T.C.
ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YANIK VE SOLUNUM SISTEMI ENFEKSIYONLARINDAN IZOLE EDİLEN STAPHYLOCOCCUS AUREUS'TAKI İKİ VIRÜLANS FAKTÖR GENİNİN MOLEKÜLER ÇALIŞMASI

MUTHANNA SHAREEF TAHIBUL AL RADHI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2021

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Muthanna Shareef Tahibul AL RADHI tarafından hazırlanan "**Yanık ve Solunum Sistemi Enfeksiyonlarından İzole Edilen Staphylococcusaureus'taki İki Virülans Faktör Geninin Moleküler Çalışması"** adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN

Jüri Üyeleri:

Başkan: Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Fakültesi,
Biyoloji Bölümü, Botanik ABD

Doç. Dr. Mine TÜRKTAŞ ERKEN
Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi,
Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji ABD

Dr. Öğr. Üyesi Ebru GÜL
Çankırı Karatekin Üniversitesi Orman Fakültesi,
Orman Mühendisliği Bölümü, Toprak İlmi ve Ekoloji ABD

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL
Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum **"Yanık ve Solunum Sistemi Enfeksiyonlarından İzole Edilen Staphylococcusaureus'taki İki Virülans Faktör Geninin Moleküler Çalışması"** 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. (12/02/2021).

MUTHANNA SHAREEF TAHIBUL AL RADHI

ÖZET

Yanık ve Solunum Sistemi Enfeksiyonlarindan İzole Edilen Staphylococcus aureus'taki İki Virülans Faktör Geninin Moleküler Çalışması

Muthanna Shareef Tahibul AL RADHI

Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dali

Danişman: Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Eş Danışman: Doç. Dr. Abbas Dakheel MUTAR

Bu çalışma, aşağıdakileri izole etmeyi ve tanımlamayı amaçlamaktadır: *S.aureus*'un yanık ve bademcik iltihabı örneklerinden toplanan klinik izolatları, *S. aureus* genlerinin polimeraz zincir reaksiyon tekniği (PCR) ile araştırılması, S. aureus'un kümelenme faktörü A (clfA) ve fibronektin bağlayıcı protein A (fnbA) genlerinin genetik polimorfizmlerinin belirlenmesi. Gözlemlenen varyantlar, ilgili genomik DNA dizileri içindeki konumlarına göre lokalize edilmiştir. Bu çalışma, Irak'ın Thi-Qar eyaletindeki Al-Hussein Eğitim Hastanesinde Şubat-Temmuz 2020 döneminde yanık hastalarından ve bademcik iltihabı olan hastalardan alınan sürüntülerden toplanan 80 sürüntüyü içermektedir. *Staphylococci*'nin tam izolatları mikroskobik, morfolojik ve biyokimyasal testlerle tanımlanır. Mannitol tuzlu agarda sadece 65 izolat (% 81,25) pozitif üreme gösterdi ve *S. aureus* tanısı aldı. Sonuçlar, *S. aureus* oranının yüksek olduğunu ve en yüksek sonuçların (≤ 10 yaş) yaş grubunda kayıt altına alındığını açıklarken, yanık ve bademcik iltihabı örneklerinde en düşük sıklığın 2 (% 2,5) ile (51-60 yaş) yaş grubundaki hastalarda görüldüğü tespit edilmiştir. Moleküler tanı sonuçları, *S. aureus*'un % 81.54'ünün A genine sahip olduğunu, fnb geninin prevalansının ise % 18.46 olduğunu göstermiştir. Clf A ve fnb genlerinin yüzdesi, izolasyon bölgesi ile ilişkili olarak farklılık gösterir; bu, izolatların % 82.86'sına bölünmüştür ve izolatların % 80'i yanık ve bademcik iltihabı örneklerinin clf A geni için pozitif sonuçlar verirken, fnb geni % 20 ve 16.67'ye bölünmüştür. Yanıktan 7/35, yanık ve bademcik iltihabı örneklerinden 5 / 30'a bölünmüştür. Mevcut sonuçlar, clfA geninin büyütülmüş 288 bp fragmanında saptanabilir herhangi bir nükleik asit varyasyonunun olmadığını göstermektedir. Bununla birlikte, fnbA geninde birkaç mutasyon tanımlanmaktadır. Hem üretilen clfR tabanlı hem de fnbA tabanlı filogenetik ağaçlar, incelenen her iki numuneye göre doğru konumlandırmayı göstermektedir. Bu kapsamlı ağaçlar, belirlenen mutasyonları ilgili organizmalarla paylaştırmak için yapılmıştır. Halihazırda inşa edilen filogenetik*, S. aureus* örneklerinin doğru konumlandırılması ve ilgili dizileri açısından bilgilendirici kapsamlı veriler sağlar. Bu nedenle, hem üretilen clfA tabanlı hem de fnbA tabanlı filogenetik ağaçlar, incelenen örnekler arasındaki filogenetik ilişkiler açısından doğrulanmış bir kimlik sağlar.

2021, 79 sayfa
Anahtar Kelimeler: *S. aureus*, clfA geni, DNA dizileme, PCR tekniği

ABSTRACT

Master Thesis

Molecular Study of Two Virulence Factors Genes in *Staphylococcus Aureus* Isolated From Burn and Respiratory System Infections

Muthanna Shareef Tahibul AL RADHI

Çankırı Karatekin Üniversity, Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Melda DÖLARSLAN
Co-Supervisor: Assoc. Prof. Abbas Dakheel MUTAR

The present study is aimed at isolating and identifying: the clinical isolates *S. aureus* collectng from burn and tonsillitis samples, investigating two virulence factors genes of *S.aureus* by polymerase chain reaction technique (PCR) technique, identifying the genetic polymorphisms of the clumping factor A (clfA) and fibronectin-binding protein A (fnbA) genes in the of *S. aureus*. The observed variants have been localized according to their positions within the referring genomic DNA sequences. The current study includes 80 swabs that are collected from burn patients and swabs extracting from patients with tonsillitis during the period from February to July 2020 at Al-Hussein Teaching Hospital in Thi-Qar province, Iraq. The complete isolates of Staphylococci isidentified by microscopic, morphological, and biochemical tests. Only 65 isolates (81.25 %) have showed positive growth on mannitol salt agar and diagnosed as *S. aureus*. The results explain a high rate of *S. aureus* and they are registered in the age group of (≤ 10 years), while the lowest frequency for burn and tonsillitis samples has observed in (51-60 years) age group of with 2 (2.5 %) patients. The results of molecular diagnosis have displayed that 81.54 % of *S. aureus* isolates and have clf A gene, while the prevalence of fnb gene is 18.46 %. The percentage of clf A and fnb genes relates with site of isolation is differenced, which has been divided to 82.86 % and 80 % of isolates recovers from burn and tonsillitis samples gaving positive results for clf A gene, while fnb gene present in 20 % and 16.67 %, which divides to 7/35 from burn and 5/30 from burn and tonsillitis samples. The current results indicate the absence of any detectable nucleic acid variations in the amplified 288 bp fragment of the clfA gene. Meanwhile, several mutations are identified in the fnbA gene. Both generated clfR-based and fnbA-based phylogenetic trees indicate accurate positioning with regard to both investigated samples. These comprehensive trees have been constructed to allocate the identified mutations with their related organisms. The currently constructed phylogenetic provides informative comprehensive data, in terms of the accurate positioning of *S. aureus* samples and their relative sequences. Therefore, both generated clfA-based and fnbA-based phylogenetic trees provide a confirmed identity with respect to the phylogenetic relationships among the investigated samples.

2021, 79 pages
Keywords: *S. aureus*, clfA gene, DNA sequencing, PCR technique

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Muthanna Shareef Tahibul AL RADHI tarafından hazırlanan “Yanık ve Solunum Sistemi Enfeksiyonlarından İzole Edilen *Staphylococcus aureus*'taki İki Virülans Faktör Geninin Moleküler Çalışması” adlı bu çalışma 2019-2021 yılları arasında Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne ‘‘Yüksek Lisans Tezi’’ olarak sunulmuştur. Yüksek Lisans çalışmamın her safhasında yakın ilgi ve önerileri ile beni yönlendiren, her türlü yardımını esirgemeyen, her zaman destekleyen ve inanılmaz bir anlayış gösteren değerli hocam Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN ve Doç. Dr. Abbas Dakheel MUTAR. ve çalışmanın yönlendirilmesinde ve yürütülmesinde yol gösteren herkese sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca emeği geçen üniversitemizin değerli öğretim üyeleri Dr. Melda DÖLARSLAN., kendisi ile çalışma fırsatını bulduğum, bilgi ve tecrübeleriyle eğitimime ilk temelleri atan saygıdeğer hocam Dr. Mine TÜRKTAŞ ERKEN ve uzmanlık tezimde büyük emeği ve katkısı olan danışmanım ;Dr. Melda DÖLARSLAN., çalışmalarımda verdikleri desteklerden ötürü teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her türlü fedakârlığı yapan, attığım her adımda beni sonuna kadar destekleyen, bana inanan, güvenen, hayatımın vazgeçilmezleri olan canım anneme v ebabama, en iyi dostlarım olan değerli abime ve kız kardeşlerime; Sonsuz teşekkür ederim

Muthanna Shareef Tahibul AL RADHI
Şubat 2021, Çankırı

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iii**
ABSTRACT ..... **iv**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **v**
İÇİNDEKİLER ..... **vi**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **viii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ix**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **x**
1. GİRİŞ **11**
2. KAYNAK ÖZETLERİ **13**
2.1. Staphylococcus aureus **13**
2.2. *S. aureus'*un özellikleri **14**
2.3. S. aureus'un Patogenezi **14**
2.4. Yanıklar ve *S. aureus* **16**
2.5. Bademcik Iltihabı ve *S. Aureus* **19**
2.6. S. Aureus'un Virülans Faktörleri **21**
2.7. Biyofilm Oluşumu **23**
2.8. fnbA ve ClfA Genlerinin Moleküler Tespiti **24**
2.8.1 Bulaşma **26**
2.8.2 Teşhis **27**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **28**
3.1. Materyal **28**
3.1.1 Araçlar **28**
3.1.1 Kimyasal malzemeler **28**
3.1.2 Primerler **29**
3.1.1. Kültür Ortamı **30**
3.1.2. Kitler **30**
3.2. Yöntemler **30**
3.2.1 Ortam **30**
3.2.1.1. Beyin kalpiınfüzyon agarı **30**
3.2.2 Boyalar, Reaktifler, Çözeltiler **31**
3.3. Numunelerin Toplanması **32**
3.3.1. İzolasyon **32**
3.3.2 izolatların tanımlanması **32**
3.3.1.1. Mikroskobik Tahlil **32**
3.4. Moleküler Teşhis **34**
3.4.1 Genomik DNA'nın ekstraksiyonu **34**
3.4.2. Hedef Genlerin PCR ile Tespiti **36**
5 dk **36**
3.4.3. Agaroz Jel Elektroforezi **36**
3.4.4. DNA Dizileme **37**
3.5. İstatistiksel Analiz **38**
4. BULGULAR **39**
4.1. Bakteriyel İzolasyon ve Tanımlama **39**
4.2. Mikroskobik ve biyokimyasal tanı **40**
4.3. S. aureus'un yaşa göre dağılımı **41**

4.4. Moleküler Teşhis **42**
4.5. Moleküler Teşhis **43**
4.5.1. Clf A geni **43**
4.5.2. fnbA geni **47**
4.5.3. Gen bankasına kayıt **53**
5. TARTIŞMA **54**
5.4. Yanık ve bademcik iltihabı örneklerinden izole edilen *S. aureus* oluşumu **54**
5.5. *S. aureus'* un yaşa göre dağılımı **55**
5.6. Moleküler Teşhis **56**
5.7. DNA Dizileme **58**
6. Sonuç gve öneriler **63**
7. KAYNAKLAR **64**
ÖZGEÇMİŞ **75**

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklamalar
'	Dakika
-	Eksi
%	Yüzde
/	Taksim
+	Artı
°	Derece
µg	mili gram
I-	Iodide
Kg	Kilo Gram
m^2	Metrekare
ml	milli litter
mm	milimetre
ng	Nano gram
ºC	Santigrat Derece
OH	Fenolik Hidroksil
WHO	World Health Organization

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Yanık örneklerinden izole edilen bakteri kültürünün yüzdesi.....39
Şekil 4.2. Bademcik iltihabı örneklerinden izole edilen bakteri kültürünün yüzdesi40
Şekil 4.3. *S. aureus'* un API staph ile tanımlanması.....41
Şekil 4.4. clf A gen amplifikasyonunun agaroz jel elektroforezi, burada M: merdiven, 1-9: pozitif sonuçlar 43
Şekil 4.5. nb A gen amplifikasyonunun agaroz jel elektroforezi, burada M: ladder, 1-9: pozitif sonuçlar.....43
Şekil 4.6. *S. aureus* genomik sekansları (GenBankaccno. CP038229.1) içindeki clfA geninin bir bölümünü kısmen kaplayan geri alınan 288 bp amplikonun tam konumu. Mavi ok bu amplikonun başlangıç noktasına, kırmızı ok ise bitiş noktasına işaret eder 44
Şekil 4.7. ClfA DNA dizilerinin 288 bp amplikonlarının karşılık gelen referans dizileri ile beş örneğin DNA dizileri hizalaması. "Ref" sembolü NCBI referans sırasına, "C" harflerine, ardından gelen bir sayı, numune numarasına karşılık gelir.....46
Şekil 4.8. Beş *S. aureus* yerel örneğinin clfA fragmanının genetik varyantlarının kapsamlı filogenetik ağacı. Camgöbeği üçgen rengi, analiz edilen varyantlara atıfta bulunurken, kırmızı renk, dış grup türlerinin ilgili referans dizilerine atıfta bulunur. Bahsedile.....47
Şekil 4.9. *S. aureus'un* genomik sekansları (GenBank erişim no. CP038183.1) içinde fnbA geninin bir bölümünü kısmen kaplayan geri alınan 198 bp amplikonun tam konumu. Mavi ok bu amplikonun başlangıç noktasına, kırmızı ok ise bitiş noktasına işaret eder.....48
Şekil 4.10. Beş örneğin DNA dizileri, fnb A genetik DNA dizilerinin 198 bp amplikonlarının karşılık gelen referans dizileriyle hizalaması. "Ref" sembolü NCBI referans sırasına, "D" harflerine ve ardından örnek numarasına atıfta bulunan bir numaraya karşılık gelmek 49
Şekil 4.11. fnbA geninin hedeflenen 198 bp amplikonlarının DNA kromatogramı içinde saptanan mutasyonların modeli. Tanımlanan ikame mutasyonları, PCR amplikonlarındaki konumlarına göre vurgulanır. ">" Sembolü, "ikame" mutasyonunu ifade eder.....50
Şekil 4.12. S. aureus örneklerinin araştırılan örneklerinde saptanan varyasyonların amino asit kalıntıları hizalaması. 50
Şekil 4.13. Beş *S. aureus* yerel örneğinin fnbA fragmanının genetik varyantlarının kapsamlı filogenetik ağacı. Camgöbeği üçgen rengi analiz edilen varyantlara atıfta bulunurken, diğer renkler NCBI biriktirilmiş ilgili türlere atıfta bulunur. Bahsedilen tüm numarala 52

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Kullanılan aletler ve imalatçıları 28
Çizelge 3.2. Kimyasal malzemeler 29
Çizelge 3.3. Gen amplifikasyonu için kullanılan primer dizileri.....29
Çizelge 3.4. Kültür ortamı 30
Çizelge 3.5. Çalışmada kullanılan kitler.....30
Çizelge 3.6. clfA geni programı (Tristan ve diğerleri, 2003) 36
Çizelge 3.7.fnb A geninin programı (Abraham ve Jefferson, 2010) 36
Çizelge 4.1. *S. aureus'* un yanık ve tonsillitnumunelerinde dağılımı 40
Çizelge 4.2. *S. aureus'* un yaşa göre dağılımı (suşlar = 80).....41
Çizelge 4.3. *S. aureus* izolatlarında clf A ve fnb genlerinin dağılımı.....42
Çizelge 4.4. *S. aureus* izolatlarındaki toplam gen yüzdesi, (izolatlar = 65) 42
Çizelge 4.5. *S. aureus* genomik dizileri (GenBankacc. No. CP038229.1) içinde clfA'nın bir bölümünü amplifiye etmek için kullanılan 288 bp PCR amplikonlarının konumu ve uzunluğu. Gri renkli diziler, sırasıyla ters ve ileri primerlerin pozisyonuna atıfta bulundu 45
Çizelge 4.6. *S. aureus'un* genomik sekansları (GenBankacc. No. CP038183.1) içindeki fnbA geninin bir kısmını amplifiye etmek için kullanılan 198 bp PCR amplikonlarının konumu ve uzunluğu. Gri renkli diziler, sırasıyla ters ve ileri primerlerin pozisyonuna atıfta bul 48
Çizelge 4.7. NCBI'ya atıfta bulunan dizilere (GenBank erişim no. CP038183.1) kıyasla fnbA geninin 198 bp amplikonlarında gözlemlenen SNP'lerin modeli."D" sembolü ve ardından incelenen numune numaralarına atıfta bulunan bir numara ile satır başında yer almaktadır 51

1. GİRİŞ

S. aureus, ilk önemli patojenlerden biridir ve aynı zamanda hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyonların en önemli nedenidir ve ciddi sonuçlar doğurmaktadır (Boswihi ve Udo, 2018).Ve bu, yaygın olarak reçete edilen antimikrobiyal ajanlara karşı direnç geliştirmiştir (Goudarzi ve diğerleri, 2016).Ayrıca, *S. aureus* suşları halk sağlığı için giderek artan bir tehlikeye sahiptir ve hastanelerde salgınlara neden olabilir (Omidi ve diğerleri, 2020).

