumu, tek değişkenli analizde; cinsiyet, yaş grubu (toplama sırasında), hastaneye yatış süresi, son 30 gün içinde antibiyotik kullanımı, toplamadan 7 gün önce ateş, aynı evde yaşayan kişi sayısı, evde 17 yaş ve yaş altı kişi sayısı, hastayla aynı odada kalan kişi sayısı, evde sigara içiciliği, annenin eğitimi, aile geliri ve çocuğun hastaneye gittiği

bölge gibi değişkenlerle analiz edildi. İstatistiksel anlamlılığı belirlemek için p=0,05 olasılık düzeyi kullanıldı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 İzolasyon Sonuçları

Mayıs 2021 ile Ağustos 2021 arasındaki dönemde Bağdat kentindeki Bağdat Eğitim Hastanesi'ne başvuran 17 ila 60 yaş arası 174 hastadan cilt örneği ve nazofaringeal sekresyon sürüntüsü olmak üzere 567 sürüntü örneği toplanmıştır. Bu örneklerin kültüründen 174 *S. aureus* izolatı tanımlanmış, fenotipik ve moleküler tekniklerle doğrulanmıştır (Winn *et al.* 2006). *S. aureus* türlerini doğrulamak için *fem*A geninin tespiti kullanılmıştır (Şekil 4.1). 1'den 21'e kadar olan satırlar – *S. aureus* izolatları; satır 22 - pozitif kontrol, satır 23 - negatif kontrol ve satır L - merdivendir (50 bp).



Şekil 4.1 *S. aureus*'ta femA geninin (132 bp) PCR amplifikasyonunun ürününü gösteren agaroz jel elektroforezi

4.2 Demografik Çalışma

4.1.1 Hastaların demografisi

Çalışmaya alınan hastaların demografik özellikleri ve stafilokok kolonizasyonu ile ilişkili potansiyel risk faktörleri Çizelge 4.1'de gösterilmiştir. 12 ay veya daha uzun

hastaneye yatış süresi, tek değişkenli analizde *S. aureus* kolonizasyonunun daha yüksek prevalansı ile anlamlı şekilde ilişkili bulunmuştur (p= 0,025).

Çizelge 4.1 Bağdat şehrinde hastaneye başvuran araştırılan hastaların sosyodemografik özellikleri

Değişkenler*	***S. aureus***				
	(n)	**%**	**(n)**	**%**	***p***
Yaş Grupları					
≤17 yaş	73	%41,70	180	%45,70	0,203
≤60 yaş	101	%58,30	213	%54,30	
Cinsiyet					
Kadın	74	%42,50	191	%48,50	0,061
Erkek	100	%57,50	202	%51,50	
Hastanede kalma süresi					
≤ 11 ay	53	%30,30	143	%36,50	
≥12 ay	121	%69,70	250	%63,50	0,025
Son 30 gün içinde antibiyotik kullanımı *					
Evet	39	%22,50	101	%25,70	0,24
Hayır	135	%77,50	292	%74,30	
Toplamadan 7 gün önce ateş					
Evet	25	%14,40	61	%15,50	0,64
Hayır	149	%85,60	332	%84,50	
Aynı evde yaşayan kişi sayısı *					
≤3 kişi	60	%34,60	129	%32,70	0,52
≥4 kişi	114	%65,40	264	%67,30	
Evde 10 yaş altı kişi sayısı					
≤2 kişi	145	%83,60	322	%82,00	
≥3 kişi	29	%16,40	71	%18,00	0,51
Hasta ile aynı odada yatan kişi sayısı *					
< 1 kişi	78	%44,70	162	%41,30	
≥2 kişi	96	%55,30	231	%58,70	0,29
Evde sigara içilmesi					
Evet	42	%23,90	107	%27,10	0,26
Hayır	132	%76,10	286	%72,90	
Annenin eğitim durumu	0		0		
≤8 yıllık eğitim	54	%31,20	130	%33,20	0,49
>8 yıllık eğitim	120	%68,80	263	%66,80	
Aile geliri					
<1 maaş	7	%3,80	19	%4,90	0,46
1 ila 2 maaş	90	%52,00	213	%54,30	
≥3 maaş	77	%44,20	160	%40,80	
Hastanın bulunduğu hastane bölgesi		□ $^{2}_{2}$= 1.53			
Kuzey Batı	49	%28,70	93	%23,60	0,23
Güneybatı	31	18.00%	58	%14,70	
Batı	21	12.50%	68	%17,20	
Kuzey	21	12.20%	44	%11,20	
Merkez	20	11.90%	38	%9,70	
Güney	19	11.20%	48	%12,10	
Doğu	14	%8,00	46	%11,60	
		□ $^{2}_{6}$= 8.12			

*Herhangi bir değişken için bilgi içermeyen değerler veya eksik sonuçlar analizlerin dışında tutulmuştur, bu nedenle sayılar toplamlara karşılık gelmeyebilir. Diğer değişkenler için stafilokok kolonizasyonu ile anlamlı bir ilişki gözlenmemiş, ancak, yaşlı hastalarda (%58,3), erkek hastalarda (%57,5), evde 4 veya daha fazla kişiyle yaşayan hastalarda (%65,4), aynı odada iki veya daha fazla kişiyle yatan hastalarda (%55,3) ve Bağdat'ın kuzeybatı bölgesindeki hastaneye başvuran hastalarda (%28,7) kolonizasyon prevalansının daha yüksek olduğu yönünde bir eğilim gözlemlemek mümkün olmuştur.

4.2 Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Sonucu

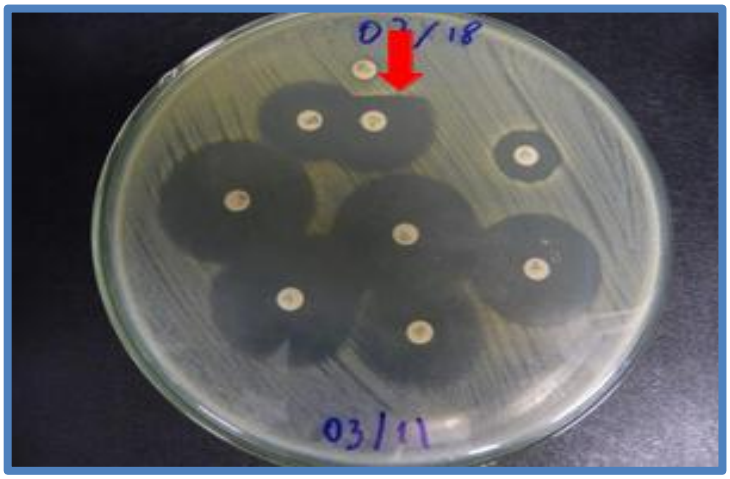
Moleküler değerlendirme ile doğrulanan 343 izolattan 174'ünde antimikrobiyal duyarlılık testi yapılmış ve %94,5 penisiline dirençli, %35,6 kinopristin/dalfopristin'e dirençli, %34,1 eritromisine dirençli ve %28,6 klindamisine dirençli bulunmuştur. Duyarlılık profilleri Çizelge 4.2'de açıklanmıştır.

Çizelge.4.2 Bağdat'ta hastaneye başvuran hastanın deri örneklerinden ve nazofarenksinden izole edilen *S. aureus*'un antimikrobiyal duyarlılık profili

Antibiyotikler	**Direnç %**	**n**
Penisilin	94,5	163
Kinupristin/Dalfopristin	35,6	61
Eritromisin	34,1	59
Klindamisin	28,6	49
Sülfametoksazol/Trimetoprim	9,9	17
Tetrasiklin	6,1	10
Siprofloksasin	4,7	8
Sefoksitin	3,5	6
Rifampisin	0,9	2

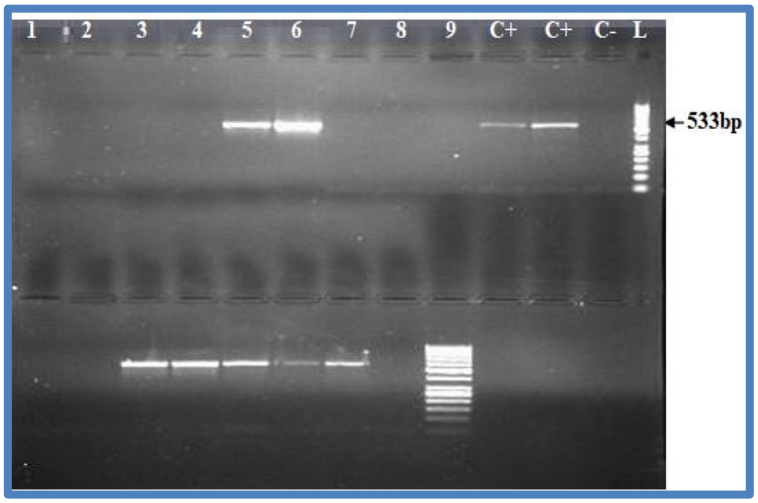
Antimikrobiyal duyarlılık testi ayrıca çoklu direnç profiline sahip, yani üç veya daha fazla antimikrobiyal sınıfına dirençli 56 izolatın (%31,2) varlığını ortaya çıkarmıştır. Duyarlılık testi ile birlikte, antimikrobiyal eritromisin, klindamisin ve

kinopristin/dalfopristin kullanılarak MLSB fenotipini (Makrolidler, Linkozamidler ve Streptograminler B) değerlendirmek için D testi yapılmıştır. Toplam 174 numuneden MLSB ile indüklenebilir fenotipe sahip toplam %26,7 izolat tanımlanmıştır (Şekil 4.2) MLSB kurucu fenotipi hiçbir izolatta tanımlanmamıştır.

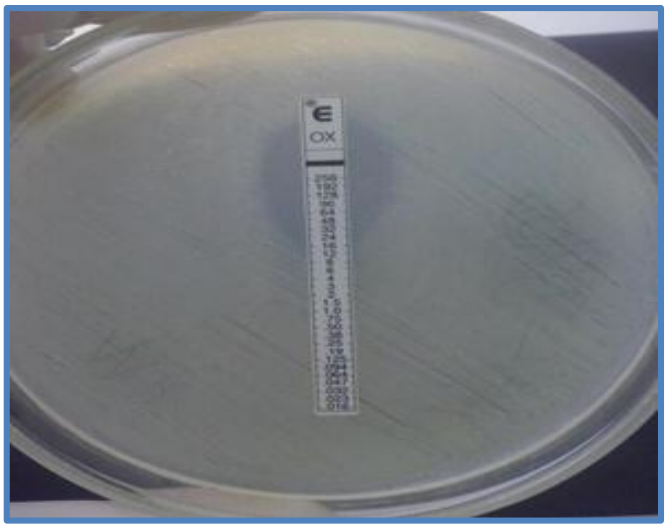


Şekil 4.2 Eritromisin ve klindamisin arasındaki halenin düzleşmesi ile pozitif D testi

Sefoksitine dirençli 6 izolat, mecA geninin saptanmasına ve oksasilin için minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) değerlendirilmesine tabi tutulmuştur. Bunların sadece %0,44'ü, toplanan toplam 576 sürüntüden yukarıda bahsedilen gene sahip olmuştur (Şekil 4.3). 1. ila 9. sıralar üstte ve 3 ila 5. sıralar altta – sefoksitin dirençli *S. aureus* izolatları; ilk 10. ve 11. satır ve alt 6. ve 7. satır: pozitif kontroller, üst 12. ve alt 8. satır: negatif kontrolleri göstermektedir. Dört izolatta MİK > 4 µg/mL vardı, bu da metisilin direncini doğrulamıştır (Şekil 4.4) (CLSI 2020).

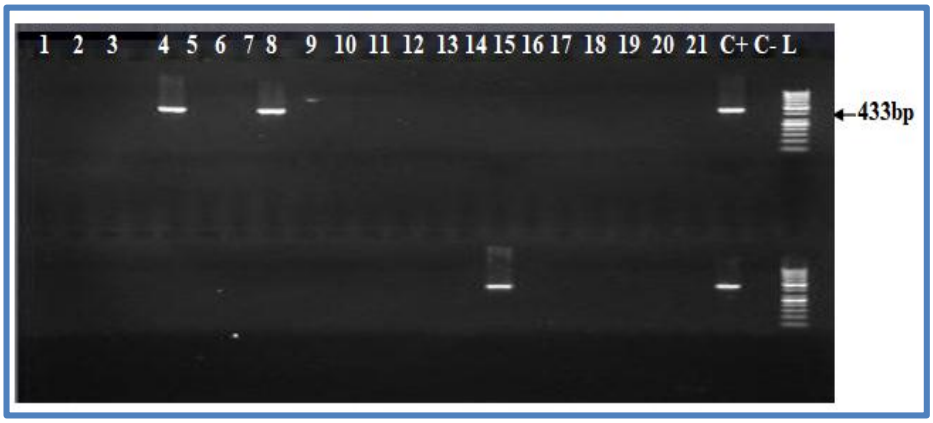


Şekil 4.3 mecA geninin (533 bp) amplifikasyon ürününün agaroz jel elektroforezi



Şekil 4.4 Oksasilin için MIC tespiti için Etest®

174 *fem*A pozitif izolatın tümüne, Panton-Valentine lökositini kodlayan *luk*S-F genini saptamak için PCR uygulanmıştır. Bunların 13'ü (%7,5) bu gene sahip bulunmuştur (Şekil 4.5). 1'den 21'e kadar olan satırlar, üst ve alt, *S. aureus* izolatları, 22. satır: pozitif kontrol, 23. satır: negatif kontrol ve satır L: merdivendir (50 bp).



Şekil 4.5 lukS-F geninin (433 bp) amplifikasyon ürününün agaroz jel elektroforezi

Çoklu dirençli olarak sınıflandırılan 107 izolattan dördü *mec*A genine sahip bulunmuştur. Beş MDSA izolatından üçü aynı anda *luk*S-F genini ve biri de MLSB ile indüklenebilir fenotipi sunmuştur. lukS-F geninin tespit edildiği 26 izolattan 13'ü (%50,0) çoklu direnç profilini de sunmuştur. Bağdat hastanesinde 10 poliklinikten (YBÜ/1, cerrahi/2, kadın hastalıkları/3, pediatri/4, KBB/5, ortopedi/6, nöroloji/7, kardiyoloji/8, cilt/9, bulaşıcı hastalıklar/10) rastgele araştırma için seçilen iki veya daha fazla hasta, *luk*S-F genini sunan *S. aureus* tarafından kolonize edilmiş ve iki hastanede MDSA suşu ile iki hasta bulunmuştur (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 Bağdat hastanesinde farklı lokasyonlarda (poliklinikler) başvuran hastalardan izole edilen *S. aureus'un* antimikrobiyal duyarlılık ve virülans profili

Poliklinikler/ İzolatlar	**Gen** *mec*A	**Gen** *luk*S-F	**Direnç Profili**	**D Testi**
1/26	-	+	Penisilin	-
2/20	-	+	Eritromisin, klindamisin, kinopristin, rifampisin, tetrasiklin, penisilin, sulfametoksazol, sifatoksin*	+
3/21	-	+	Eritromisin, klindamisin, kinopristin, penisilin *	+
4/12	-	+	Eritromisin, klindamisin, kinopristin*	+
5/7	+	-	Sülfametoksazol, penisilin, siprofloksasin	-
6/9	+	-	Penisilin, siprofloksasin	-
7/4	-	+	DY	-
8/7	-	+	Eritromisin, rifampisin, tetrasiklin, penisilin, sulfametoksazol*	-