S. aureusis'in bulaşıcı potansiyeli, çok sayıda hücre ile ilişkili ve hücre dışı virülans faktörleri tarafından belirlenir, bunların bazıları yapışma sürecinde ve diğerleri de bakteri istilasında rol oynar (Holban ve ark., 2013).*S. aureus*, enterotoksinler ve yüzeye maruz kalan virülans faktörleri (fibrinojen, protein A, fibronektin bağlayıcı proteinler) gibi salgılanmış virülans faktörleri üretilebilir (Zhang ve diğerleri, 2016). *S. aureus*, önemli virülans faktörleri olarak kabul edilen ve bakterilerin konakçı hücrelere bağlanmasına, konağı istila etmesine ve bağışıklık kaçırmasına yardımcı olan çok sayıda hücre dışı protein üretir (Ghasemian ve diğerleri, 2015).

S. aureus'un clfA proteinleri, fibrinojeni *S. aureus* hücre duvarına bağlama yeteneklerinden dolayı konakçı immün yanıtlarından kaçınmada rol oynar, böylece patojene opsoninlerin birikmesini veya bunlara erişimini engeller (Higgins ve diğerleri, 2006). Biyofilm oluşumu, konakçı hücrelerin bağlanmasında, kolonizasyonda ve invazyonda önemli bir virülans faktörü olarak kabul edilen fibronektin bağlayıcı proteinler (fnbA) gibi farklı proteinlerle ilişkili insanlarda kronik ve tekrarlayan enfeksiyonlarla sıklıkla ilişkilendirilmiştir (Aslantaş ve Demir, 2016).

Çalışmanın Amacı:

Hastane enfeksiyonlarında, özellikle yanık ünitelerinde ve solunum sistemi ünitelerinde *S. aureus* mortalitesine ilişkin artan kanıtlar nedeniyle, bu çalışmada bu bakterinin patogenezi ile ilgili iki virülans faktörünün aşağıdaki adımlar kullanılarak tespit edilmesi amaçlanmıştır:

1- *S. aureus*'un yanık hastalarından ve solunum yolu enfeksiyonlarından izole edilmesi ve teşhisi.

2- *S. aureus* izolatlarında clf A ve fnbA genlerinin moleküler tespitinin kullanılması

3- *S. aureus*'ta her iki genin genetik polimorfizmlerinin belirlenmesi ve gözlemlenen varyantların, ilgili genomik DNA dizileri içindeki konumlarına göre lokalize edilmesi.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1.Staphylococcus aureus

Stafilokoklar çok yaygın bakterilerdir (Boswihi&Udo, 2018); *S. aureus*, çok sayıda enfeksiyona neden olma kabiliyeti ve çeşitli çevresel koşullara uyum sağlama kapasitesi nedeniyle büyük önem taşımaktadır. Kan dolaşımını, yüzeysel deri enfeksiyonlarını ve yumuşak dokuları ve alt solunum yollarını etkileyebilir ve santral yolla ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu gibi tıbbi cihazlarla ilgili enfeksiyonların yanı sıra endokardit, pnömoni gibi bazı ciddi derin enfeksiyonlara neden olabilir. Ve osteomiyelit; ayrıca stafilokok enfeksiyonu, bakteriyel bir biyofilm oluşumu ile ilişkilidir (Keren ve diğerleri, 2004; Lindsay ve Holden, 2004; Schito, 2006).Son zamanlarda, organ nakli, kemik iliği nakli ve invaziv tanı testlerinin gelişmesiyle birlikte bakteremi ve septisemi gibi kan dolaşımı enfeksiyonları artmaktadır (De Rosa ve ark., 2016).

S. aureuslar çeşitli hayvanların derisinde ve mukozasında bulunur ve ayrıca farklı ortamlarda, özellikle insanlarda, hayvanlarda ve yiyeceklerde bulunur (Mathanraj ve diğerleri, 2009). *S. aureus*, asemptomatik olarak kolonize olmaktadır, bireylerin yaklaşık% 20'si S. *aureus'*un kalıcı nazal taşıyıcılarıdır ve yaklaşık % 30'u aralıklı taşıyıcılardır buna karşın insaların yaklaşık % 50'si taşıyıcı değildir (Wertheim ve diğerleri, 2005; Gorwitz et al. al., 2008). Öyle ki, bu bakteri insan için en başarılı fırsatçı bakterilerden biridir çünkü kendine özgü bir doğası vardır ve çevreye uyum sağlama ve hayatta kalma kapasitesine sahiptir (De vd., 2007).

Bu nozokomiyal patojenin başarılı bir şekilde yaygınlaşmasına katkıda bulunan en önemli faktörün, yeni antimikrobiyal ajanlara direnç kazanmadaki olağanüstü yeteneği olduğu belirtilmiştir (Nezhad ve ark., 2017).

Staphylococcusaureus şu şekilde sınıflandırılmıştır:
Alem:Bakteriler
Şube: Firmicutes

Sınıf: Bacilli
Takım: Bacillales
Aile: Staphylococcaceae
Cins: Staphylococcus
Tür: Staphylococcusaureus (George ve diğerleri, 2004).

2.2. *S. aureus'*un özellikleri

Stafilokoklar gram-pozitif, küresel hücrelerdir, yaklaşık 1 µm çapında düzensiz grapelik kümeler halinde düzenlenmiştir. Sıvı kültürlerde tek kok, çiftler, tetradlar ve zincirler halinde görülmekltedir. Stafilokoklar hareketsizdir ve spor oluşturmazlar. Stafilokoklar, aspenisilin gibi ilaçların etkisi altında parçalanır. Stafilokoklar, onları streptokoklardan ayıran katalaz üretir ve manikarbohidratları yavaşça fermente ederek laktik asit üretir ancak gaz üretmez.En hızlı şekilde 37° C'de büyürler ancak pigmenti en iyi oda sıcaklığında (20–25°C) oluştururlar (Argudin ve diğerleri, 2010; Carrollet diğerleri, 2016).

Bu bakterinin bulaşması, kontamine ellere (veya diğer vücut kısımlarına) dokunmak ve damlacık iletimi gibi doğrudan temas yoluyla ve hastanede veya diğer ortamlarda kirli havanın solunması gibi dolaylı temas yoluyla kolayca gerçekleşir (Navidinia et al. ., 2015).

2.3. S. aureus'un Patogenezi

Çoğu durumda, *S. aureus* enfeksiyonu, organizmaya dokulara veya kan dolaşımına doğrudan erişim sağlayan yaralar, travma veya cerrahi müdahale yoluyla deri veya mukozal bariyerlerdeki bozulmalardan sonra ortaya çıkar (Foster, 2009). *S. aureus*, farklı mikro ortamlarda hayatta kalmak ve konakçı kolonizasyonu (Krishna& Miller, 2012) veya fagositik alım ve öldürmenin engellenmesi (Kim ve diğerleri, 2012), kan dolaşımında yayılma ve apse oluşumu gibi istila sırasında karşılaşmak için özel olarak

tasarlanmış farklı mekanizmalar kullanır (Cheng ve diğerleri, 2011) biyofilm oluşumu bunların başında gelir (Harro ve diğerleri, 2010).

*S. aureus'*un patojenitesi, adhezyonunu, kolonizasyonunu, memeli hücrelerinin istilasını, bağışıklık savunma mekanizmasından kaçmasını ve konakçı ortamda hayatta kalmasını mümkün kılan çok çeşitli virülans faktörlerinin varlığıyla ilişkilendirilmiştir (Memon ve diğerleri, 2013). Bu virülans faktörleri şunlardır: salgılanan enzimler, toksinler, antifagositikkapsülerpolisakkaritler ve adezyonlar (Lowy, 2011). Bunlar, yüzeysel cilt lezyonlarından ölümcül enfeksiyonlara kadar çeşitlenen çok sayıda sonuca yol açmaktadır. Genellikle, pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları, osteomiyelit, endokardit, hatta sepsis, yara enfeksiyonları gibi durumlar görülür ve çok nadir durumlarda S. aureus menenjite neden olur. Akut hastalığa ek olarak, *S. aureus*, çoğu bu patojenin tıbbi cihazlara yapışma ve biyofilm oluşturma yeteneğinden kaynaklanan kronik enfeksiyonlara neden olabilir (Foster ve diğerleri, 2014).

Bu tür enfeksiyonlar, hem hastanelerde hem de toplumda önemli ölçüde morbidite ve mortalite ile ilişkilendirilmiştir ve bu nedenle büyük bir küresel sağlık sorunu oluşturmaktadır (Kouyos ve diğerleri, 2013).Virülans faktörleri bağışıklık sisteminden korunmak için tasarlanmıştır ve şunları içermektedir: bakterileri antikorlardan ve doğuştan gelen bağışıklık bileşenlerinden koruyan bir anti-opsonik kapsül dahil, nötrofilkemotaksisinin protein inhibitörlerive tamamlayıcı kaskad, stafilokokal protein A gibi immünoglobulin bağlayıcı proteinler ve nötrofillerinfagozomu içinde hayatta kalmasına yardımcı olan enzimler (Foster, 2005).

S. aureus bakteremi vakaların (% 30-40) endokardit dahil ciddi zorluklarıyla ilişkilidir ve daha da önemlisi, MRSA bakteremisi olan hastaların Metisilineduyarlı suşların neden olduğu enfeksiyonlu hastalara göre daha yüksek morbidite ve mortalite oranlarına sahip olduğu bilinmektedir (Snyder ve al., 2010).

2.4. Yanıklar ve *S. aureus*

Yanık yaralanmaları, özellikle geniş alan yanıklarında ve yaşlı hastalarda görece yüksek ölüm oranıyla tedavi edilmesi gereken karmaşık yaralardır; Önemli doku hasarı ve aşırı sıvı kaybı cildin hayati fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilir (Jackson ve diğerleri, 2014).

Yanıklar, en yaygın ve yıkıcı travma biçimlerinden biridir. Ciddi termal yaralanması olan hastalar, morbidite ve mortaliteyi en aza indirmek için acil özel bakıma ihtiyaç duymaktadır. Birleşik Devletler'deki Ulusal Yaralanma Önleme ve Kontrol Merkezi'nden elde edilen veriler, her yıl yaklaşık 2 milyon yangının rapor edildiğini ve bunun 1,2 milyonunun insanlarda yanık yaralanmasıyla sonuçlandığını göstermektedir (Roth ve Hughes, 2004).Yanık yaralanması, özellikle 14 yaşın altındaki çocuklarda yaralanma ölümlerinin ana nedenlerinden biridir (ABA, 2000).

Ciddi termal yaralanma, vücudun geniş bölgelerinde cilt yüzeyinin tamamen kaybolmasına neden olur. Mikrobiyal konakçı istilasına karşı bir bariyer olarak cildin önemi nedeniyle, sonraki yanık yarası enfeksiyonu ve sistemik enfeksiyon riskinin yanık yaralanmasının boyutu ile ilişkili olması şaşırtıcı değildir (Santaniello ve diğerleri, 2004).

Biyofilmler, kendiliğinden salgılanan hücre dışı bir polisakkarit matrisi veya balçıkta gömülü olan, yüzeye bağlı mikroorganizma agregalarından oluşan karmaşık topluluklardır. Çok çeşitli doğal ve yapay ortamlarda bulunurlar ve kurucu mikrobiyal hücrelerine çok sayıda korumalı dinamik mikro ortam sağlarlar (Stoodley ve diğerleri, 2002). Biyofilmler olgunlaştıktan sonra, antimikrobiyal ajanlara ve konakçı bağışıklık sistemine karşı etkili bariyerler olarak hareket ederek, biyofilm oluşumu bölgesinde kalıcı kolonizasyon ve/ veya enfeksiyonla sonuçlanır (Edwards& Harding, 2004).

Bakteriler, yanık yaralanmasından sonra açık cilt yaralarını hızla kolonize eder. Yanık yarasını kolonize eden mikroorganizmalar, hastanın endojen derisinden ve

gastrointestinal ve solunum florasından kaynaklanır (Barret&Herndon, 2003). Mikroorganizmalar ayrıca kontamine dış çevre yüzeyleri, su, fomitler, hava ve sağlık bakım çalışanlarının kirli elleriyle temas yoluyla hastanın cilt yüzeyine aktarılabilir (Watts ve diğerleri, 2001).

S. aureus ayrıca, koagülaz, protein A, lökosidinler, hemolizinler ve süperantijenler dahil olmak üzere konak dokulara yapışmayı, bağışıklık sisteminden kaçmayı ve konakçı hücrelerin ve dokuların yok edilmesini kolaylaştıran çeşitli virülans faktörleri dizisi olmuştur (Foster, 2004).

Yanık yarasındaki bir enfeksiyon, her yaşta ve hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde hala en önemli sakatlık ve ölüm nedeni olarak kabul edilmektedir (Pasalaret diğerleri, 2013). İlk resüsitasyon aşamasından sonra yanık hastaları arasındaki ölüm oranlarının yaklaşık% 50-75'i çeşitli bulaşıcı komplikasyonlara bağlanabilir (Raz-Pasteuret diğerleri, 2013).

Yanık hastaları çeşitli nedenlerden dolayı yüksek enfeksiyon riski altındadır. Örneğin, kolayca temin edilebilen vücut yüzeyi, yanıkların bağışıklığı bozucu etkileri, invazivdiyagnostik, terapötik prosedürler ve uzun süreli hastanede kalış. Hastanın türü ve sayısı, enzim / toksin üretimi ve organizmaların motilitesi gibi mikrobiyal faktörlerle bağlantılı yanık derinliği, yaralanma derecesi ve yanık derinliği gibi hasta faktörleri invaziv enfeksiyonun belirleyicileridir. Yaranın yüzeysel bakteriyel kontaminasyonunedeniyle, bu hastalarda enfeksiyonkolaylıkla invaziv hale gelebilir. Bakteriyel yara kontaminasyonunun derecesi, sepsis riski ile doğrudan bir ilişkiye sahiptir (Rafla ve Tredget, 2011).