9/42	-	+	Eritromisin, klindamisin, kinopristin, penisilin, sülfametoksazol, siprofloksasin*	+
10/26	-	+	Eritromisin, klindamisin, kinopristin, penisilin, siprofloksasin*	+

DY = Direnç yok. *: Çoklu direnç

4.3 Tartışma

Bağdat şehrinde hastanelere başvuran hastalardan alınan 567 sürüntü örneğinden 174'ü *S. aureus* yönünden pozitif bulunmuştur (prevalans %30,7). Bu prevelans, İran'da hastanede yatan hastaların %29,6'sını bulan (Sedighi *et al.* 2011, Gardella *et al.* 2011) tarafından sağlıklı hastaların %31,0'ında bakteritromisin bulunduğu Arjantin'de ve ayrıca Blumental *et al.* (2013). Brüksel'de hastalarda *S. aureus* prevalansının %34,0 olduğu diğer çalışmalarda bulunanlara benzerdir. Co (2011) tarafından Irak, Bağdat'taki İbn Sina Hastanesinde 2005-2009 yılları arasında, hastaneye giden ve yaşları 24 ile 59 arasında olan hastalardan toplanan 1.192 örnekle yapılan bir ankette, prevalans %46,1 olmuş ve bu çalışmanın sonuçlarına göre, Bağdat'ta hastaneye başvuran *S. aureus* hastasının kolonizasyonu ile ilgili olarak çok az varyasyon olduğunu göstermiştir.

Bu prevelans, aynı yaş grubundaki popülasyonlarda dünya çapında bulunan diğerlerinden daha yüksek olduğunu kanıtlamıştır, Çin'in Hong Kong Şehrindeki 79 hastanede 2-5 yaş arasındaki 2.211 hastada %27,6 oranında *S. aureus* bulmuştur (Ho *et al.* 2012). Asya kıtasında 3 ile 6 yaş arasındaki hastalarla yapılan bir başka anket kolonizasyon prevalansının %26,0 olduğunu göstermiştir (Ko *et al.* 2008).

Massachusetts, ABD'de, prevalansı 3 ila <4 yaş arasındaki hastalarda %13,9, 4 ila <5 yaş arasındaki hastalarda %18,6 ve 5 yaşın üzerindeki hastalarda %25,4 olarak bulmuşlardır (Lee *et al.* 2009).

Bu çalışma prevelansın yaşla birlikte arttığını gösterse de bulunan yaygınlığın altındadır. Ayrıca ABD'de, Miller vd. (2011) tarafından Kuzey Carolina ve Virginia eyaletlerinde yürüttüğü araştırmada, 1.163 hastada *S. aureus* kolonizasyonu prevalansı

%18,1'e ulaşmıştır ve Portekiz'de hastaneye başvuran hastalarda bulunan prevalans %17,0 olmuştur (Tavares *et al.* 2010).

Bu çalışmada gözlemlenenlerden daha yüksek prevalans, Kolombiya'da Rodrigues *et al.* (2014) tarafından elde edilmiş olup, sekiz araştırılmış hastanede 10 ila 15 yaş arasındaki *S. aureus* ile kolonize olmuş hastaların prevelansı %35,0 olmuş aynı ülkede 12 ila 16 yaş arasındaki yaş grubunda %38,5 olmuştur. İsviçre'de, 10 ila 60 yaş arasındaki hastaların %36,0'ı bakteriler tarafından kolonize edilmiştir (Mégevand *et al.* 2010). Irak'ta, Bağdat şehrinde, Irak hükümeti tarafından normalin altında aglomerasyonlar (favelalar) olarak kabul edilen bölgelerde yapılan bir ankete göre, 3 ay ile 6 yaş arasındaki 500 hastadan oluşan bir popülasyonda %48,0 prevalansı elde edilmiştir (Heba *et al.* 2021).

Ülkeler arasında ve hatta aynı ülke içinde gözlemlenen *S. aureus* kolonizasyonu prevalansındaki farklılıklar, her bölgede gözlemlenen farklı sosyo-demografik koşullara bağlanabilir. Örneğin, Heba *et al.* (2021) tarafından Bağdat'ta hastaneye başvuran hastalarla yürütülen bir araştırma, bizim bulgularımız dahil şimdiye kadar sunulan diğer çalışmalara kıyasla çok yüksek bir *S. aureus* kolonizasyonu prevalansı (%48,0) elde etmiştir. Muhtemelen bu uyumsuzluk, bu hastaların yaşam ortamından kaynaklanmaktadır. İzole *S. aureus* arasında en yüksek direnç oranları Penisilin (%94,5), kinopristin/dalfopristin (%35,6) ve eritromisin (%34,1) için bulunmuştur. Rifampisin (%0,9) ve sefoksitin (%3,5) için en düşük direnç oranları gözlenmiştir. Bu direnç profilleri başka çalışmalarda da gözlenmiştir (Wang *et al.* 2014).

İndüklenebilir MLSB fenotipinin tespiti, test edilen 343 izolatın 93'ünde (%27,1) pozitifti; bu değer Mozambik'te MSSA'nın topluluk suşlarında bulunan %10,8'den daha yüksek bir değerdir (Mégevand *et al.* 2010). Bu bulgunun en büyük önemi klinik bakış açısındandır, çünkü klindamisin, *S. aureus*'un neden olduğu cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisinde alternatif olarak yaygın olarak kullanılan bir antimikrobiyaldir, genellikle ampirik olarak, çalışmamızda gösterildiği gibi terapötik başarısızlığın neredeyse üçte birini temsil etmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir araştırma, deri enfeksiyonları için klindamisin ile ampirik tedavi gören

hastaların yarısından fazlasının, mikroorganizmanın antimikrobiyallere direnci nedeniyle iyi yanıt vermediğini göstermiştir. Bu nedenle, MLSB profilinin indüklenebilir direncinin belirlenememesi, terapötik başarısızlığa yol açabilir.

Öte yandan, eritromisine dirençli *S. aureus*'un klindamisine de dirençli olduğunu varsaymak, kullanımının yeterli olacağı bir durumda bu antimikrobiyalin doğru kullanımını engelleyecektir (Heba *et al.* 2021).

Bu nedenlerden dolayı, *S. aureus* için bir mikrobiyolojik tanımlama rutininde D testinin kullanılması, hastanelere başvuran hastaların enfeksiyon geliştirme olasılığının bu ortamlara gitmeyen bir hastaya göre daha önemli hale geldiği ve bu özellik son derece epidemiyolojik öneme sahip olduğu anlamına gelmektedir. Bu ortam enfeksiyon gelişimine daha yatkınsa, doğal olarak tedavi için antimikrobiyallerin kullanımı daha fazladır ve bu nedenle daha dirençli bakteri suşlarının seçimi daha yaygın hale gelmektedir. Bu sorunu artıran bir diğer faktör ise genellikle alt sınıflara mensup olan ve çoğu zaman lise mezunu olan bu hastaların sosyal durumlarıdır. Yanlış bilgi, bu hastaları tedavi etmek için antimikrobiyallerin kötüye kullanımını kolaylaştırır (Pedraza *et al.* 2014).

Bu faktörler, bu araştırmadaki çoklu dirençli izolatların %31,2'sinin varlığının olası açıklamalarıdır. Bu sonucun, toplama sırasında enfeksiyöz bir durum göstermeyen hastalarda bulunduğunu vurgulamak önemlidir. Bir kez daha, kreş ortamı, dirençli suşların yayılması için bir yer olarak, sadece onlara katılan hasta için değil, aynı zamanda kreş dışındaki temasları için de vurgulanmaktadır.