Yanık yaralanması, hastaları enfeksiyona yatkın hale getiren bir bağışıklık sistemi düzensizliği durumuna neden olur. En belirgin etki, doğal kutanöz bariyerin kaybıdır. Bunun ötesinde, inatçı ve adaptif immün yanıtların düzensizliği ile sonuçlanan pro ve antiinflamatuar sinyallerin daha karmaşık bir etkileşimi vardır (Neelyet ark., 2014).

Bir yanık yaralanmasından sonra hastaların çoğu, morbidite ve mortaliteyle mücadelede en yaygın zorluk olan bakteriyel enfeksiyonun ciddi sonuçlarından muzdariptir. Yanık yaralanmasıyla deri bariyerinin yırtılması, lokal ve sistemik bağışıklık tepkilerine yol açar ve mikroorganizma enfeksiyonu komplikasyonunu paylaşır (Ledereret diğerleri, 1999).

Deri, mikrobiyal istilaya karşı ilk savunma engelidir ve ayrıca yanık olduğunda enfeksiyona daha yatkın hale gelir. Staphylococcusspp., Enterococcusspp., Pseudomonas spp., Acinetobacterspp. Ve mantarlar (Norbury ve diğerleri, 2016) dahil olmak üzere birçok patojen yanık yarası enfeksiyonlarından sorumludur. Bununla birlikte, *S. aureus* yanık merkezlerinde enfeksiyonların önde gelen nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir (Chen ve diğerleri, 2012). Yüksek oranda izole edilmiş S. aureus, yanık merkezlerinde yüksek bir bulaşıcı seviyeye karşılık gelir (Norbury ve diğerleri, 2016). Dünyada her yıl milyonlarca insan yanmaktadır (Chen ve diğerleri, 2018).

Yanık yaralanmalarının en genel iki enfeksiyonu, çoklu ilaca dirençli olduğu için tedavisi zorlaşan Pseudomonas areuginosa ve *S. aureus'* tur. Clark ve ark., (2003) Gram-negatif bakterilerin, büyük virülans faktörlerine ve bu çalışmada gördüğümüz gibi antimikrobiyal dirençli bir özelliğe sahip olması nedeniyle en yaygın invaziv enfeksiyon ajanı olarak kabul edildiğini bulmuştur. Çalışma Bağdat / Irak'ta yapılırken, yanık yaralanmalarından en sık kültürlenen mikroorganizmaların Pseudomonas aeruginosa olduğunu, ardından K. pneumoniae ve ardından *S. aureus* olduğunu, Acinetobacterbaumannii' nin ise net bir yüzdeye sahip olduğunu göstermektedir (Jasemet al., 2018). Ayrıca Pasalar vd., (2013) bildirmektedir. *S. aureus*, bakteriyel yanık yarası enfeksiyonlarının baskın mikroplarıdır.Genel olarak, şiddetli yanma yaralanmalarında yaygın ölüm nedeni sepsis veya inhalasyon yaralanmasının komplikasyonlarıdır. Yanık yaralanmaları, yanık yaralanması ve sepsisten sonra monosit / makrofajların azalmasıyla karakterize edilen bir immünosupresyon olarak ciddi sonuçlara yol açan antiinflamatuar tepkiye neden olur (Church ve ark., 2006).Ancak Prostaglandin E2'nin (PGE2) inhibe edici makrofajlar tarafından salınmasındaki artış, yanık hastalarının immünosupresyonunda dikkate değer bir rol

oynar (Church ve diğerleri, 2006), ancak yanık hasarını takip eden ve immünosupresyona yol açan gerçek olaylar bilinmemektedir.

Yanık cilt hasarı, mikroorganizmaya süpürasyona neden olan zengin bir besin ortamı sağlayan zengin bir avasküler nekrotik doku ortamı sağlar. Bazen, yara izlerinin oluşumu, bağışıklık hücrelerinin yanmış alana göçünü azaltmaya ve konakçı tarafından üretilen antimikrobiyal ajanların yanmış alana dağılımını sınırlandırmaya yol açan yerel konakçı bağışıklık tepkilerini bozmaya yol açar (Nasseret diğerleri, 2003).

S. aureus' in yanık merkezlerinin ortaya çıkması ve bulaşması, uzun süreli hastanede kalış, bakteremi veya sepsis, hatta ölüm gibi daha fazla önleme ve tedavi gerektiren bazı kötü sonuçlara neden olur (Issler-Fisher vd., 2015).Mikroorganizma enfeksiyonunun başarılı klinik tedavisi için temel görev, bu enfekte edici suşların özelliklerinin ve antibiyotik duyarlılık profillerinin bilgisine bağlıdır. Sonuç olarak, yanık merkezinde farklı suşların antibiyotik duyarlılık modellerinin belirlenmesi daha uygun tedaviler ve daha düşük maliyetler sağlar. Antibiyotik direncinin yanı sıra yanık hastalarında tedavi başarısızlığına neden olan bir diğer önemli faktör de farklı virülans faktörlerinin üretilmesidir.

Örneğin, *S. aureus'* un bu Panton-Valentine Lökosidin üreten suşları, PVL-negatif suşlara kıyasla artan öldürücülükle ilişkilendirilmiştir (Holmes vd., 2005).

Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları hala yanık hastalarında birincil kaynak olarak alınmaktadır ve antibakteriyel merhem, enjekte edilebilir antibiyotiklerle tedavi edilen SSTI olmayan hastalardan farklı olarak genellikle tedavinin temel dayanağı olarak alınır (Chen ve diğerleri, 2017).

2.5. Bademcik Iltihabı ve *S. Aureus*

Bademcik iltihabı, bakteriler, alerjiler veya solunum problemleri nedeniyle bademciklerin iltihaplanması olarak bilinir. İltihaplandığında bademcikler şişer ve

yüzeyinde grimsi veya sarımsı bir irinle kırmızı hale gelir. Bu iltihaplar bademcik ve boğaz dokularının şişmesine neden olarak havanın solunum sistemine girip çıkmasını engeller (Kocaturk ve ark., 2003).

İnsanlarda *S. aureus* ön burun deliklerinde bulunur. Bu organizmaların hastane personelinde nazal taşınması, hastanede yatan hastalarda enfeksiyon için potansiyel bir kaynaktır ve nazal taşıma işleminin ortadan *kaldırılmasının S. aureus* enfeksiyonlarının insidansını azalttığı bildirilmiştir. İnsan *S. aureus'* un antimikrobiyal direnç profili, özellikle sağlık tesislerinin yetersiz olduğu gelişmekte olan ülkelerde büyük bir halk sağlığı sorunudur (Von-Eiffet ark., 2001). Mukosiliyer taşınmanın bozulması ve üst solunum yollarının tekrarlayan ve *S. aureus*, Haemophilusinfluenzae ve Pseudomonas aeruginosa gibi bakteriyel patojenlerle kronik kolonizasyon, kistikfibroz (KF) hastalarında morbidite ve mortalitenin en önemli nedenleri arasındadır (Valenzaet ark., 2008).

S. aureus solunum yolunda kolonileşen ilk bakterilerden biridir ve özellikle daha kötü prognozla ilişkilendirilen metisiline dirençli türlerden biridir (Renderset diğerleri, 1997). Genel olarak, KF hastalarının solunum enfeksiyonlarında bakterilerin antibiyotik direnci artan bir endişe kaynağıdır ve direnç takibi hastaların erken tedavisi için önemlidir. KF'de bakteriyel patojenler için biyofilm oluşumu gösterilmiştir ve bakterilere kronik kolonizasyon için bir avantaj sağlar ve antimikrobiyallerin yok edilmesini zorlaştırır (Jackson ve diğerleri, 2003).

Üst solunum yolu enfeksiyonları her yaş grubundaki bireylerde görülen yaygın hastalıklardan biridir. Farenjit, nazofarenjit, bademcik iltihabı, orta kulak iltihabı ve sinüzit, üst solunum yollarının başlıca enfeksiyonlarıdır. Üst solunum yolu enfeksiyonlarında (RTI) yer alan farklı bakteri türleri Haemophilusinfluenzae, Streptococcuspyogenes, Moraxellacatarrhalis, *S. aureus* ve Streptococcuspneumonia'dır. Üst solunum yolu enfeksiyonu vakaları komplike olmamasına rağmen, bu enfeksiyonların neden olduğu akut şişlik, astım durumuna neden olan hava yolu açıklığını tehdit edebilir veya yutmanın geçişinde tıkanmaya neden olarak önemli dehidrasyona yol açabilir. İshalden sonra çocuklarda pnömoniye bağlı ikinci ölüm

nedeni solunum yolu enfeksiyonu olduğu bilinmektedir ve gelişmekte olan ülkelerde daha yaygındır (Ndip ve diğerleri, 2009).

Ek olarak, yüzeysel biyofilmlerde veya tonsil dokusunda nedensel ajanların lokalizasyonu, spesifik direnç mekanizmalarının olmamasına rağmen fonksiyonel antibiyotik direncine katkıda bulunabilir (Swidsinski ve ark., 2007). Genel olarak, S. aureus'un değişen verimlilikle profesyonel olmayan insan fagositlerini içselleştirdiği gösterilmiştir (Alexander ve Hudson, 2001), ancak şimdiye kadar tekrarlayan rinosinüziti olan sadece birkaç hastada hücre içi bir yerleşik olarak tanımlanmıştır (Plouin-Gaudon ve ark., 2006).

2.6. S. Aureus'un Virülans Faktörleri

S. aureus, sağlıklı taşıyıcılar yoluyla kolayca yayılabilmeleri ve toksinler, hücre duvarı ile ilişkili adhezinler ve salgılanan ekzoproteinler dahil olmak üzere çok sayıda virülans faktörü eksprese ettikleri için halk sağlığı için ciddi bir tehdit olarak görülmüştür (Herrera ve diğerleri, 2016).

İnsan *S. aureus* suşlarında, bu virülans faktörlerinden birkaçı yaşamı tehdit eden enfeksiyonlarda rol oynar; bu nedenle, bir biyofilm içinde biyofilm oluşumunu ve / veya kalıcılığını teşvik eden spesifik stafilokokal faktörleri tanımlamak için önemli çaba harcanmıştır (Tangchaisuriya ve diğerleri, 2014).

S. aureus' taki çeşitli virülans genleri, çok çeşitli virülans faktörlerini kodlar (Wang ve diğerleri, 2018). Stafilokok enfeksiyonu, epitel hücresi, konakçı dokular ve tıbbi cihazlar dahil olmak üzere farklı yüzey türlerine bakteriyel yapışmayla başlar (Kot ve ark., 2018). Konakçı hücrelere ve proteinlere yapışmaya, yapışkan matris moleküllerini (MSCRAMM'ler) tanıyan mikrobiyal yüzey bileşenleri adı verilen yapışkan moleküller aracılık eder.Bu bileşenler, sortaz enzimleri tarafından peptidoglikanakovalent olarak bağlanır (Joh ve diğerleri, 1999). *S. aureuse* bpS, kodlayan elastin bağlayıcı protein, eno kodlayan laminin bağlayıcı protein, cna kodlayan kolajen bağlayıcı protein, fnbA / fnbB

kodlayan fibronektin bağlayıcı proteinler A / B, fib kodlayan fibrinojen bağlayıcı protein, clfA / clfB kodlama dahil olmak üzere farklı potansiyel MSCRAMM genlerini eksprese edebilir kümelenme faktörleri A / B ve kemik sialoprotein bağlayıcı proteini kodlayan bbp (Walsh ve diğerleri, 2008).

S. aureus' un istilası, özellikle adhezinler veya "yapışkan matris moleküllerini tanıyan mikrobiyal yüzey bileşenleri" (MSCRAMMS) adı verilen çok çeşitli hastalık oluşturma faktörlerinden etkilenir. Konakçı hücrelere stafilokokaladhezyon, sıklıkla, aynı şekilde konak hücreler tarafından by1-integrinler gibi spesifik reseptörler aracılığıyla bağlanan köprü matris moleküllerine bağlanma yoluyla aracılık edilir (Alexander ve Hudson, 2001).Belirli invazif *S. aureus* suşları, örneğin iki fibronektin bağlayıcı protein (FnbpA / -B), fibrinojen bağlanması için üç protein eksprese eder:kümelenme faktörü A ve B (ClfA / -B) ve fibrinojen bağlayıcı protein (Fib) (Peacock ve diğerleri, 2002).Staphylococcus'un en çok neden olduğu hastalıklar, toksik şok sendromu toksini, epidermolitik toksinler veya enterotoksinler gibi tek "tipik " toksinlerin ekspresyonu ile ilişkili olmadığından, ancak enfektif süreç sırasında bir dizi faktörün özellikle MSCRAMM'lerin kombinasyonununbelirli bir suşun istilacı karakterini belirlediği varsayılmaktadır (Peacock ve diğerleri, 2002).

Patojenik bakteriler aureus, hücre dışı matris proteinlerine çeşitli hücre destekli proteinleri kullanarak bağlanır (Fosteret diğerleri, 2014). Bunlar arasında, kümelenme faktörü A (ClfA), çeşitli enfeksiyonlarda rol alan S. aureus'un önemli virülans faktörüdür (McAdowet ark., 2011). Ek olarak, ClfA, bakterilerin bir biyofilm oluşturmasına ve tokolonize olmasına izin veren plazma proteini kaplı biyomalzemelere bakteriyel bağlanmayı teşvik eder (Vaudauxet diğerleri, 1995).

Fibrinojen, endotel lezyonlarında en bol bulunan konakçı proteindir. Kümelenme faktörleri A ve B (ClfA, ClfB), *S. aureus* tarafından bakteri hücreleri üzerinde eksprese edilen ve hücre yüzeylerine yapışmayı teşvik eden fibrinojen bağlayıcı proteinlerdir. ClfA faktörü bakteriyel büyüme sırasında eksprese edilirken ClfB yalnızca erken logaritmik fazda mevcuttur (Peacock ve diğerleri, 2000).

2.7. Biyofilm Oluşumu

Biyofilmler, *S. aureus'* un çevredeki normal yaşam döngüsünün bir parçası olarak kabul edilmiştir (Otto, 2008). Örneğin, biyofilmler bu mikropu antibiyotik ilaçların etkisinden, proteazlar salgılayarak savunma hücrelerini barındıran ve çevresel stres faktörlerinden koruyabilir (Singh ve diğerleri, 2010).

Mikroakışkan akış hücreli sistemlere ve hızlandırılmış mikroskopiye dayanmaktadır, S. aureus biyofilm oluşumunun aşağıdaki beş aşamalı bir gelişim süreci ile ilerlediği gösterilmiştir: (a) bağlanma, (b) çoğalma, (c) toplu çıkış, (d) olgunlaşma ve (e) dağılma (Moormeier ve diğerleri, 2014) .Elde dilen veriler, bu karmaşık süreçlerde üç faktörün, yani eDNA'nın rolünü göstermektedir; poli - β(1,6) -N - asetil - glukozamin (PIA / PNAG), hücreler arası adezinlokusuicaADBC'nin birlikte ekspresyonu ile indüklenir (Cramton ve diğerleri, 1999); ve erken biyofilm oluşumu sırasında hücre dışı matris bileşenleri olarak işlev gördüğü gösterilen yapışkan matris moleküllerini (MSCRAMM'ler) tanıyan mikrobiyal yüzey bileşenleri de burada etkili olmaktadır.

Biyofilm, bir ara yüz alt tabakasına veya birbirine geri çevrilemez şekilde bağlanan hücrelerle karakterize, mikrobiyal kökenli bir sesil topluluktur. Ürettikleri hücre dışı polimerik maddelerin bir matrisine gömülüdür ve büyüme hızı ve gen transkripsiyonu açısından değiştirilmiş bir fenotip sergiler (Donlan ve Costerton, 2002).Biyofilm oluşumu mikroorganizmaları opsonofagositozdan ve antimikrobiyal ajanlardan korur (Vancraeynest ve diğerleri, 2004).