Sefoksitine fenotipik olarak dirençli on iki izolat tanımlanmış, ancak *mec*A geninin saptanması yoluyla sadece %0,44'ünün MDSA olduğu doğrulanmıştır. Kore'de okul öncesi hastalar arasında yüksek bir MDSA prevalansı (%9,3) elde edilmiştir (Lee *et al.* 2011).

Medellin, Kolombiya'da, (Rodriguez *et al.* 2014) hastaneye başvuran 5 yaşın altındaki hastalarda %3,5'lik bir prevelans elde etmiştir. Aynı ülkedeki başka bir şehirde, 104

okul öncesi ve 20 ila 60 yaşları arasındaki hastalardada MDSA prevalansı %4,8 olarak bulunmuştur . Arjantin, Buenos Aires'te 316 hastada MDSA prevalansı %4,4 olmuştur (Gardella *et al.* 2011).

İran'da 6 ila 10 yaş arası hastalarda MDSA prevalansı %4,1 olmuştur (Sedighi *et al.* 2011). Portekiz'de 2006 ile 2009 yılları arasında 4 ay ile 6 yaş arasındaki 2.100 hasta değerlendirilmiştir.

Sadece 3 (%0,14) hastada MDSA suşu bulunmuş ve bu çalışmada bulunana benzer düşük bir prevalans elde edilmiştir. ABD'de Miller *et al.* (2011) 24 hastaneden hastalarla yapılan bir ankette, 1163 hastada MDSA prevalansını %1,3 olarak elde edilmiştir. Ho *et al.* (2012) Hong Kong'da 2 ila 5 yaş arası hastalarda aynı prevalansı bulmuştur. Çin'de Fan *et al.* (2011) çalışmasında hastalarda %1,1 MDSA bulmuştur. Bağdat'ta, son yıllarda, hastalarla yapılan iki anket de MDSA'nın varlığını değerlendirilmiştir (Lamaro-Cardoso *et al.* 2009). Hastaneye başvuran hastalarla yaptıkları ankette, %1,2'lik bir MDSA izolat oranı elde etmişler. Vieira *et al.* (2014) tarafından 2,034 hasta ile yürütülen diğer anket, MDSA izolatlarına sahip 4 hastada %0,2'lik bir prevalans bulmuştur.

MDSA prevalansı, coğrafi konuma, örneklerin toplandığı yılın zamanına, toplamanın gerçekleştirildiği popülasyonun sosyo-demografik koşullarına ve ayrıca her bir bireyde toplanan anatomik bölgelerin sayısına göre değişmektedir (Lamaro-Cardoso *et al.* 2009). MDSA prevalansındaki değişimi açıklayan birçok faktör vardır, ancak bizi en çok ilgilendiren sonuçlar, son yıllarda Bağdat şehrinde yapılan araştırmalarla ilgilidir. Bulgularımızı karşılaştırdığımızda, MDSA prevalansında çok az değişiklik olduğu görülmektedir, ancak Bağdat'taki hastanelerin okul öncesi popülasyonunda varlığını tespit etmek halen mümkündür. Beş izole MDSA suşu arasında, ikisi aynı kreşten elde edilmiş olması suşlar arasında olası bir korelasyonu ve MDSA'nın yayılma kabiliyetini göstermektedir, ancak bu sadece daha spesifik moleküler testlerle doğrulanabilir durumdadır.

MDSA suşlarının fenotipik tespiti ve *mec*A geninin yokluğu, bu çalışma da dahil olmak üzere dünya çapında birçok çalışmada bildirilmiştir (Mégevand *et al.* 2010, Rodríguezvd *et al.* 2014). Bazı açıklamalar, örneğin Nijerya'da Olayinka *et al.* (2009) tarafından yapılan bir çalışmada ortaya konmuştur, MDSA/*mec*A negatif suşlarında direnç kaynağı olarak aşırı β-laktamaz üretimi tespit edilmiştir, bazı araştırmacılar bu değişikliği, transpeptidaz alanındaki amino asit ikamelerine bağlı olarak PBP'leri kodlayan genlerde metisilinaz plazmit aracılı indüklenebilirlik veya farklı modifikasyonların üretimi olarak yorumlamışlardır. Ba (2014) izole MDSA'da endojen PBP 1, 2 ve 3'teki bazı amino asitlerdeki ikameleri saptayarak ve MDSA suşlarında mevcut olmayan başka bir değişiklik türüne ulaşmıştır. *mec*A'ya homolog genlerin varlığı, *mec*A genine %69 homolojiye sahip *mec*C geni gibi sefoksitin/oksasiline karşı fenotipik direnci de açıklamaktadır. Panton-Valentine lökosidin, *S. aureus*'un toksin deposunun bir parçası olarak, bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda önemli bir rol oynamaktadır, çünkü üretimi cilt apselerinden nekrotizan pnömoniye kadar hastalıkların etiyolojisinde yer alan izolatlarla ilişkilidir (Miller *et al.* 2007).

174 izolattan 26 (%7,5) örnekte lukS-F geninin varlığı tespit edilmiştir. Bunların 23'ü, toplam numunelerin %6,6'sına tekabül eden MDSA suşlarında olmuştur. Literatür taraması yaparken, 6 yaşına kadar olan hastalarda PVL'yi kodlayan geni taşıyan MDSA suşlarının prevalansını bu çalışmaya göre daha düşük olarak doğrulayan çalışmalara rastlanmıştır. Brüksel'de prevalans %0,6 (Lee, et al. 2011), Kolombiya'da %0,96 (Rodríguez, et al. 2014) ve İsviçre'de %1,6 olarak bulunmuştur (Mégevand *et al.* 2010).

MDSA ile *luk*S-F geninin varlığı arasındaki ilişkinin önemi literatürde iyi bilinmektedir (Ferry *et al.* 2005, Mégevand *et al.* 2010, Rodríguez *et al.* 2014, Heba *et al.* 2021). Bağdat'ta yapılan araştırmada, Panton-Valentine lökosidin hiçbir MDSA suşunda bulunmamış ve bulgularımıza göre, beş MDSA izolatından üçü, izole edilen toplam *S. aureus*'un %0,9'una tekabül eden lukS-F genini sunmuştur. PVL genini taşıyan MDSA'nın yokluğu Arjantin'de Gardella *et al.* (2011), Lee *et al.* (2011), Blumental *et al.* (2013) ve Rebollo-Pérez *et al.* (2011) Kolombiyalı hastalarda MDSA suşlarının %4,8'ini PVL pozitif bulurken Fan *et al.* (2011) Çin'de değerlendirilen hastaların %0,6'sını PVL pozitif bulmuştur.

PVL'yi kodlayan genin varlığının verdiği virülans, Panton-Valentine lökosidin üretme kapasitesine sahip MDSA ve MSSA suşları arasında çok fazla epidemiyolojik ve klinik fark olmadığından antimikrobiyallere direnç modelinden bağımsızdır Örneğin, 2009 yılında bir doğum hastanesinde başlayan ve topluma yayılan *luk*S-F geni ile MSSA enfeksiyonu salgını tanımlanmıştır. Kuşkusuz, topluluk salgınları CAMDSA suşları ile ilişkilidir. Pozitif *luk*S-F suşları, metisilin duyarlılığından bağımsız olarak aynı gene sahip olmayan suşlara göre (sırasıyla %29,4 ve %5,9) cilt apsesi gelişimi ile daha fazla ilişkili olmuştur (Wu *et al.* 2013). Bu bulgu başka araştırmalarla da doğrulanmıştır (Gardella *et al.* 2010, Pedraza *et al.* 2014).

S. aureus yayılma paternini takiben Cetin vd. (2010) ve Wang *et al.* (2014) aynı hastane merkezinde iki MDSA ve PVL pozitif suş tanımlanmış, muhtemelen farklı hastalardan izole edilen suşlar arasında bir ilişki söz konusudur. Son yıllarda MDSA kolonizasyon oranında çok fazla değişiklik olmamakla birlikte, ilk kez Bağdat kentindeki hastanelere başvuran sağlıklı hastalarda, enfeksiyonlarla doğrudan ilişkili önemli bir toksin olan Panton-Valentine lökosidini üretebilen MDSA suşları, *S. aureus* tarafından daha agresif tespit edilmiştir. Bu bulgu, bu popülasyondaki kolonize edici suşların özelliklerinde olası bir değişikliği göstermektedir. Hastaneye başvuran hastalarda kolonize edici ajan olarak *S. aureus*'un varlığı uzun yıllardır araştırılmış ve araştırılmaya devam edecektir, sonuçta okul öncesi çağda ve bu hastaların hastanede bulunması bu yolla ve diğer patojenlerle enfeksiyon kapma açısından bir risk durumu oluşturmaktadır. Önemli virülans faktörleri sunan çoklu dirençli *S. aureus* suşlarının varlığı, Bağdat popülasyonundaki önemli epidemiyolojik ve klinik rolüne katkıda bulunmakta olup sürekli bir çalışma son derece gereklidir. Bölgede dolaşan *S. aureus* suşlarının özelliklerinin bilinmesi, neden olduğu enfeksiyonlar için ampirik tedaviyi daha etkin hale getirmekte ve Irak'ın Bağdat şehrinde prevalans çalışmalarının önemini göstermektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

S. aureus'un katılımıyla enfeksiyöz süreçlerle ilgili çalışmalar, araştırmalarda sıklıkla ele alınan konağın savunma mekanizmalarının bilgisine ek olarak, bakteri yapışması, hücre toksisitesi ve bu patojenin kaçması mekanizmalarının anlaşılmasını gerektirir. Virülans faktörlerinin farklı etki mekanizmalarına ilişkin daha ileri çalışmalar, virülans faktörleriyle ilişkili toksinlerin veya protein ailesinin aktivitelerine müdahale etmek için yeni stratejiler geliştirmemize olanak sağlayacaktır.

Sonuç olarak, bu araştırmanın sonuçları, *Staphylococcus spp*'nin direnç profillerinin tanımlanması ve belirlenmesi için farklı metodolojilerin kullanımı hakkında bilgi sağlamakta ve halk sağlığında ilgi duyulan izolatları tanımlamak ve karakterize etmek için geleneksel moleküler araçların kullanışlılığını doğrulamaktadır. Metisiline direnç sağlamaktan *mec*A geninin tek sorumlu olmadığı gösterilmiştir ve bu nedenle, antimikrobiyal direncin indüksiyon sürecinde de önemli bir rol oynayan mec kompleksine (*mec*I ve *mec*RI) ait diğer düzenleyici genlerin kullanılması tavsiye edilmektedir. Fenotip testi ile ilgili olarak, sefoksitin disk difüzyon yöntemi, heterojen metisilin direncinin saptanması için oksasilin'den daha iyi bir öngörücü olarak kabul edilmektedir.

1. Bağdat'ta hastaneye başvuran hastalarda *S. aureus* prevalansı, aynı popülasyonda yapılan önceki çalışmalarla benzerlik göstermiş ve bu durum, popülasyondaki predispozan faktörlerin görünüşte değişmediğini göstermiştir.
2. Hastanede geçirilen daha uzun süre, hastaların daha fazla kolonizasyonu ile pozitif ilişkili olmuş ve hastaneleri bakterilerin yayılma yerleri olarak göstermiştir.
3. MRSA suşlarının prevalansı, aynı halk ve şehirde yürütülen önceki çalışmalarla benzer kalmıştır.

İzolatların üçte birinde bulunan çoklu ilaç direnci ve PVL'yi (Panton-Valentine Lökosidin) kodlayan genin saptanması, tedavi zorluğu, artan virülans ve hastane ortamının sebep olduğu toplumda yayılma riskini temsil ettiğinden endişe nedenleridir.

KAYNAKLAR

Abbas, B., Khudaier, B. and Khudaier, A. 2017. Studies on mecA gene in methicillin resistant Staphylococcus aureus isolates. Jokull Journal, 67: 58-65.

Adnan, W. 2019. Incidence and Antibiotics Susceptibility Pattern of Coagulase Positive and negative Staphylococci amongst (UTI) children in Children Welfare Hospital/Baghdad/IRAQ. Indian Journal of Public Health Research and Development, 10: 1067-75.

Al-Hasnawy, H., Al-Charrakh, A. and Al-Khafaji, J. 2012. Antibiotic Resistance Patterns of Community Acquired Methicillin Resistance Staphylococcus aureus (CA-MRSA) in Al-Hilla/ Iraq. Kerbala Journal of Pharmaceutical Sciences, 4: 91-102.

Ali, F., Allu, M., Assafi, M. and Al-berfkani, M. 2020. The frequency of the pathogenic bacteria isolated from different clinical samples in Duhok, Iraq. In: Pervasive Health: Pervasive Computing Technologies for Healthcare, pp. 363-370.

Al-Kaabi, K. 2016. Molecular Study of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus Isolated from Different Hospitals in Najaf-Iraq. Journal of Medical Science And clinical Research, 4: 8-38.

Al-Khafaji, M., Flayyih, M. and Arsheed, M. 2013. Isolation, Identification and Detection of Some Virulence Factors of Staphylococci in milk and cheese in Baghdad, Iraqi. Journal of Science, 54: 1057-1067.

Al-Marzoqi, A., Fadhil, L., Aziz, G. and Altaee, Z. 2015. Molecular Study of Virulence Genes of Staphylococcus aureus Isolates from Various Clinical Origins by PCR. Medical Journal of Babylon, 12: 677-688.

Al-Mathkhury, H. 2013. Distribution of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus in Iraqi patients and Healthcare Workers. Iraqi Journal of Science, 54: 293-300.

Al-Saimary, I. 2013. Antibiogram and multidrug resistance patterns of Staphylococcus aureus (MDRSA) associated with post operative wound infections in Basrah – Iraq. Medical Practice and Review, 2: 66-72.

Al-Snafi, A. 2019. Iraqi Medicinal Plants with Antibacterial Effect-A Review. IOSR Journal of Pharmacy, 9(8): 22-103.

Ameer, S., Preeti, N. and Prem, O. 2015. Prevalence of MLSB Resistance and Observation of erm A, erm C Genes At A Tertiary Care Hospital. Journal of clinical and diagnostic research, 9: 112-120.

Anderson, A., Scully, I., Buurman, E., Eiden, J. and Jansen, K. 2016. Staphylococcus aureus Clumping Factor A Remains a Viable Vaccine Target for Prevention of S. aureus Infection. mBio., 7: 225-231.

Archer, N., Mazaitis, M., Costerton, J., Leid, J., Powers, M. and Shirtliff, M. 2011. Staphylococcus aureus biofilms. Virulence, 2: 445-59.

Baba, M. L., Anani, L., Scheftel, J. M., Couturier, M. and Haikou, N. 2008. Virulence factors produced by strains of Staphylococcus aureus isolated from urinary tract infections. Journal of Hospital infections, 68: 32-38.

Balaban, N. and Rasooly, A. 2000. Staphylococcal enterotoxins. International journal of food microbiology, 61: 1-10.

Bal, C. 2006. Misleading results in antibiotic susceptibility tests. Istanbul Faculty of Medicine, Department of Microbiology and Clinical Microbiology. http://www.tmcadts.org/pps/Antibiotic_Duyarlilik_Testsinde_Yanlis_Yonçiler_Sonuclar.ppt. Erişim Tarihi: 15.12.2021.