S. aureus tarafından konakçı kolonizasyonuna dahil olan moleküler mekanizmalarda iki adımın yer aldığı görülmektedir. İlk adım, yapışkan matris moleküllerini (MSCRAMM'ler) tanıyan mikrobiyal yüzey bileşenleri ailesinin farklı proteinlerinin aracılık ettiği hücre dışı matris ve plazma proteinlerini barındırmak için bakteriyel yapışmadır. İkinci adım, biyofilm oluşumunda rol alan genlerin devreye girdiği çok katmanlı hücre kümelerinde büyümeye bağlı bakteri birikimidir (Clarke ve Foster,

2006). MSCRAMM'ler, çeşitli hücre dışı proteinlerle etkileşime girebilen ve bunlara bağlanabilen mikrobiyal yüzeyin protein bileşenleridir.

S. aureus patogenezinde biyofilm üretiminin önemi ve çok ilaca dirençli suşların gelişimi belgelenmiştir (Namvar ve ark., 2013). Diğer yapışma faktörlerinin yanı sıra, icaoperon tarafından kodlanan bir polisakkarit hücreler arası yapışma (PIA) stafilokoklarda biyofilm oluşumu için gereklidir (O'Gara, 2007).

2.8. fnbA ve ClfA Genlerinin Moleküler Tespiti

S. aureus' un moleküler tiplemesi, enfeksiyonu kontrol altına almak için önemli bir değere sahiptir. Şu anda, multilocussequencetyping (MLST), staphylococcal protein A (spa) typing ve staphylococcalcassettechromosomemec (SCCmec) typing dahil olmak üzere çeşitli moleküler tipleme yöntemleri vardır. Genel olarak, tipleme yöntemlerinin bir kombinasyonu bu suşlar arasında daha ayrıntılı genetik bağlantı sağlayabilir (Xie ve diğerleri, 2016).

S. aureus hücre duvarına fibrinojeni bağlama yeteneklerine dayanarak, opsoninlerin patojene birikmesini veya bunlara erişimini engellerler (Higginset ark., 2006).ClfA'nın makrofaj fagositozunu engellediği (Palmqvistet diğerleri, 2004) ve tamamlayıcı düzenleyici faktör I'i bağlayıp aktive ettiği, böylece merkezi tamamlayıcı bileşen olan C3b'yi etkisiz hale getirdiği gösterilmiştir (Hairet diğerleri, 2008).İmmünoglobulinG (IgG) -bağlayıcı SpA proteini, B hücresi süperantijenik özelliklerine ek olarak, S. aureus hücre yüzeyini yanlış yönlendirilmiş IgG molekülleri ile kaplama kapasitesine sahiptir, böylece fagositozu ve klasik yol tamamlayıcı fiksasyonunu (Atkinset ark., 2008).Dahası, *S.aureus'*un polimorfonükleernötrofillerin içinde hayatta kalma yeteneği, bağışıklıktan kaçmaya katkıda bulunur (Greshamet diğerleri, 2000).

Yapışma ve invazyon seviyelerinin yanı sıra hücre içi *S. aureus'* un apoptozu indükleme kabiliyeti, bakteri üreme fazına bağlıdır ve aksesuargen düzenleyici (agr) lokusu ve stafilokokal aksesuar regülatör A (SarA) protein ailesi (Cheung ve ark., 2004).SarA,

üssel büyüme evresinde clfB ve fnbA ve -B'nin ekspresyonunu yukarı düzenlerken, agr, erteleme büyüme fazında spa ve fnbA ve –B ifadesini aşağı doğru düzenler (Cheung ve diğerleri, 2004). ClfA, büyüme döngüsü boyunca kopyalanmasına rağmen, bu gen yüksek oranda posteksponansiyel büyüme fazında eksprese edilir (Wolzet diğerleri, 1999).

Ek olarak, agr ve sarA bağımlı fonksiyonlar, dört *S. aureus* hemolizinin (alfa todelta) ekspresyonunu yukarı yönlü regüle eder (Cheunget ark., 2004).Bakterilerin antibiyotik direncinin bir başka nedeni, çeşitli antibiyotiklerin bozunmasından sorumlu olan beta-laktamaz salgılayan çekirdek algılama düzenlenmiş mekanizma sırasında biyofilmlerin üretimi olarak kabul edilmiştir (Wilke ve ark., 2005). *S. pneumoniae'* nin penisilin ve eritromisine dirençli olduğu, H. influenza'nınampisiline dirençli olduğu, *S. pyogenes* izolatlarının ise eritromisine dirençli olduğu bildirilmiştir (Karchmer 2004).

ClfA geni, bakterilerin virülansında rol oynayan hücre yüzeyiyle ilişkili bir protein olan Clumping faktör A'yı kodlamaktan sorumludur. İnsan fibrinojen parçacıklarının gama zincirine bakteri bağlanmasını tetikler. Ayrıca, grup IIA fosfolipaz A2'nin bakteriyel fosfolipid hidrolizine ve öldürülmesine neden olma kabiliyetini azaltan bakteri kümelerinin oluşumunu indükler. Ayrıca, kümelenme faktörü A, makrofaj fagositozunu dikkate değer ölçüde arttırmaktadır (Dominiecki ve Weiss, 1999; Palmqvist ve diğerleri, 2004). Sekanslama reaksiyonları, bu PCR amplikonları için NCBI Blast kontrolü gerçekleştirdikten sonra tam özdeşliği gösterir (Zhang ve diğerleri, 2000).

FnbA geni, her biri Fn'nin hem çözünür hem de hareketsizleştirilmiş formlarına yapışan çoklu, ikame edici fibronektin (Fn) bağlanma bölgelerine sahip olan, Fibronektin bağlayıcı protein A olarak adlandırılan bir proteini kodlar. Bu bağlanma modelleri, S. *aureus'*u ek faktörlere gerek duymadan endotelyal hücreleri istila etme yeteneğine sahiptir.Aynı zamanda, diğer *S. aureus* yüzey moleküllerinden bağımsız olarak aktive trombositlere yapışmayı ve kümelenmesini destekler.Ayrıca, kateterle indüklenen aort bitki örtüsüne sahip sıçanlarda deneysel endokarditin indüksiyonunda rol oynayan önemli bir aracıdır ve bakterinin hem kolonizasyonunu hem de konakta kalmasını

destekler (Que ve diğerleri, 2005; Keane ve diğerleri, 2017).Sekanslama reaksiyonları, bu PCR amplikonları için NCBI blastn gerçekleştirdikten sonra tam kimliği gösterir (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi).

2.8.1 Bulaşma

Hastane enfeksiyonlarının prevalansı, özellikle hastanede en yüksek *S. aureus* gibi çoklu ilaca dirençli patojenlerdir (Vincentet ark., 2009); ve *S. aureus*, hafiften yaşamı tehdit eden koşullara kadar geniş bir yelpazede hastalıklara neden olan, sağlık bakımı ile ilişkili enfeksiyonların önemli bir ajanıdır. Ek olarak, bu bakteri antimikrobiyal direnç kazanma potansiyeline sahiptir (Weiner ve diğerleri, 2016).

Ön burun deliklerinin skuamöz epitelyumu, insanlarda *S. aureus'* un birincil doğal rezervuarıdır. Tarihsel olarak, kalıcı taşıyıcılar (genel popülasyonun kabaca% 20'si), aralıklı taşıyıcılar (% 30) ve taşıyıcı olmayanlar (% 50) (Mulcahy&McLoughlin, 2016) üç kolonizasyon modeli tanımlanmıştır.Ayrıca vanBelkum ve diğerleri (2009), aralıklı taşıyıcılar ve taşıyıcı olmayanlar benzer *S. aureus* nazal eliminasyon kinetiğini paylaştığından, *S. aureus* nazal taşıyıcı tiplerinin, anti-stafilokokal antikor profilleri temelinde kalıcı ve "diğer" olarak yeniden tanımlanmasını önermektedir. Kalıcı taşıyıcıların burunda aralıklı taşıyıcılardan daha yüksek yoğunlukta *S. aureus* vardır ve genellikle tek bir genotip barındırır (Mulcahy&McLoughlin, 2016).Önemli olarak, S. aureus'un kalıcı nazal taşınması, bakteremi, diyaliz enfeksiyonları ve cerrahi alan enfeksiyonları gibi nozokomiyal enfeksiyonların gelişme riski ile güçlü bir şekilde ilişkilidir.Bu nedenle *S. aureus'* un endojen kontaminasyonunun stafilokok enfeksiyonlarının patogenezinde önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir (Simor, 2011).Kolonizasyon, konakçı savunma sistemlerinde boşluklar ortaya çıktığında patojenin kan dolaşımına erişebileceği bir rezervuar sunar, ancak özellikle toplumla ilişkili enfeksiyonlar durumunda burun kolonizasyonu olmadan enfeksiyonlar meydana gelebilir. *S. aureusis'* in ana bulaşma şekli doğrudan temas (kişi-kişi / fomit-kişi) yoluyla gerçekleşmektedir (Miller ve Diep, 2008).

Ulusal hastaneye yatış ve direnç verileri, 1999'dan 2005'e kadar *S. aureus* ve MRSA ile ilişkili yıllık hastaneye yatış ve ölüm sayısını tahmin etmek için kullanılır.Bu dönemde, *S. aureus* ile ilgili tahmini hastaneye yatış sayısı% 62 artmış ve MRSA ile ilgili tahmini hastaneye yatış sayısı iki katından fazla artmıştır (Kleinet ark., 2007). Bu mikropların doğrudan temas (enfekte / kolonize kişilerden veya evcil hayvanlardan bulaşıcı materyalle temas), kontamineyüzeylerle ve giysilerle temas, nazofarenkstenotoinokülasyon (endojen enfeksiyon) yoluyla bulaşmasının bazı yolları vardır (Scottet diğerleri, 2008).

2.8.2 Teşhis

Pürülan akıntının mikroskobik testinde, düzensiz asma kümeleri olan gram pozitif kokların varlığı, olası stafilokok varlığını gösterir; ancak kesin teşhisi, laboratuvar kültürü ortamında kültür ve izolasyona dayanmaktadır. *S. aureus*'u saptamak için mikroskobik inceleme, katalaz testi, koagülaz testi ve mannitol tuzlu agar ortamında kültivasyon kullanılır (Cannieet diğerleri, 2000).

Yüksek prevalans nedeniyle *S. aureus* enfeksiyonları hastanede yatan hastalar arasında, uygun antimikrobiyal tedaviyi başlatmak ve *S. aureus* enfeksiyonlarının yayılmasını önlemek için bu bakterinin hızlı ve doğru bir şekilde tanımlanması gerekir. Genellikle bu görev için yüksek hassasiyet ve özgüllük nedeniyle moleküler yöntemler tercih edilir. Moleküler yöntemlerin sonuçları da genellikle fenotipik yöntemlerden daha hızlı elde edilebilir (Barskiet diğerleri, 1996).

Disk difüzyon testi ve minimum inhibitör konsantrasyonunun (MIC) belirlenmesi gibi farklı fenotipik yöntemler mevcuttur, ancak direnç ifadesi ortamdaki sıcaklık, ortam, inokülum boyutu ve NaCl konsantrasyonundaki farklılık gibi değişmeyen koşulları etkilemiştir (Afroughet diğerleri, 2012).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1 Araçlar

Mevcut çalışmada kullanılan araçlar Çizelge 3.1 'de listelenmiştir.

Çizelge 3.1. Kullanılan aletler ve imalatçıları

No	Araç	Şirket / Menşei
1	Otoklav	Gemmy/ Tayvan
2	Benzenbrülör	Naugra / Hindistan
3	Santrifüj	Human/ Almanya
4	ElektrikliDavlumbazodası	Labnet / ABD
5	ManyetikKarıştırıcılısıcakplaka	Lab tech/ Güney Kore
6	Kuluçkamakinesi	Memmert / Almanya
7	IşıkMikroskobu	Olympus /Japonya
8	Fırın	Lab Tech / Güney Kore
9	pH ölçer	Hanna/ Romanya
10	Güçkaynağı	Biotech/ Almanya
11	Buzdolabı	Concord/ Lübnan
12	Hassaselektrikdengesi	Denver Instrument/ Almanya
13	Termocycleraparatı	Techne/ ABD
14	UV transillüminatör	Optima INC. / Japan
15	Girdap	Heidolph/ Almanya
16	Subanyosu	Grant/ İngiltere

3.1.1 Kimyasal malzemeler

Bu çalışmada kullanılan kimyasal malzemeler Çizelge 3.2'de maddeler halinde sıralanmıştır.

Çizelge 3.2. Kimyasal malzemeler

No	Material	Company/ Origin
1	Agar-agar	Himedia / Hindistan
2	Agaroz	United states biological/ ABD
3	Bromotimolmavisi	Bio Basic INC. / Kanada
4	Elma Yağı	Syrbio / Suriye
5	Etanol (mutlak)	Fluka/ Almanya
6	GeneRuler 100 bp DNA (merdiven)	Bioneer / Güney Kore
7	Gram Boyama	Syr Bio / Suriye
8	Hidrojenperoksit (H2O2)	Fluka / İngiltere
9	Mannitol tuzu	Fluka/ Almanya
10	NaCl	Fluka/ Almanya
11	Nükleaziçermeyensu	Bioneer / Güney Kore
12	Emniyetboyası	ABM/ ABD
13	6X Yüklemeboyası	Bioneer / Güney Kore

3.1.2 Primerler

Mevcut çalışmada kullanılan primerler Çizelge (3.3) 'de listelenmiştir.

Çizelge 3.3. Gen amplifikasyonu için kullanılan primer dizileri

Gen		Primer Dizisi (5′- 3′)		Ürünbo yutu	Referans
***Fnb* A**		ATC AGC AGA TGT AGC GGA AG TT AGT ACC GCT CGT TGT CC		198 bp	(Abraham, ve Jefferson, 2010; Selvaraj *vd* 2019)
***clf*A**		F: ATT GGC GTG GCT TCA GTG CT R: CGT TTC TTC CGT AGT TGC ATT TG		292 bp	(Tristan *vd*., 2003)

*F :forward, *R : reverse, A: adenine, C: cytosine, G: guanine, T: thymine

3.1.1. Kültür Ortamı

Bu çalışmada kullanılan kültür ortamı Çizelge 3.4 'de listelenmiştir.

Çizelge 3.4. Kültür ortamı

No	Ortam	Şirket / Menşei
1	BeyinKalpİnfüzyonagarı (BHI)	LAB / İngiltere
2	Kan bazlı agar (BA)	AFCO / Ürdün
3	DNaz agar	LAB / İngiltere
4	Mannitol tuzagarı	LAB / İngiltere
5	Besinagar (NA) Oxoid (İngiltere)	LAB / İngiltere
6	Besinsuyu (N.B) Oxoid (İngiltere)	LAB / İngiltere

3.1.2. Kitler

Mevcut çalışmada kullanılan kitle Çizelge 3.5 'de listelenmiştir.

Çizelge 3.5. Çalışmada kullanılan kitler

No	Ortam	Şirket / Menşei
1	Presto™ Mini gDNA Bakteri Kiti	Geneaid / Tayvan
2	Master mix Kit	Bioneer/ Güney Kore
3	API Staph sistemi	BioMerieux / Fransa
4	Gram suşKiti	Syr Bio / Suriye

3.2. Yöntemler

3.2.1 Ortam

Bu çalışmada kullanılan ortam, üreticinin talimatlarına göre hazırlanmıştır (Collee ve diğerleri, 1996; Seethalakshmi ve diğerleri, 2010).

3.2.1.1. Beyin kalpiınfüzyon agarı

BHI agar, 49 g D.W. ve vidalı tüpe dağıtılır, otoklavda 121 C'de 15 dakika sterilize edilir, sonra eğimli olarak kalır.

3.2.1.2. Beyin Kalp Infüzyonsıvı Besiyeri

BHI suyu 37 gr çözülerek hazırlanır. 1 L. of D.W. tüplere dağıtıldı, otoklavda 121 ºC'de 15 dakika sterilize edildi.