Barrio, B., Vangroenweghe, F., Dosogne, H. and Burvenich, C. 2000. Decreased neutrophil bactericidal activity during phagocytosis of a slime-producing Staphylococcus aureus strain. Veterinary Research, 31(6): 603-609.

Bekhet, S. M. 2014. Phenotypic and Genotypic Characterization of Nosocomial Isolates of Staphylococcus aureus with Reference to Methicillin Resistance. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 13: 1239-45.

Bendahou, A., Lebbadi, M., Ennanei, L., Essadqui, F. and Abid, M. 2008. Characterization of Staphylococcus species isolated from raw milk and milk products (lben and jben) in North Morocco. Journal of Infection in Developing Countries, 2. 266-274.

Bhakdi, S. and Tranum-Jensen, J. 1992. Alpha-toxin of Staphylococcus aureus. Microbiological reviews, 55: 733-51.

Blackledge, M. S., Worthington R. J. and Melander C. 2013. Biologically inspired strategies for combating bacterial biofilms. Current Opinion in Pharmacology, 13(5): 699-706.

Blumental, S., Deplano, A., Jourdain, S., Mendonça, R., Hallin, M., Nonhoff, C., Rottiers, S., Vergison, A. and Denis, O. 2013. Dynamic pattern and genotypic diversity of Staphylococcus aureus nasopharyngeal carriage in healthy pre-school children. J. Antim. Chem., 68(7): 1517-23.

Boyle-Vavra, S., Ereshefsky, B., Wang, C. C. and Daum, R. S. 2005. Successful multiresistant community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus lineage from Taipei, Taiwan, that carries either the novel staphylococcal chromosome cassette mec (SCC mec) type VT or SCC mec type IV. Journal of clinical microbiology, 43(9): 4719-4730.

Cassidy, P. and Harshman, S. 1976. Studies on the binding of staphylococcal 125I-labeled α-toxin to rabbit erythrocytes. Biochemistry, 15(11): 2348-2355.

Cetin, E. S., Us, E., Güneş, H., Kaya, S., Tekeli, A. and Demirci, M. 2010. Investigation of Panton- Valentine leukocidin expressing Staphylococcus aureus colonization among children in a child care center. Am. J. Infect. Cont., 38(7): 565-567.

Chambers, H. 2001. The Changing Epidemiology of Staphylococcus aureus?. Emerging infectious diseases, 7: 178-82.

Co, E. M. 2011. Prevalence of methicillin-resistant staphylococcus aureus in a combat support hospital in Iraq. Mil. Med., 176(1): 89-93.

Costa, A. R., Batistão, D., Ribas, R., Sousa, A. M., Pereira, M. and Botelho, C. 2013. Staphylococcus aureus virulence factors and disease. In book: Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education, pp.702-710, Formatex Research CenterEditors: A. Méndez-Vilas.

Croes, S., Deurenberg, R., Boumans, M., Beisser, P., Neef, C. and Stobberingh, E. 2009. Staphylococcus aureus biofilm formation at the physiologic glucose concentration depends on the S. aureus lineage. BMC microbiology, 9: 229-235.

Daum, R. S., Ito, T., Hiramatsu, K., Hussain, F., Mongkolrattanothai, K., Jamklang, M. and Boyle-Vavra, S. 2002. A novel methicillin-resistance cassette in community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates of diverse genetic backgrounds. The Journal of infectious diseases., 186(9): 1344-1347.

Dibbern, A., Botaro, B., Viziack, M., Silva, L. and Santos, M. 2015. Evaluation of methods of DNA extraction from Staphylococcus aureus in milk for use in real-time PCR. Genetics and Molecular Research, 14: 227-233.

Dinges, M. M., Orwin, P. M. and Schlievert, P. M. 2000. Exotoxins of Staphylococcus aureus. Clin. Microbiol. Rev., 13(1): 16–34.

Divyakolu, S., Chikkala, R., Ratnakar, K. and Sritharan, V. 2019. Hemolysins of Staphylococcus aureus —An Update on Their Biology, Role in Pathogenesis and as Targets for Anti-Virulence Therapy. Advances in Infectious Diseases, 9: 80-104.

Dmitriev, B., Toukach, F., Holst, O., Rietschel, E. T. and Ehlers, S. 2004. Tertiary structure of Staphylococcus aureus cell wall murein. Journal of bacteriology, 186(21): 7141-8.

Fan, J., Zhou, W., Shu, M., Deng, J. J. and Wan, C. M. 2011. Nasal carriage of community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus in healthy children from Chengdu. Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 13(1): 16-9.

Feng, Y., Chen, C., Su, L. and Cheng-Hsun, C. 2008. Evolution and pathogenesis of Staphylococcus aureus: Lessons learned from genotyping and comparative genomics. FEMS microbiology reviews, 32: 23-37.

Ferry, T., Perpoint, T., Vandenesch, F. and Etienne, J. 2005. Virulence determinants in Staphylococcus aureus and their involvement in clinical syndromes. Current infectious disease reports, 7: 420-8.

Fijałkowski, K., Struk, M. and Nawrotek, P. 2014. Comparative Analysis of Superantigen Genes in Staphylococcus xylosus and Staphylococcus aureus Isolates Collected from a Single Mammary Quarter of Cows with Mastitis. Journal of microbiology, 52: 3436-43.

Gardella, N., Murzicato, S., Di Gregorio, S., Cuirolo, A., Desse, J., Crudo, F. and Mollerach, M. 2011. Prevalence and characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus among healthy children in a city of Argentina. Infection, Genetics and Evolution, 11: 1066-1071.

Goudarzi, H., Seyedjavadi, S. and Goudarzi, M. 2016. Molecular Characterization and Distribution of Class 1 Integron-Bearing Methicillin Resistant Staphylococcus aureus Strains in Burn Patients, Tehran-Iran. Jundishapur Journal of Microbiology, 12: 78-85.

Haghverdian, B. A., Patel, N., Wang, L. and Cotter, J. A. 2018. The sports ball as a fomite for transmission of Staphylococcus aureus. Journal of Environmental Health., 80(6): 8-13.

Hama, S., Rebwar, R. and Suhaila, H. 2014. Vancomycin Resistance among Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Isolated from Clinical Samples in Erbil City-Iraq. Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences, 22: 168-174.

Harley, D, Stoakes, L., John, M. A., Lannigan, R., Schieven, B. C., Ramos, M., Harley, D. and Hussain, Z. Gas-liquid chromatography of cellular fatty acids for identification of staphylococci.J. Clin. Microbiol.3219941908-1910.

Heba, K. Tawfeeq, M., Hamid, H., Jabbar F. and Al-Mathkhury, L. 2021. Marked Dominance of methicillin Resistant Staphylococcus aureus among Iraqi Patients. Indian Journal of Forensic Medicine, Toxicology, 15(2): 2664-2667.

Hennekinne, J., Ostyn, A., Guillier, F., Herbin, S., Prufer, A. and Dragacci, S. 2010. How Should Staphylococcal Food Poisoning Outbreaks Be Characterized?. Toxins, 2: 2106-16.

Herman-Bausier, P., El-Kirat-Chatel, S., Foster, T., Geoghegan, J. and Dufrêne, Y. 2015. Staphylococcus aureus Fibronectin-Binding Protein A Mediates Cell-Cell Adhesion through Low-Affinity Homophilic Bonds. mBio, 6: 413-15.

Higgins, J., Loughman, A., Kessel, K., Van Strijp, J. and Foster, T. 2006. Clumping factor A of Staphylococcus aureus inhibits phagocytosis by human polymorphonuclear leucocytes. FEMS microbiology letters, 258: 290-6.