3.2.1.3. DNaseagar

42 gr ilave edilerek hazırlanmıştır. DNaseagar, 10 gr. mannitol şekeri ve 0.024 gr. 1 L D.W'yebromofenol mavisi boyandı, karıştırıldı ve 121 ºC'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi, sonra 50 ºC'ye soğutuldu ve plakalara döküldü.

3.2.1.4. Kanlı Agar (BA)

Kırk gr. Kan agar bazı 1 L. D.W. ve 121 ° C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi, 50 ° C'ye soğutuldu ve aseptik olarak% 5 (v / v) insan kanına eklendi.

3.2.1.5. Mannitol tuzu agarı (MSA)

111 gr çözülerek hazırlanmıştır. 1 L. D.W. içinde, 121 C'de 15 dakika otoklavda kaynatıp sterilize edildikten sonra 50 ºC'ye soğutulduktan sonra plakalara döküldü.

3.2.2 Boyalar, Reaktifler, Çözeltiler

3.2.1.6. Etil alkol% 70

Bir şişeye 70 ml mutlak etanol (% 99.9) eklenerek sunulmuş ve DW ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. (Benson, 2001)

3.2.1.7. Proteinaz K

11 mg proteinaz K'nin 1.1 ml proteinaz K saklama tamponunda çözülmesi ile hazırlanmıştır.

3.2.1.8. Tris borat EDTA tamponu (TBE-1 X)

10 ml stok TBE-10X, 90 ml D.W. ve elektroforezde kullanılana kadar 4^{o}C 4'de saklanmıştır (Sambrook ve diğerleri, 1989).

3.2.1.9. Katalaz reaktifi

Hidrojen peroksit (H2O2) Kullanılıncaya kadar% 3'ü kahverengi bir şişede 4ºC'de saklanmıştır (Harley&Prescott, 2002).

3.3. Numunelerin Toplanması

Mart-Temmuz 2020 arasında, Thi-Qar eyaleti / Irak'taki AL-Hussein Eğitim Hastanesinin yanık hastalarından ve yaşları ≤10-60 arasında değişen bademcik iltihabı olan hastalardan seksen sürüntü örneği alındı; Daha sonra aynı gün içerisinde hemen Mikrobiyoloji Laboratuvarına sevk edildi.

3.3.1. İzolasyon

Toplanan örnekler, Staphylococci'nin izolasyonu, saflaştırılması ve tanımlanması için seçici ve ayrıştırıcıbesiyeri olarak kabul edilen mannitol tuz agarınainoküle edilmiştir. Tüm plaklar 37ºC'de 24 saat inkübe edilmiştir, ardından tek bir saf izole koloni, koruma ve izolatların tanımlanmasını doğrulayan diğer biyokimyasal testleri gerçekleştirmek için BHI agarbesiyerineiletilmiştir.İzolatlar kanlı agar üzerine yayılmıştır, ardından 37ºC'de 24 saat inkübe edilmiştirİzolatlar şekil, boyut, renk, pigmentler ve hemolitik aktiviteleri açısından incelenmiştir.

3.3.2 izolatların tanımlanması

3.3.1.1. Mikroskobik Tahlil

İzolatlar, boyaya, şekle ve düzenlemeye tepkilerini saptamak için Gram boyama ile boyanmıştır.

3.3.1.2. BA ve MSA'da koloni morfolojisi

Koloniler kanlı agar plakasında büyümüş ve şekil, boyut, renk ve kan hemoliz tipleri açısından test edilmiştir.Mannitol tuzu agar plakasında yetiştirilenler mannitol şekerini fermente etme yetenekleri açısından test edilmiştir.

3.3.1.3. Biyokimyasal Testler

- **Katalaz Testi**

Tahta aplikatör çubuğu ile kültürden bazı bakteri kolonileri aktarılmış ve bir slayt üzerine yerleştirilmiştir, daha sonra slayt üzerindeki hücrelerle 1-2 damla% 3 H_2O_2karıştırılmıştır. Gaz kabarcıklarının görünümü pozitif bir test olarak belirtilir (Harley&Prescott, 2002).

- **Koagülaz Testi (Tüp Koagülaz Testi)**

Bu test, test edilen bakterilerin oksalatlı veya sitratlı plazmayı pıhtılaştıran koagülaz enzimini üretme kabiliyetini tespit etmek için kullanılabilir, test aşağıdaki şekilde gerçekleştirilir:

Sitratlı taze insan plazması 1: 5 oranında damıtılmış su ile seyreltilmiş, ardından 37ºC'de inkübe edilmiş bir gece boyunca bakteriyel broth kültüründen eşit hacimde karıştırılmıştır. 1-4 saatte pıhtılar oluşursa test pozitiftir. Steril et suyu içeren bir tüp plazma karışımı kontrol olarak dahil edilir (Brooks ve diğerleri, 2007).

- **DNaz Üretim Testi**

Bakteriyel izolatlar gece boyunca 37 ºC'de DNazagar üzerine sürme yöntemi ile inkübe edilir. Mannitol şekerinin fermantasyonu ve koloniler etrafında berrak bölgenin görünümü pozitif sonuçlar olarak değerlendirilir

3.3.1.4. API Staph Sistemi

Bu yöntem üretici tarafından bildirilen prosedürlere göre uygulanmıştır.

3.4. Moleküler Teşhis

3.4.1 Genomik DNA'nın ekstraksiyonu

Tüm *S. aureus* izolatlarından genomik DNA, Presto ™ Mini gDNA Bakteri Kiti kullanılarak, aşağıdaki gibi özetlenebilen üreticinin protokolüne göre ekstrakte edilmiştir:

3.4.1.1. Numune Hazırlığı

Bir mikrosantrifüj tüpüne bakteri izolatları (1 x 10^9 kadar) eklenmiş ve gece boyunca BHI et suyu kültüründe bekletilmiştir, daha sonra 14-16.000 rpm'de 1 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatantı atılmıştır. Gerekli Gram + Tampon hacminin (200 µl / örnek) 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarılması gerçekleştirilmiştir. Lizozim (0,8 mg / 200 µl) Gram + Tampon'a (15 ml santrifüj tüpünde) eklenmiş ve ardından Lizozimi tamamen çözmek için vorteksleme gerçekleştirilmiştir.1.5 ml mikrosantrifüj tüpündeki örneğe 200 µl Gram + Tamponaktarılmıştır (Lizozim eklendiğinden emin olunarak), ardından pelletivorteks veya pipet ile yeniden süspanseedilmiş, ardından 37ºC'de 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sırasında tüp, her 10 dakikada bir ters çevrilmiştir. 20µl Proteinase K ekledikten sonra vortekslekarıştırılmış, ardından 60ºC'de en az 10 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sırasında tüp her 3 dakikada bir ters çevrilmiştir.

3.4.1.2. Hücre parçalanması (Lisis)

Örneğe iki yüz mikrolitre GB Tamponu eklenmiş ve 10 saniye boyunca vortekslenerek karıştırılmış, ardından örnek lizatının berrak olmasını sağlamak için 70ºC'de en az 10 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sırasında tüp her 3 dakikada bir ters çevrilir. Bu

sırada gerekli Elüsyon Tamponunu 70ºC'ye önceden ısıtılmıştır (adım 5 DNA Elüsyonu için).

3.4.1.3. DNA Bağlanması

Örnek lizatına iki yüz mikrolitre mutlak etanol ilave edildi ve kuvvetlice çalkalanarak hemen karıştırıldı. Çökelti belirirse, bir pipetle olabildiğince parçalanmıştır, ardından 2 ml'lik bir Toplama Tüpüne bir GD Kolonu yerleştirilmiştir, ardından karışım (çözülmeyen çökelti dahil) GD Kolonuna aktarılmış ve ardından 14-16.000 x g'de 2 dakika santifrüjlenmiştir. Akışı içeren 2 ml'lik Toplama Tüpünealma gerçekleştirilmiş ve ardından GD Kolonunu yeni 2 ml'lik Toplama Tüpüne yerleştirme adımı uygulanmıştır.

3.4.1.4. Yıkama

GD Kolonuna dört yüz mikrolitre W1 Tampon eklendi, ardından 30 saniye 14-16.000 rpm'desantrifüjlendikten sonra akış atıldı. GD Kolonu tekrar 2 ml Toplama Tüpüne yerleştirildi ve GD Kolonuna 600 µl Yıkama Tamponu (etanol eklendiğinden emin olunarak) ilave edildi. 30 saniye boyunca 14-16.000 rpm'desantrifüjlendi, ardından akışı atıldı, ardından GD Kolonunu 2 ml Toplama Tüpüne geri yerleştirildi. Son olarak, kolon matrisini kurutmak için, 14-16.000 rpm'de 3 dakika süreyle tekrar santrifüjlendi.

3.4.1.5. DNA Elüsyonu

Kurutulmuş GD Kolon, temiz bir 1,5 ml mikrosantrifüj tüpüne, 100 µl önceden ısıtılmış Elüsyon Tamponu1 kolon matrisinin merkezine aktarıldı ve Elüsyon Tamponunun tamamen emilmesi için en az 3 dakika beklendi, ardından, Saflaştırılmış DNA'yı ayrıştırmak için 30 saniye boyunca 16.000 rpm 14° C'de santrifüjlendi.

3.4.2. Hedef Genlerin PCR ile Tespiti

A ve fnbAgenlerinin amplifikasyonu, Tablo (2.3) 'de açıklanan primerler kullanılarak yapılmıştır.Reaksiyon tüplerinin son hacmi 20µl olup, 5µl Master Mix, 1.5µl hem ileri hem de her gene özgü primerlerden oluşur, 3µl DNA şablonu ve hacim nükleaz içermeyen su eklenerek tamamlanır.Ürünler, 45-60 dakika boyunca 70V'de 1x TBE tamponu kullanılarak% 1.5 agaroz jel kullanılarak 8 ul emniyet boyası ilave edilerek görselleştirilir.Bu genlerin ısıl döngü programları sırasıyla clf A ve fnb genlerinin Çizelge 3.6 ve 3.7 listelenmiştir.

Çizelge 3.2.1.1.1. clfA geni programı (Tristan ve diğerleri, 2003)

Adım	Sıcaklık, °C	Süre	Döngü
İlk denatürasyon	95	3 dk	1
Denatürasyon	95	30 s	30
Tavlama	59	30 s	
Uzatma	72	30 s	
Son uzatma	72	5 dk	1

Çizelge 3.2.1.1.2.fnb A geninin programı (Abraham ve Jefferson, 2010)

Adım	Sıcaklık, °C	Süre	Döngü
İlk denatürasyon	94	2 dk	1
Denatürasyon	94	60 s	30
Tavlama	55	60 s	
Uzatma	72	60 s	
Son uzatma	72	**5 DK**	1

3.4.3. Agaroz Jel Elektroforezi

1- Agaroz jel tozu (% 1 veya% 1.5) 1 ve 1.5 gr çözülerek hazırlanmıştır. 100 ml 1X TBE tamponu içinde agaroz, karışım kabı buharlaşmayı önlemek için alüminyum folyo ile kapatılır ve agaroz çözünene kadar manyetik karıştırıcı ile sıcak bir plaka içinde kaynatılır.DNA ekstraksiyon işleminden sonra elektroforezde% 1 agaroz konsantrasyonu kullanılırken, PCR tespiti ile amplifikasyon genlerinden sonra% 1.5 agaroz kullanılır.

2- Şişe sıcak plakadan çıkarıldı ve yaklaşık 45-55 ºC'ye soğumaya bırakılır.

3- Daha sonra jel 8µl emniyet boyası ile karıştırılır ve nazikçe döndürülerek iyice eklenir.

4- Uygun 16 dişli tarak hazneye yerleştirilir ve agaroz jele batırılır.

5- Daha sonra hazneye erimiş agaroz solüsyonu dökülür, mikropipet ucu ile dürtülerek erimiş jel içerisindeki hava kabarcıkları kolayca çıkarılır.

6- Jel katılaşana kadar oda sıcaklığında 30 dakika kurumaya bırakılır, ardından tarak ve bant dikkatlice jelden çıkarılır.

7- Son katılaşmadan sonra tarak dikkatlice çıkarılır, kavanoz elektroforez tankına konur ve TBE tamponu ile doldurulur.

8- İzole edilmiş DNA örnekleri veya PCR ürünü, DNA'dan 5µl ile 2µl yükleme boyası (bromotimol mavisi) karıştırılarak elektroforeze tabi tutulur ve özel kuyulara yüklenir, ardından bir elektrik alanına (45-60 dakika 70V) maruz bırakılır.

9- Son olarak, nükleik asit veya PCR ürünü, jelden iletilen UV ışığı (300nm) altında incelenir (Podzorski ve diğerleri, 2006).

3.4.4. DNA Dizileme

S. aureus' un on PCR ürünü, beş clf A'ya dağıtılır ve dizileme için beş fnb geni seçilmiştir ve her gen için ileri ve geri primerlerdizilenmek üzere laboratuvara gönderilir (Macrogen, Kore).Temel Yerel Hizalama Arama Aracı analizi (BLAST), blast algoritmasına yol açar (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST).Clf A geni için (MCA1) ve fnb A için (MCA2) olarak belirtilen örnek dizileri, BioEdit dizi Hizalama Düzenleyici Yazılım Sürüm 7.1 (DNASTAR, ABD) kullanılarak düzenlenmiş, hizalanmış ve referans dizilerle karşılaştırılmıştır (Hall, 1999).

3.4.4.1. Nükleik asit varyasyonlarının anima asit kalıntılarına translasyonu

Hedeflenen proteinin amino asit dizileri, protein veri bankasından çevrimiçi olarak alındı (http://www.ncbi.nlm.nih.gov).Kodlama bölümlerinde gözlemlenen varyantlar, Expasy çevrimiçi programı kullanılarak ilgili amino asit kalıntılarına karşılık gelen bir okuma çerçevesine çevrilir (http://web.expasy.org/translate/).Birden fazla amino asit

dizisi hizalaması, BioEdit sunucusunun "hizalama" komut dosyası kullanılarak, yönlendiren amino asit dizileri ile gözlemlenen mutasyona uğramış karşılığı arasında gerçekleştirilir.

3.4.4.2. Kapsamlı filogenetik ağaç yapımı

Hussein ve diğerleri tarafından açıklanan komşu birleştirme protokolüne göre bu çalışmada belirli bir kapsamlı ağaç oluşturulmuştur. (2020).Gözlemlenen varyantlar, NCBI-BLASTn sunucusu kullanılarak komşu homolog referans sekansları ile karşılaştırılır (Zhang ve arkadaşları, 2000).Ardından, gözlemlenen varyantı içeren tam kapsamlı bir ağaç, komşu birleştirme yöntemiyle oluşturulur ve iTOL kıyafeti kullanılarak bir kladogram ağacı olarak görselleştirilir (Letunic&Bork, 2019).Her birinin dizileri, kapsamlı ağaçtaki filogenetik türler grubunu sınıflandırır, uygun şekilde renklendirilmiştir.

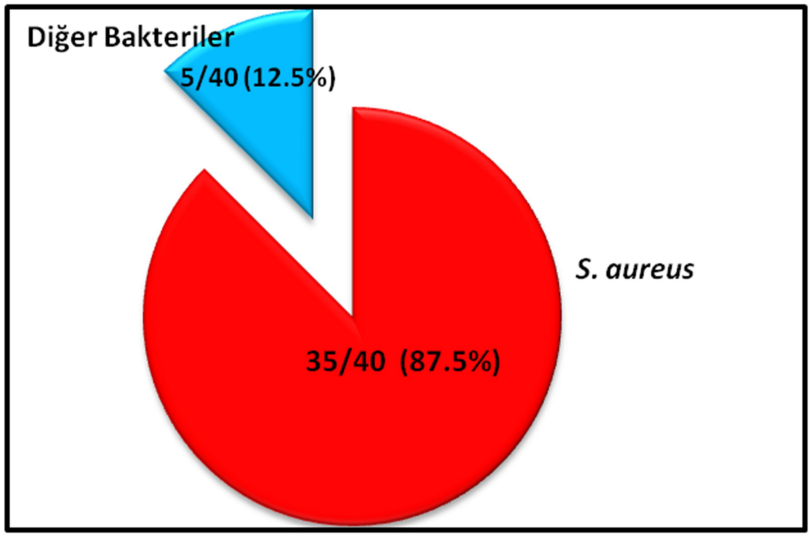
3.5. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmanın sonuçları, SPSS programı (16.versiyon) kullanılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir. P değeri 0,05'in altında veya buna eşit olarak statik olarak anlamlı kabul edilmektedir.

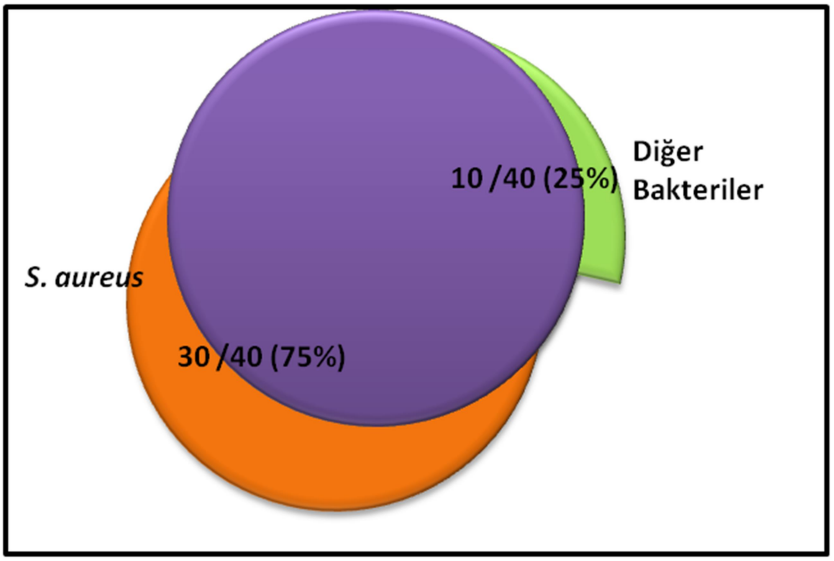
4. BULGULAR

4.1. Bakteriyel İzolasyon ve Tanımlama

Toplam 80 adet numune, Thi-Qar eyaletindeki Al-Hussein Eğitim Hastanesinde yanık hastalarından ve tonsillitli (bademcik iltihaplı) hastalardan toplanmıştır. Yalnızca altmış beş izolat (% 81,25) büyümüş ve MSA ortamında sarı koloniler olarak görülmüş ve *S.aureus* olarak belgelenmiştir. Yanık örneklerinden izole edilen 35 (% 35,% 87,5) *S. aureus*, bademcik iltihabı örneklerinden iyileşen 30 (% 75) izolat ise Çizelge 4.1 'de gösterildiği gibi *S. aureus* olarak belirtilmiştir. Şekil (4.1) 'de gösterildiği gibi, yanık örneklerinden 35/40 (% 87.5) *S. aureus* izolatı ve diğer bakteri türleri olarak% 12.5 kayıt bulunmaktadır. Öte yandan, *S. aureus* yüzdesi bademcik iltihabı örneklerinden 30/40 (% 75) iken, Şekil (4.2) 'de belirtildiği gibi% 25 diğer bakteriler olarak temsil edilir. *S.aureus* ve üreme kültürü olmayan diğer bakteriler arasında önemli bir fark (P≤0.05) olmuştur.



Şekil 4.1. Yanık örneklerinden izole edilen bakteri kültürünün yüzdesi



Şekil 4.2. Bademcik iltihabı örneklerinden izole edilen bakteri kültürünün yüzdesi

Çizelge 4.1. *S. aureus'* un yanık ve tonsillitnumunelerinde dağılımı

Numune / Bakteri	Yanık	Tonsilit	Toplam	p. değeri
S.. aureus	35 (87.5%)	30 (75%)	65 (81.25%)	0.535
χ^2=0.385 df=1 p.değeri ≤0.05 anlamlı				

4.2. Mikroskobik ve biyokimyasal tanı

Mikroskobik inceleme tamamen *S. aureus* izolatlarına Gram boyama ile boyandıktan sonra lekeye tepkilerini tespit etmek için kullanılmıştır, hücreler çoğunlukla üzüm benzeri düzensiz kümeler halinde düzenlenmiş Gram pozitif koklar olarak görünür. *S. aureus'* un tamamen izolatları biyokimyasal testlerle tanımlanır, bu izolatlarakatalaz, koagülaz ve DNaz testleri için pozitif sonuçlar verilmiştir. API Staph sistemi, izolatların cins ve tür düzeyinde tanımlanmasının doğrulanması için kullanılır, Şekil (4.3).



Şekil 4.3. *S. aureus'* un API staph ile tanımlanması

4.3. S. aureus'un yaşa göre dağılımı

Sonuçlar, en yüksek enfeksiyon yüzdesinin (%38,75) , 31 adet yanık ve bademcik iltihabı örnekleriyle ile en yüksek (≤ 10 yaş) aralığında kaydedildiğini göstermektedir. Yine de her iki örnek için de en düşük enfeksiyon oranı Çizelge 4.2 'de gösterildiği gibi 2 (% 2,5) hasta ile (51-60 yaş) yaş grubunda görülmektedir.Yaşa göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olmuştur (P≤ 0,05).

Çizelge 4.2. *S. aureus'* un yaşa göre dağılımı (suşlar = 80)

YaşGrubu	Sayı	Yüzde (%)	p. değeri
≤10	31	%38.75	0.000*
11-20	19	%23.75	
21-30	12	%15	
31-40	9	%11.25	
41-50	7	%8.75	
51-60	2	%2.5	
Total	80	%100	
χ^2= 40 df=5 p.değeri≤0.05 anlamlı			

4.4.Moleküler Teşhis

PCR testi sonuçları, *S. aureus* izolatlarının sırasıyla 29/35 izolatta ve 24/30 izolatta yanık ve bademcik iltihabı örneklerinde dağıtılan clf A geni için pozitif sonuç vermiştir ki bu oranlar sırasıyla % 82.86 ve% 80'a karşılık gelmektedir. Fnb geninin hafif oranda bulunmasına rağmen (sırasıyla % 20 ve% 16.67)yanıktan 7/35, tonsillit örneklerinden 5 / 30'una karşılık gelmektedir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. *S. aureus* izolatlarında clf A ve fnb genlerinin dağılımı

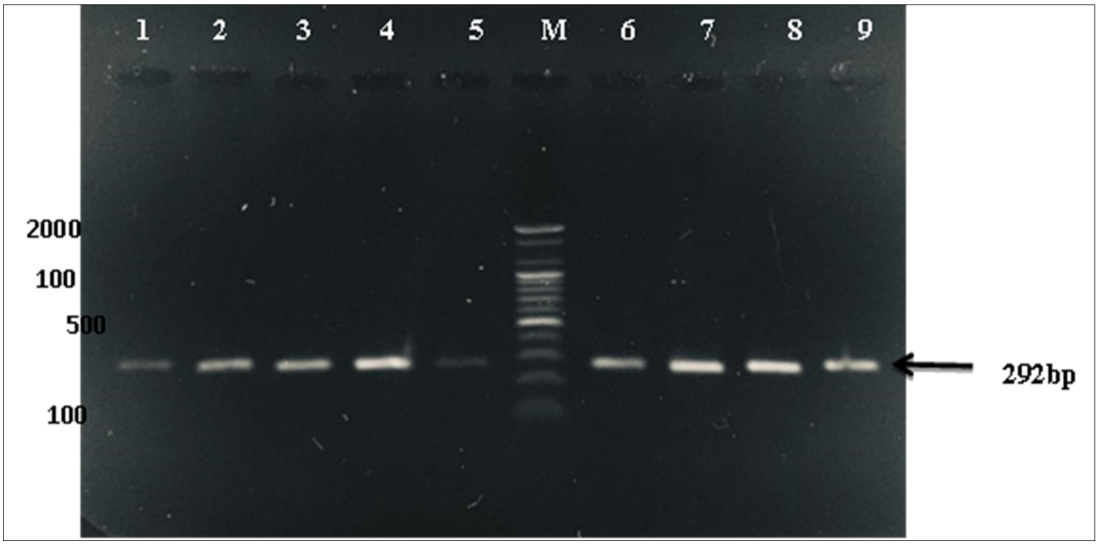
Numuneler Genler	Yanık N=35	Tonsilit N=30	p. değeri
clf A	29 (%82.86)	24 (%80.00)	0.820
fnb	7 (%20.00	5 (%16.67)	
χ^2=0.052 df=1 p.değeri≤0.05 anlamlı			

Yanık ve tonsilit örneklerinden toplanan *S.aureus'* un 53/65'inde, tüm izoaltlardaclf A geninin toplam yüzdesi %81,54, FnB geninin ise 12/65 izolatta %18,66 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

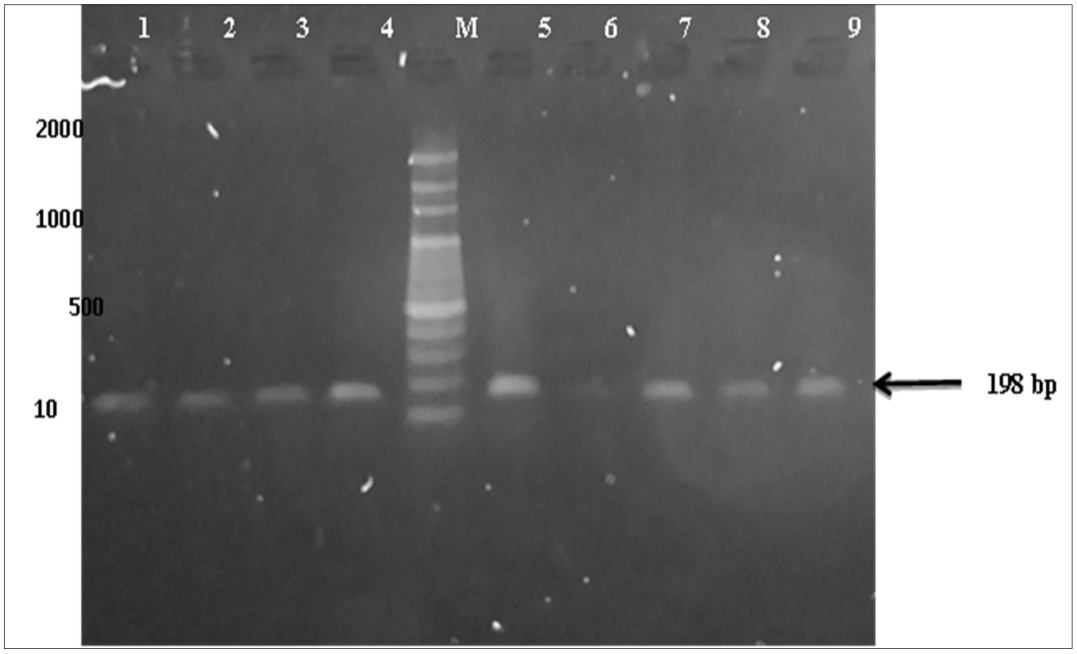
Çizelge 4.4. *S. aureus* izolatlarındaki toplam gen yüzdesi, (izolatlar = 65)

Genler	Sayı.	Yüzde (%)	p. değeri
clf A	53	81.54%	0.000*
fnb	12	18.46%	
χ^2=25.86 df=1 p.değeri≤0.05 anlamlı			

Clf A'nın PCR analizine göre, Şekil 4.4'te gösterilen ve bu genin boyutunu ortaya koyan bantlar yaklaşık 292bp'dir. Bununla birlikte, Şekil (4.5) fnb geninin yaklaşık 198 bp olan boyutu gösterilmektedir.



Şekil 4.4. clf A gen amplifikasyonunun agaroz jel elektroforezi, burada M: merdiven, 1-9: pozitif sonuçlar



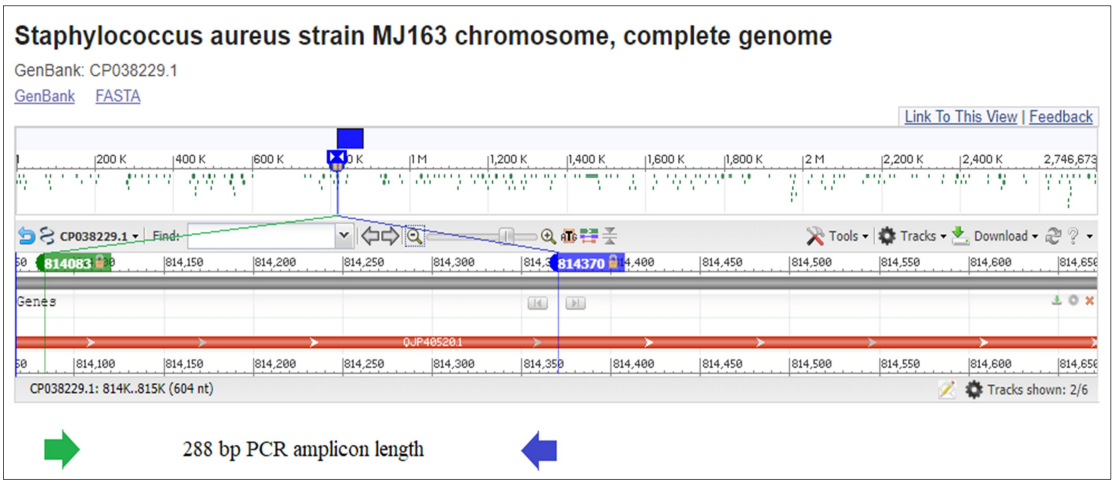
Şekil 4.5. nb A gen amplifikasyonunun agaroz jel elektroforezi, burada M: ladder, 1-9: pozitif sonuçlar

4.5.Moleküler Teşhis

4.5.1. Clf A geni

Bu lokus içinde, bu çalışmaya beş örnek dahil edilmiştir. Bu örnekler, *S. aureus* bakterisinin genomik dizilerindeki clfA gen dizilerini ampfiliye etmek için taranmıştır.