Ho, P. L., Chiu, S. S., Chan, M. Y., Gan, Y., Chow, K. H., Lai, E. L. and Lau, Y. L. 2012. Molecular epidemiology and nasal carriage of Staphylococcus aureus and methicillin-resistant S. aureus among young children attending day care centers and kindergartens in Hong Kong. J. Infect., 64(5): 500-6.

Hu, D., Wang, L., Fang, R., Okamura, M. and Ono, H. 2018. Staphylococcus aureus Enterotoxins. Elsevier, pp. 39–55. Amsterdam.

Huseby, M., Shi, K., Brown, C., Digre, J., Mengistu, F., Seo, K., Bohach, G., Schlievert, P., Ohlendorf, D. and Earhart, C. 2008. Structure and Biological Activities of Beta Toxin from Staphylococcus aureus. Journal of bacteriology, 189: 8719-26.

Hussein, N., Assafi, M. and Ijaz, T. 2017. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus nasal colonisation amongst healthcare workers in Kurdistan Region, Iraq. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 9: 10-17.

Hussein, N., Salih, R. and Rasheed, N. 2019. Prevalence of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Hospitals and Community in Duhok, Kurdistan Region of Iraq. International Journal of Infection, 36: 456-461.

Taslı, H., Akbıyık, A., Topaloğlu, N., Alptüzün, V. and Parlar, S. 2018. Photodynamic antimicrobial activity of new porphyrin derivatives against methicillin resistant Staphylococcus aureus. J. Microbiol., 56(11): 828-837.

Iraj, S., Yousefi M., Rasoul, P. and Neda, R. 2009. D-Test Method for Detection of Inducible Clindamycin Resistance in Staphylococcus Aureus. Iranian Journal of Pediatrics, 19: 92-100.

Johler, S. 2016. Staphylococcus aureus Isolates from Goat and Sheep Milk Seem to Be Closely Related and Differ from Isolates Detected from Bovine Milk. Frontiers in Microbiology, 7: 319-325.

Johns, M. B. and Khan, S. A. 1988. Staphylococcal enterotoxin B gene is associated with a discrete genetic element. Journal of bacteriology, 170(9): 4033-4039.

Kadhuim, A. 2018. Prevalence and Resistance Pattern of Staphylococcus aureus Isolated from a Al- Hussain Teaching Medical City, Al-Zahraa Hospital and Obstetric Teaching Hospital in Karbala Governorate, Iraq. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 7: 3675-3681.

Kareem, N., Alchalabi, R. and Suleiman, A. 2020. Isolation and Identification of Staphylococcus aureus produce super-antigen which Trigger IgE Production from Iraqi Patients with Rhinitis, 14: 5399-5404.

Kareem, S. M., Aljubori, S. S. and Ali, M. R. 2020. Novel determination of spa gene diversity and its molecular typing among Staphylococcus aureus Iraqi isolates obtained from different clinical samples. New Microbes and New Infections, 34: 653-660.

Khan, S., Shetty, P., Lakshmi, C. and Ranganathan, R. 2012. Detection of mecA genes of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus by Polymerase Chain Reaction. International Journal of Health and Rehabilitation Sciences, 1: 11-20.

Khodadadi, P., Bizhanzadeh, M., Najafi, A., Zarinpour, V., Moshfe, A. and Ansari, H. 2016. Antibiotic Resistance and Detection of femA Gene in Staphylococcus Aureus Isolates from Raw Milk. Medical Laboratory Journal, 10: 40-45.

Kim, C., Song, K. and Oh, M. 2019. The microbiological characteristics of Staphylococcus aureus isolated from patients with native valve infective endocarditis. Virulence, 10: 948-956.

Ko, K. S., Lee, J. Y. and Song, J. H. 2008. Characterization of Staphylococcus aureus nasal carriage from children attending an outpatient clinic in Seoul, Korea. Microb Drug Resist, 14: 37-44.

Kluytmans, J. A. N., Van Belkum, A. and Verbrugh, H. 1997. Nasal carriage of Staphylococcus aureus: epidemiology, underlying mechanisms and associated risks. Clinical microbiology reviews, 10: 505-520.

Lamaro-Cardoso, J., de Lencastre, H. and Andrade, A. L. 2009. Molecular Epidemiology and Risk Factors for Nasal Carriage of Staphylococcus aureus and Methicillin- Resistant S. aureus in Infants Attending Day Care Centers in Brazil. J. Clin. Microbiol., 47: 3991-3997.

Lee, G. M., Huang, S. S. and Finkelstein, J. A. 2009. Epidemiology and risk factors for Staphylococcus aureus colonization in children in the post-PCV7 era. BMC. Infect. Dis., 11(9): 110-120.

Lee, J., Sung, J. Y., Kim, Y. M., Oh, C. E., Kim, H. B., Choi, E. H. and Lee, H. J. 2011. Molecular characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus obtained from the anterior nares of healthy Korean children attending daycare centers. Inter. J. Infect. Dis., 15(8): 558-563.

Leung, Y. L. 2014. Staphylococcus aureus. Encyclopedia of Toxicology, 3rd ed. Elsevier, USA.

Marshall, M., Bohach, G. A. and Boehm, D. 2000. Characterization of Staphylococcus aureus beta-toxin induced leukotoxicity. Journal of natural toxins, 9: 125-38.

Mégevand, C., Gervaix, A. and François, P. 2010. Molecular epidemiology of the nasal colonization by methicillin susceptible Staphylococcus aureus in Swiss children. Clin. Microbiol. Infect., 16(9): 1414-1420.

Menzies, B. 2003. The role of fibronectin binding proteins in the pathogenesis of Staphylococcus aureus infections. Current opinion in infectious diseases, 16: 225-9.

Miller, L. G., Perdreau-Remington, F. and Spellberg, B. 2007. Clinical and epidemiologic characteristics cannot distinguish community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection from methicillin-susceptible S. aureus infection: a prospective investigation. Clin. Infect. Dis., 44(4): 471-82.

Miller, M. B., Weber, D. J. Goodrich, J. S. and Nyugen, V. 2011. Prevalence and risk factor analysis for methicillin-resistant Staphylococcus aureus nasal colonization in children attending child care centers. J. Clin. Microbiol., 49(3): 1041-7.

Moraveji, Z., Tabatabaei, M., Shirzad-Aski, H. and Khoshbakht, R. 2014. Characterization of hemolysins of Staphylococcus strains isolated from human and bovine, southern Iran. Iranian Journal of Veterinary Research, 15: 326-330.

Munckhof, W. J., Krishnan, A., Kruger, P. and Looke, D. 2008. Cavernous sinus thrombosis and meningitis from community- acquired methicillin- resistant Staphylococcus aureus infection. Internal medicine journal, 38: 283-287.

Munson, S. H., Tremaine, M. T., Betley, M. J. and Welch, R. A. 1998. Identification and characterization of staphylococcal enterotoxin types G and I from Staphylococcus aureus. Infect. Immun., 66(7): 3337-48.

Naimi, T. S., LeDell, K. H., Como, S. K., Borchardt, S. M. and Boxrud, D. T. 2003. Comparison of community- and health-care associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection. JAMA, 290: 2976-84.

Novick, R., Schlievert, P. and Ruzin, A. 2001. Pathogenicity and resistance islands of staphylococci. Microbes and infection, 3: 585-94.

Oliveira, D., Borges, A. and Simões, M. 2018. Staphylococcus aureus Toxins and Their Molecular Activity in Infectious Diseases. Toxins, 10: 252-260.

Paterson, G. K. 2014. The emergence of mecC methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Trends in microbiology, 22(1): 42-7.