288 bp amplikonlarla ilgili olarak, NCBI BLASTn motoru, dizilenen örnekler ile amaçlanan referans hedef dizileri arasında yaklaşık% 100 dizi benzerliği göstermiştir. Bu araştırılan örneklerin gözlemlenen DNA dizileri geri alınan DNA dizileriyle (GenBankacc. CP038229.1) karşılaştırılarak, alınan PCR parçalarının doğru konumları ve diğer ayrıntıları tanımlanmıştır. Hedeflenen lokusun toplam uzunluğu NCBI sunucusunda lokalize edilmiş ve hedeflenen lokusun başlangıç ve bitiş pozisyonları da doğrulanmıştır (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. *S. aureus* genomik sekansları (GenBankaccno. CP038229.1) içindeki clfA geninin bir bölümünü kısmen kaplayan geri alınan 288 bp amplikonun tam konumu. Mavi ok bu amplikonun başlangıç noktasına, kırmızı ok ise bitiş noktasına işaret eder

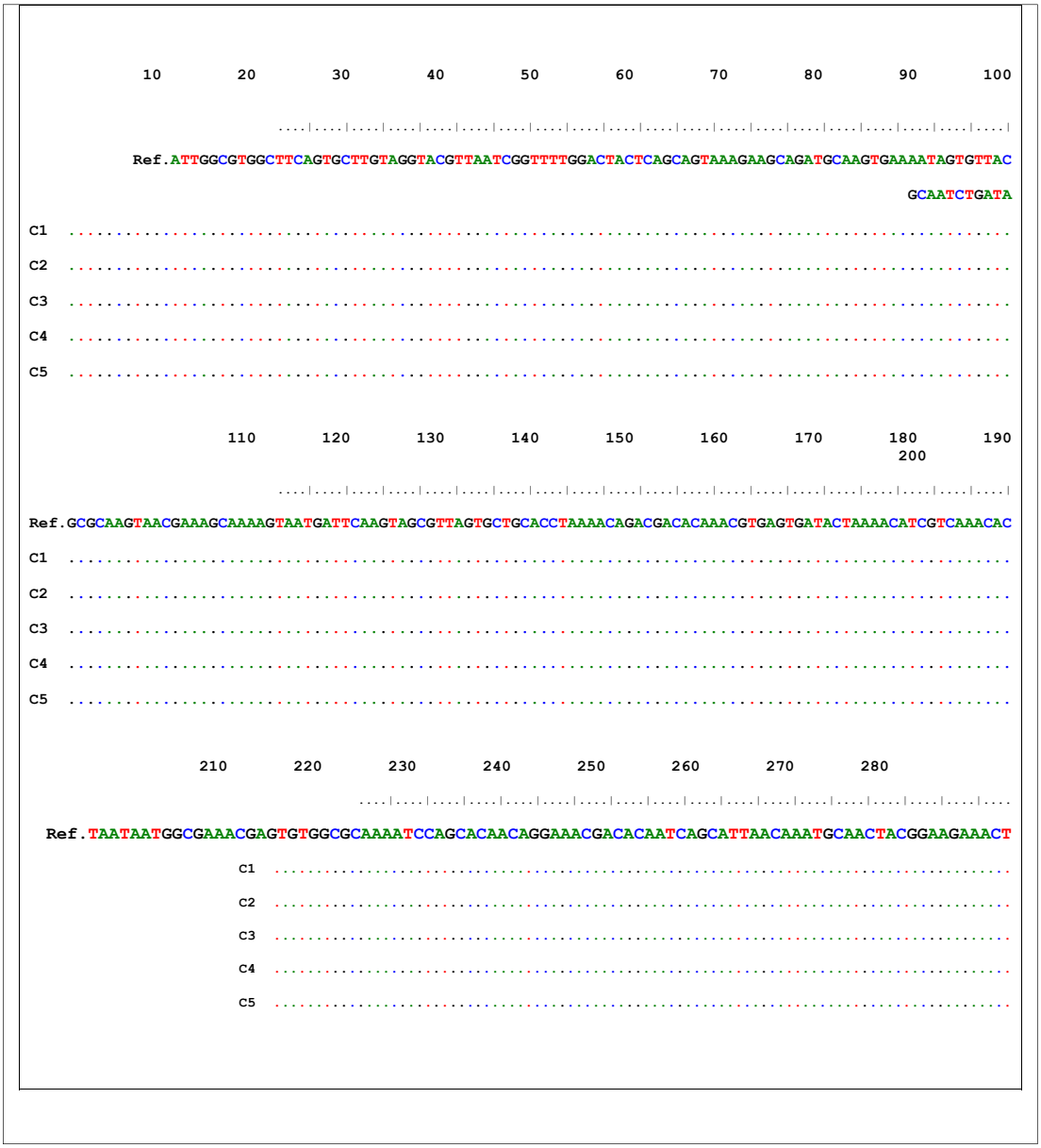
S. aureus' un genomik dizileri içinde 288 bp amplikon dizilerini konumlandırdıktan sonra, dizilerinin ayrıntıları, 288 bp yükseltilmiş amplikonların hem ileri hem de geri primerlerinin konumlandırılması açısından vurgulanmıştır (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. *S. aureus* genomik dizileri (GenBankacc. No. CP038229.1) içinde clfA'nın bir bölümünü amplifiye etmek için kullanılan 288 bp PCR amplikonlarının konumu ve uzunluğu. Gri renkli diziler, sırasıyla ters ve ileri primerlerin pozisyonuna atıfta bulundu

Amplikon	Referans lokus dizisi (5′ - 3′)	uzunluk
DNA dizileri: *clfA*gen lokusu içinde	***ATTGGCGTGGCTTCAGTGCTTGTAGGTACGTTAA TCGGTTTTGGACTACTCAGCAGTAAAGAAGCAGA TGCAAGTGAAAATAGTGTTACGCAATCTGATAGC GCAAGTAACGAAAGCAAAAGTAATGATTCAAGTA GCGTTAGTGCTGCACCTAAAACAGACGACACAAA CGTGAGTGATACTAAAACATCGTCAAACACTAAT AATGGCGAAACGAGTGTGGCGCAAAATCCAGCAC AACAGGAAACGACACAATCAGCATTAACAAATGC AACTACGGAAGAAACT****	**288 bp**

* Ters primer dizilerini ifade eder (ileri yönde yerleştirilmiş)
** İleri primer dizilerini ifade eder (ters yönde yerleştirilmiş)

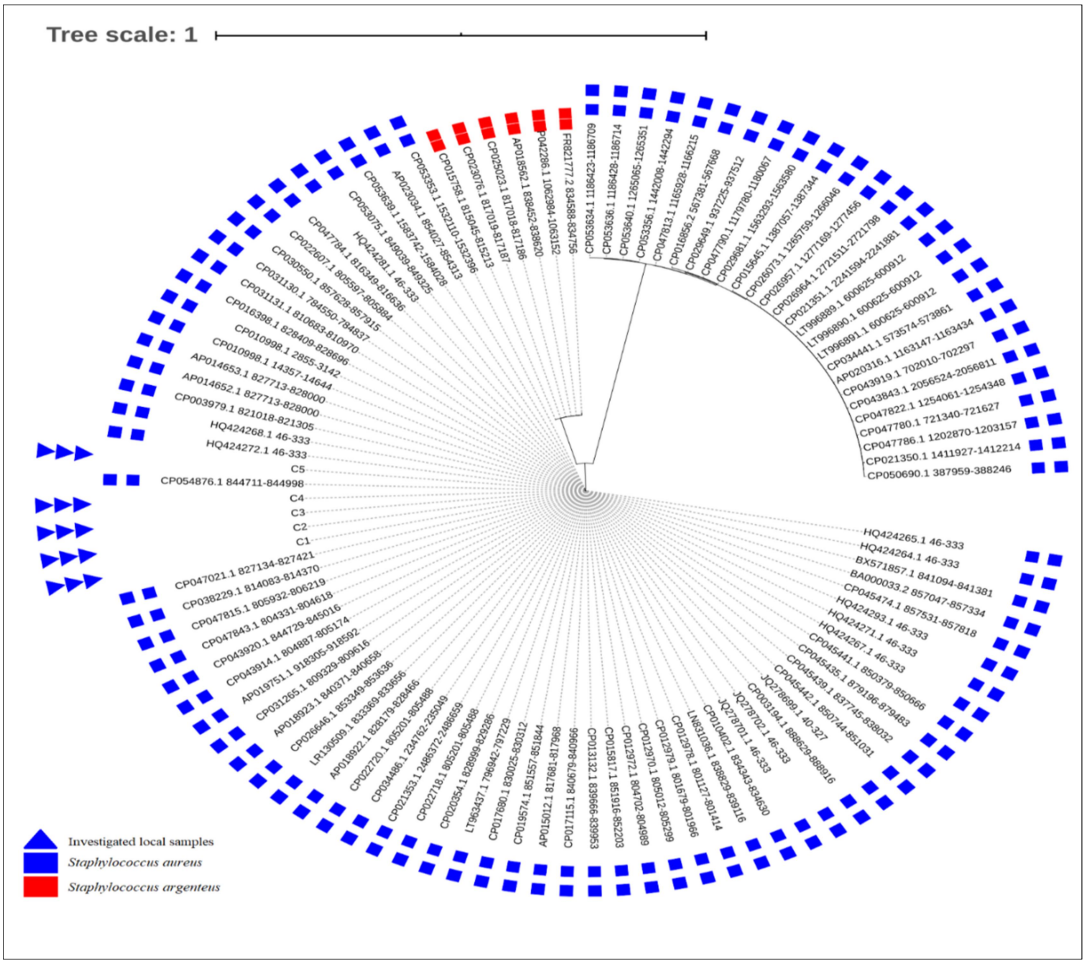
288 bp'lik numunelerin hizalama sonuçları, referans DNA sekansları ile karşılaştırıldığında analiz edilen numunelerde saptanabilir mutasyon olmadığını ortaya koymuştur (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. ClfA DNA dizilerinin 288 bp amplikonlarının karşılık gelen referans dizileri ile beş örneğin DNA dizileri hizalaması. "Ref" sembolü NCBI referans sırasına, "C" harflerine, ardından gelen bir sayı, numune numarasına karşılık gelir

Bu çalışmada, clfAamplikonlarının 288 bp büyütülmesine dayanan kapsamlı bir filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Bu filogenetik ağaç, *S. aureus* dizilerinin diğer göreceli DNA dizilerinin yanı sıra C1 ila C5 örnekleri içerir. Bu kapsamlı ağaçtaki hizalanmış nükleik asit dizilerinin toplam sayısı 102'dir. Ağaçta bulunan ana organizmayı temsil eden S. aureus'a ek olarak, diğerleri de mevcut kapsayıcı ağaçta da dahil olmak üzere S. argenteus gibi yüksek düzeyde ilişkili organizmalara sahiptir.

Dikkate değer, incelenen örnekler *S. aureus* dizileri içinde yalnızca birkaç bitişik klad halinde kümelenmiştir (Şekil 4.8).

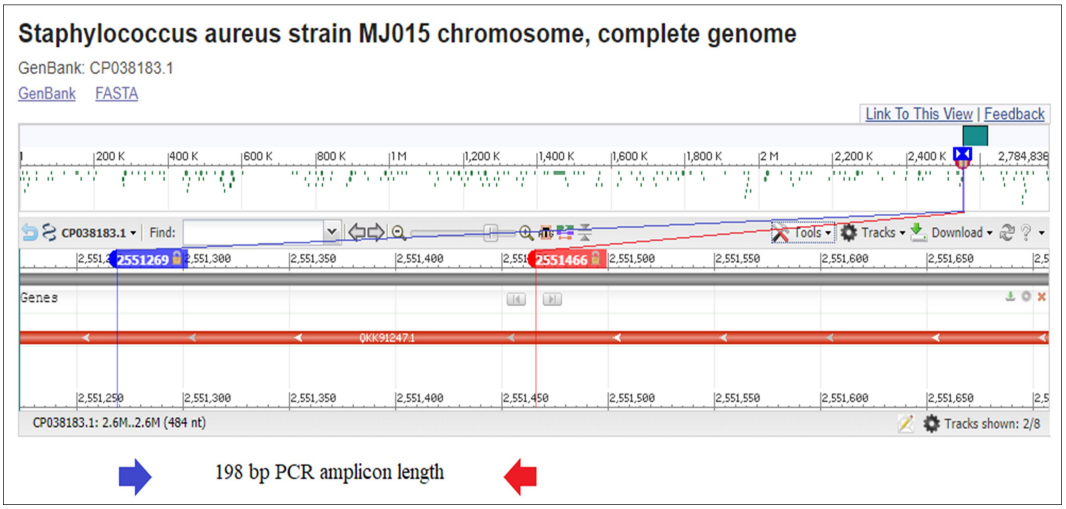


Şekil 4.8. Beş *S. aureus* yerel örneğinin clfA fragmanının genetik varyantlarının kapsamlı filogenetik ağacı. Camgöbeği üçgen rengi, analiz edilen varyantlara atıfta bulunurken, kırmızı renk, dış grup türlerinin ilgili referans dizilerine atıfta bulunur. Bahsedile

4.5.2. fnbA geni

Bu lokus içinde beş numune de yer almaktadır. Bu örnekler, *S. aureus* bakterisinin genomik dizilerindeki fnbA genetik dizilerini çoğaltmak için taranmıştır. 198 bp amplikonlarla ilgili olarak, NCBI BLASTn motoru, dizilen örnekler ve amaçlanan referans hedef diziler arasında yaklaşık% 98 ila% 99 dizi benzerliği olduğunu ortaya koymuştur. Bu araştırılan örneklerin gözlemlenen DNA dizilerini, alınan DNA dizileri

(GenBankacc. CP038183.1) ile karşılaştırarak, alınan PCR parçalarının doğru konumları ve diğer ayrıntıları tanımlanmıştır (Şekil 3.9).



Şekil 4.9. *S. aureus'un* genomik sekansları (GenBank erişim no. CP038183.1) içinde fnbA geninin bir bölümünü kısmen kaplayan geri alınan 198 bp amplikonun tam konumu. Mavi ok bu amplikonun başlangıç noktasına, kırmızı ok ise bitiş noktasına işaret eder

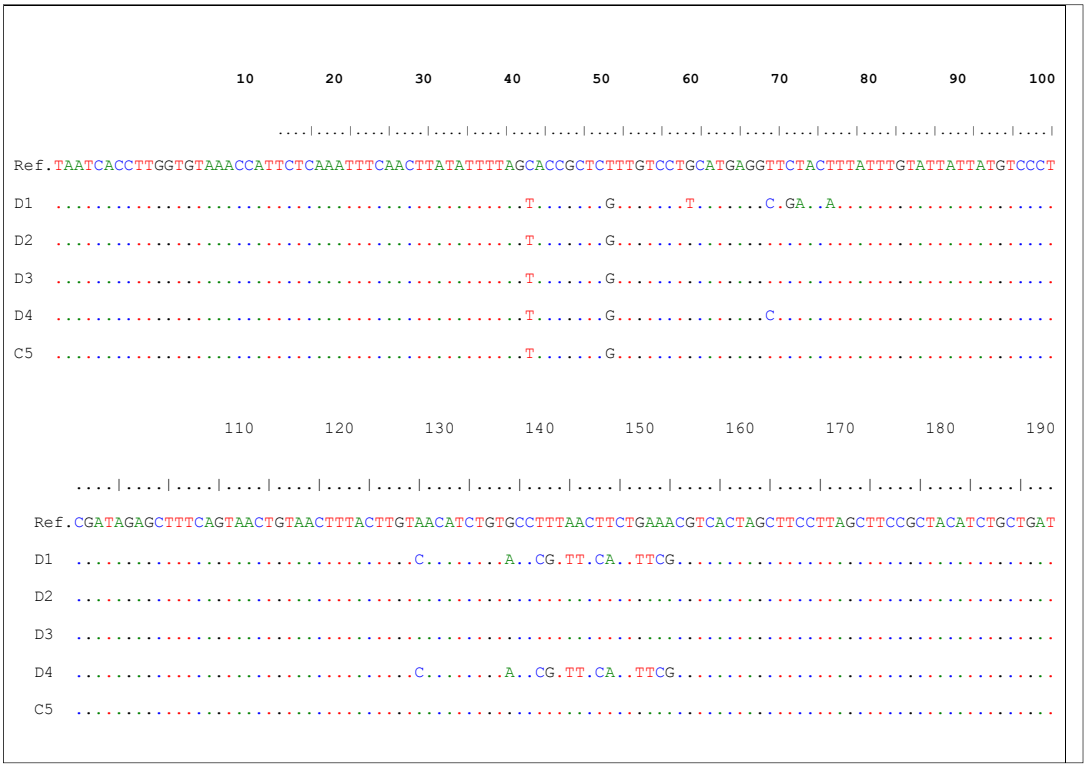
198 bp amplikon sekanslarını *S. aureus'* un genomik DNA'sına yerleştirdikten sonra, amplifiye edilmiş fragmanların hem ileri hem de ters primerlerinin konumlandırılması açısından sekanslarının ayrıntıları vurgulanmıştır (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. *S. aureus'un* genomik sekansları (GenBankacc. No. CP038183.1) içindeki fnbA geninin bir kısmını amplifiye etmek için kullanılan 198 bp PCR amplikonlarının konumu ve uzunluğu. Gri renkli diziler, sırasıyla ters ve ileri primerlerin pozisyonuna atıfta bul