Pedraza, D. F., Queiroz, D. and Sales, M. C. 2014. Infectious diseases in Brazilian preschool children assisted in day care centers. Ciênc. Saúde. Colet., 19(2): 511-528.

Pinchuk, I., Beswick, E. and Reyes, V. 2010. Staphylococcal Enterotoxins. Toxins, 2. 2177-97.

Pujol, M., Pena, C., Pallares, R., Ayats, J., Ariza, J. and Gudiol, F. 1994. Risk factors for nosocomial bacteremia due to methicillin-resistantStaphylococcus aureus. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 13(1): 96-102.

Raheema, R., Qaddoori, B. and Al-Asady, M. 2020. Article Review: Virulence Factors of Coagulase-Negative Staphylococci Isolates from Iraqi Patients. International Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology, 7: 363-369.

Rasheed, N., Hussein, N. and Tengku, Z. 2020. Characterization of different virulent factors in methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates recovered from Iraqis and Syrian refugees in Duhok city, Iraq. Plos One, 15: e0237714.

Rebollo-Pérez, J., Ordoñez-Tapia, C., Herazo-Herazo, C. and Reyes-Ramos, N. 2011. Nasal carriage of Panton Valentine leukocidin-positive methicillin-resistant Staphylococcus aureus in healthy preschool Children. Rev. Sal. Púb., 13: 824-832.

Rodrigues, E. A., Margarita, M., Correa, M. M., Ospina, S., Atehortúa, S. L. and Jiménez, J. N. 2014. Differences in Epidemiological and Molecular Characteristics of Nasal Colonization with Staphylococcus aureus (MSSA-MRSA) in Children from a University Hospital and Day Care Centers. PLoS One, 9(7): e1014-17.

Saber, H., Jasni, A., Jamaluddin, T. and Ibrahim, R. 2017. A Review of Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) Types in Coagulase-Negative Staphylococci (CoNS) Species. Malaysian Journal of Medical Sciences, 24: 7-18.

Sahebnasagh, R., Saderi, H. and Owlia, P. 2014. The Prevalence of Resistance to Methicillin in Staphylococcus aureus Strains Isolated from Patients by PCR Method for Detec-tion of mecA and nuc Genes. Iranian journal of public health, 43: 84-92.

Salasia, S. I. O., Tato, S., Sugiyono, N., Ariyanti, D. and Prabawati, F. 2011. Genotypic characterization of Staphylococcus aureus isolated from bovines, humans and food in Indonesia. Journal of Veterinary Science, 12(4): 353-361.

Salgado, W., Herrera, A., Vu, B., Stach, C., Merriman, J., Spaulding, A. and Schlievert, Patrick. 2014. Staphylococcus aureus beta-toxin Production is Common in Strains With the beta-toxin Gene Inactivated by Bacteriophage. The Journal of infectious diseases, 210: 146-153.

Savini, V. 2018. Pet-to-man travelling staphylococci: A world in progress. 1st ed. Academic Press, USA.

Schaumburg, F., Alabi, A., Peters, G. and Becker, K. 2014. New Epidemiology of Staphylococcus aureus infection from Africa. Clinical Microbiology and Infection, 20: 690-9.

Sedighi, I., Moez, H. J. and Alikhani, M. Y. 2011. Nasal carriage of methicillin resistant Staphylococcus aureus and their antibiotic susceptibility patterns in children attending day-care centers. Acta. Microbiol. Immunol. Hung., 38: 2-8.

Shettigar, K. and Murali, T. S. 2020. Virulence factors and clonal diversity of Staphylococcus aureus in colonization and wound infection with emphasis on diabetic foot infection. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 39: 2235-2246.

Solano, C., Echeverz, M. and Lasa, I. 2014. Biofilm dispersion and quorum sensing. Current Opinion in Microbiology, 18: 96-104.

Sultan, F. and Latef, S. 2019. Prevalence of Staphylococcus aureus toxins genes in clinical and food isolates in Iraq. J. Pharm. Sci., 11(2): 636-642.

Tavares, D. A., Sá-Leão, R., Miragaia, M. and Lencastre, H. 2010. Large screening of CA-MRSA among Staphylococcus aureus colonizing healthy young children living in two areas (urban and rural) of Portugal. BMC Infectious Diseases, 10: 110-121.

Tong, S., Davis, J., Eichenberger, E., Holland, T. and Fowler, V. 2015. Staphylococcus aureus Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations and Management. Clinical Microbiology Reviews, 28: 603-661.

Triveni, A. G., Mendem, C., Manjunath, S. and Channappa, G. 2018. Biofilm formation by clinically isolated Staphylococcus Aureus from India. The Journal of Infection in Developing Countries, 12: 1062-1066.

Van, H., Sebastiaan, J., Gosbell, I. and Paterson, D. 2011. Vancomycin Heteroresistance Is Associated with Reduced Mortality in ST239 Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Blood Stream Infections. PloS one. 6: e21217.

Vautor, E., Cockfield, J., Le M., Caroline, L., Yves, C. and Marlène, R. 2009. Difference in virulence between Staphylococcus aureus isolates causing gangrenous mastitis versus subclinical mastitis in a dairy sheep flock. Veterinary research, 40: 56-62.

Verdon, J., Girardin, N., Lacombe, C. and Hechard, Y. 2009. δ-Hemolysin, an update on a membrane-interacting peptide. Peptides, 30: 817-23.

Vieira, M. A., Minamisava, R., Pessoa-Júnior, V. And Andrade, A. 2014. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus nasal carriage in neonates and children attending a pediatric outpatient clinics in Brazil. Braz. J. Infect. Dis., 18(1): 42-47.

Wang, W., Sun, H. and Tian, J. 2014. Retrospective studies on pediatric infective endocarditis over 40 years in a mid-west area of China. Cardiology, 128(2): 88-91.

Wertheim, H. F. L., Walsh, E., Choudhurry, R., Melles, D. C., Boelens, H. A. M., Miajlovic, H. and van Belkum, A. 2008. Key role for clumping factor B in Staphylococcus aureus nasal colonization of humans. PLoS medicine, 5(1): e17.

Wielders, C., Fluit, A. C., Brisse, S., Verhoef, J. and Schmitz, F. 2002. mecA Gene Is Widely Disseminated in *Staphylococcus aureus* Population. Journal of clinical microbiology, 40: 3970-5.

Winn, W., Allen, S., Janda, W., Koneman, E., Procop, G., Schreckenberger, P. and Woods, G. 2006. Koneman's Color Atlas And Textbook Of Diagnostic Microbiology. 1535 p. Lippincott Williams, Wilkins: Baltimore.

Wu, K., Zhang, K., McClure, J., Zhang, J., Schrenzel, J., Francois, P., Harbarth, S. and Conly, J. 2013. A correlative analysis of epidemiologic and molecular characteristics of methicillin resistant Staphylococcus aureus clones from diverse geographic locations with virulence measured by a Caenorhabditis elegans host model. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 32: 33-42.

Xu, S. X. and Cormick, J. K. 2012. Staphylococcal superantigens in colonization and disease. Front. Cell. Infect. Microbiol., 2(52): 1-11.

Yan, Z. Q., Shen, D. X, Luo, Y. P. and Cao, J. R. 2008. Multiplex PCR for detection of lukS/ F-PV and mecA genes in Staphylococcus aureus isolates. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 8: 255-259.

Zubair, S., Jores-Fischer, A. and Jores, J. 2015. Complete genome sequence of Staphylococcus aureus, strain ILRI_Eymole1/1, isolated from a Kenyan dromedary camel. Standards in Genomic Sciences, 10: 98-106.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Hanaa AHMED ESSA ESSA

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2020-Halen
Lisans	Tikrit Üniversitesi Bilim Fakültesi Biyoloji Bölümü	2006-2007