Amplikon	**Referans lokus dizileri (5′ - 3′)**	**uzunluk**
DNA sequences within the *Fnba*genetic locus	***TAATCACCTTGGTGTAAACCATTCTCAAATTTC ACTTATATTT TAGCACCGCTCTTTGTCCTGCATGAGGTTCTAC TATTTGTAT TATTATGTCCCTCGATAGAGCTTTCAGTAACTG ACTTTACTT GTAACATCTGTGCCTTTAACTTCTGAAACGTCA AGCTTCCTT AGCTTCCGCTACATCTGCTGAT****	**198 bp**

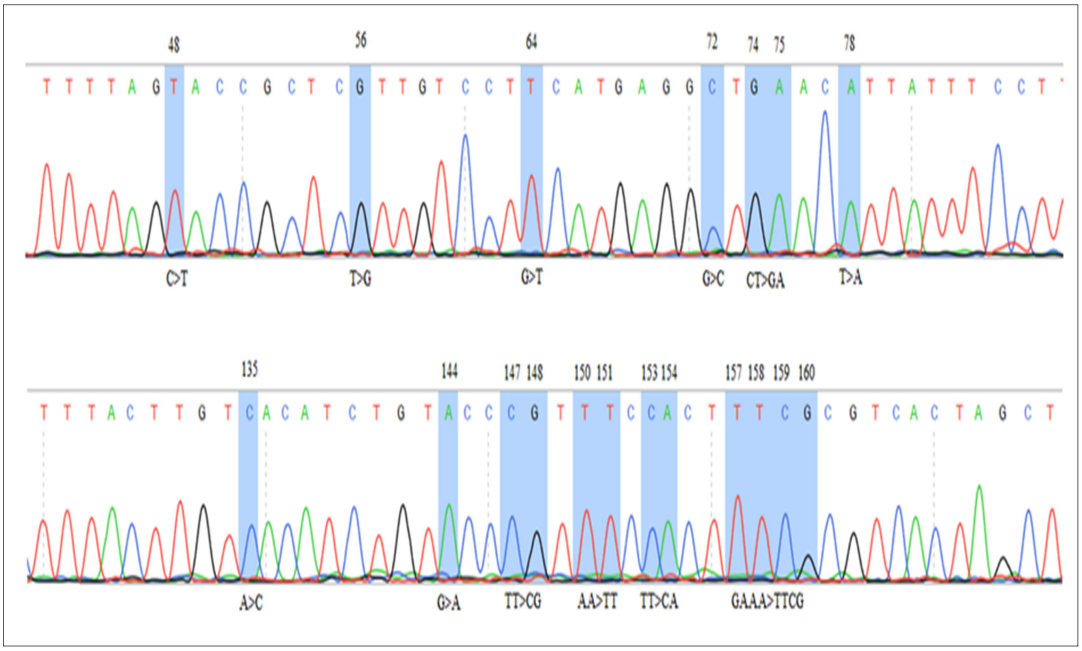
* Ters primer dizilerini ifade eder (ileri yönde yerleştirilmiş)
** İleri primer dizilerini ifade eder (ters yönde yerleştirilmiş)

Referans gösteren referans DNA dizilerine kıyasla analiz edilen örneklerin bazıları boyunca birkaç ilginç mutasyonun varlığını ortaya çıkaran 198 bp'lik numunelerin hizalama sonuçları (Şekil 4.10). Bununla birlikte, mutasyonların çoğu hem D1 hem de D4 örneklerinde lokalizedir**.**



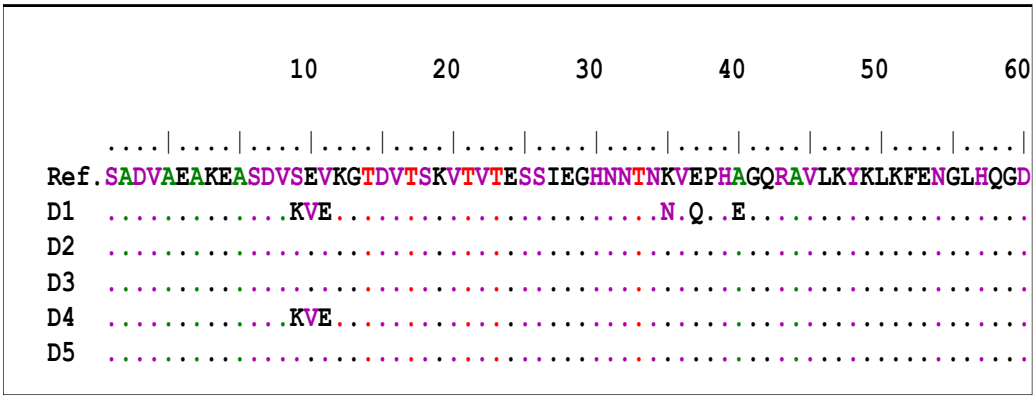
Şekil 4.10. Beş örneğin DNA dizileri, fnb A genetik DNA dizilerinin 198 bp amplikonlarının karşılık gelen referans dizileriyle hizalaması. "Ref" sembolü NCBI referans sırasına, "D" harflerine ve ardından örnek numarasına atıfta bulunan bir numaraya karşılık gelmek

Şu anda analiz edilen numunelerde tespit edildiği gibi, bir nükleik asit ikamesinde oldukça ilginç farklılıklar gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, tanımlanan varyasyon bölgesinin sekanslamakromatogramının yanı sıra ayrıntılı açıklamaları doğrulanabilir ve belgelenebilir ve bu sekansların kromatogramları, PCR amplikonlarındaki pozisyonlarına göre gösterilmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. fnbA geninin hedeflenen 198 bp amplikonlarının DNA kromatogramı içinde saptanan mutasyonların modeli. Tanımlanan ikame mutasyonları, PCR amplikonlarındaki konumlarına göre vurgulanır. ">" Sembolü, "ikame" mutasyonunu ifade eder

Gözlemlenen mutasyonlar, bu tür ikamelerin, kodlanmış Fibronektin bağlayıcı protein A'daki karşılık gelen konumlarında olası bir değişikliği tetikleyip tetiklemediğini belirlemek için ayrıca analiz edilir. Tüm nükleik asit dizileri, Expasytranslate paketi kullanılarak karşılık gelen amino asit dizilerine çevrildi. Saptanan nükleik asit ikamelerinin toplam sayısı on dokuzdur, burada dokuz yanlış mutasyon saptandı, yani 215 A> E, 212 E> Q, 210 K> N, 186 V> E, 185 E> V ve 184 S> K, diğer varyasyonların ortaya çıkan protein üzerinde sessiz etkiler verdiği bulundu (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. S. aureus örneklerinin araştırılan örneklerinde saptanan varyasyonların amino asit kalıntıları hizalaması.

Fibronektin bağlayıcı protein A içinde yanlış anlamlı mutasyon lokalizasyonu. Amino asit ikamelerinin pozisyonları, amplifiye edilmiş 198 bp loku Sıralı 198 bp fragmanlardan elde edilen tüm sonuçları özetlemek için, gözlemlenen nükleik asit ikame mutasyonunun tam konumu ve ek açıklamaları, (Çizelge 4.7) 'de gösterildiği gibi NCBI referans dizilerinde açıklanmaktadır.

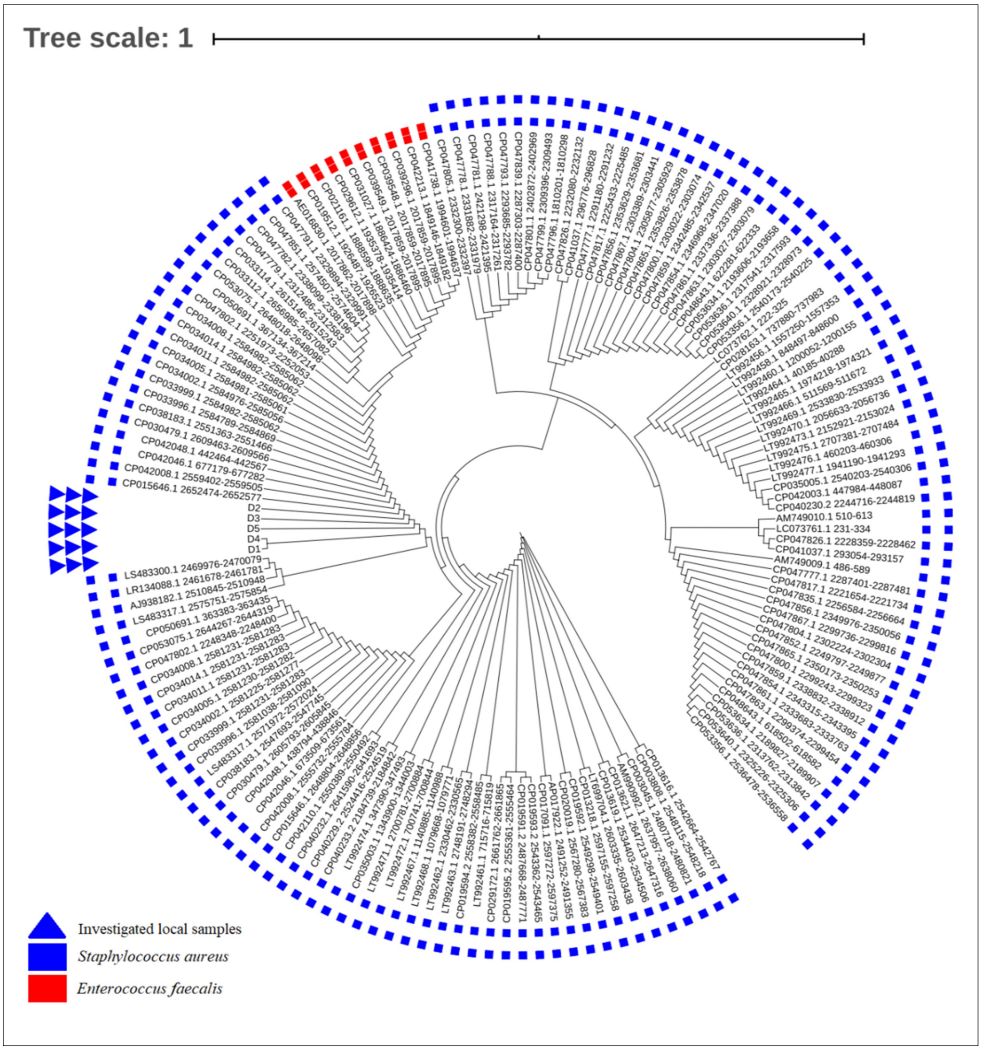
Çizelge 4.7. NCBI'ya atıfta bulunan dizilere (GenBank erişim no. CP038183.1) kıyasla fnbA geninin 198 bp amplikonlarında gözlemlenen SNP'lerin modeli."D" sembolü ve ardından incelenen numune numaralarına atıfta bulunan bir numara ile satır başında yer almaktadır

umune No.	Natif	A lel	PCR fragmanınd akikonum.	Referansgenom dakikonum	Amino asitkonu mu	Mutasyon tipi
D1, D2, D3, D4, D5	C	T	48	2551316	220 V	Sessiz (220 V=)
D1, D2, D3, D4, D5	T	G	56	2551324	218 R	Sessiz (218 R=)
D1	G	T	64	2551332	215 A	Yanlışanlam (215 A>E)
D1, D4	G	C	72	2551340	212 E	Yanlışanlam (212 E>Q)
D1, D4	CT	G A	74, 75	2551342, 2551343	213 P	Yanlışanlam (212 E>Q)
D1	T	A	78	2551345	210 K	Yanlışanlam (210 K>N)
D1, D4	A	C	135	2551403	191 V	Sessiz (191 V=)
D1, D4	G	A	144	2551412	188 G	Sessiz (188 G=)
D1, D4	TT	C G	147, 148	2551415, 2551416	187 K	Sessiz (187 K=)
D1, D4	AA	T T	150, 151	2551418, 2551419	186 V	Yanlışanlam (186 V>E)
D1, D4	GAA A	T T C G	157, 158, 159, 160	2551425, 2551426, 2551427, 2551428	185 E 184 S	Yanlışanlam (185 E>V) Yanlışanlam (184 S>K)

Bu çalışmada, gözlemlenen nükleik asit varyasyonlarına dayanan kapsamlı bir filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Bu filogenetik ağaç, diğer ilgili DNA dizilerinin yanı sıra D1 ila D 5 numunelerini içerir. Bu kapsamlı ağaçtaki hizalanmış nükleik asit sekanslarının toplam sayısı 155'ti. Ağaçta bulunan ana organizmayı temsil eden S. aureus'a ek olarak, mevcut kapsayıcı ağaca bir dış grup olarak dahil edilen diğer organizmalar da dahil edilmiştir. Enterococcusfaecalis. Dikkate değer bir şekilde,

incelenen örnekler *S. aureus* dizileri içinde yalnızca birkaç bitişik sınıfta kümelenmiştir (Şekil 4.13).

S. aureus' a ait birçok suşla incelenen örnekler arasında yüksek bir homoloji gözlemlenmiştir. Bu ağacın içine ilave organizma, ana dahil edilmiş *S. aureus* dizileriile birlikte bir dış grup olarak yerleştirilmiştir. Araştırılan tüm sekanslar açıkça *S. aureus* sınıflarında konumlandırılmıştır ve bu klinik izolatların herhangi biri için *S. aureus* 'tan belirgin bir sapma gözlenmemiştir.



Şekil 4.13. Beş *S. aureus* yerel örneğinin fnbA fragmanının genetik varyantlarının kapsamlı filogenetik ağacı. Camgöbeği üçgen rengi analiz edilen varyantlara atıfta bulunurken, diğer renkler NCBI biriktirilmiş ilgili türlere atıfta bulunur. Bahsedilen tüm numarala

4.5.3. Gen bankasına kayıt

Clf A geni, MT 890156 erişim numarası altında ulusal biyoteknoloji merkezi bilgilerinde kaydedilmiştir, fnb A geni ise MT968519 erişim numarasını taşır.

5. TARTIŞMA

5.4. Yanık ve bademcik iltihabı örneklerinden izole edilen *S. aureus* oluşumu

Mevcut çalışmanın sonuçları *S. aureus* insidansının yanık ve bademcik iltihabı örneklerinde sırasıyla 35/40 (% 87.5) ve 30/40 (% 75) olduğunu göstermiştir.

S. aureus ve özellikle metisilin direnci *S. aureus*, yanık hastalarında morbidite ve mortalitenin en önde gelen nedenidir ve halk sağlığı için bir zorluktur (Hajska ve ark., 2014).Buna ek olarak, Alghalibi ve arkadaşları (2011), *S. aureus'* un yanık hastaları arasında en sık görülen bakteri olarak kabul edilebileceğini kaydetmektedir.

S. aureus, hastanede yatan hastalarda ciddi sorunlara neden olan önemli bir bakteri olarak kabul edilebilir (Jan ve diğerleri, 2002).Bademcik iltihabı enfeksiyonunun bariz nedenlerinden biri, *S. aureus'* dur, ayrıca Gowrishankar ve diğerleri, (2013) bu fikri doğrulamaktadır, ancak *S. aureus*, *S. pyogenes* farenjit ve bademcik iltihabına kıyasla daha az sıklıkla ortaya çıkmaktadır.*S. aureus* ve *S. pneumoniae, S.pyogenes, H. influenzae ve M.catarrhalis* gibi diğer bakteri türleri, çocukların nazofaringealkolonizasyonunda tek başına veya üst solunum yolu enfeksiyonu sırasında kombinasyon halinde tanımlanmıştır (Pettigrew ve diğerleri, 2008 ve Wang ve diğerleri, 2016).Son çalışmada *S. aureus* oluşumu% 87,5'tir. Bu çalışma, yanık hastalarından izole edilen *S. aureus'* un yakın yüzdesini kaydeden komşu ülkede (İran) yürütülen çalışmalarının sonuçlarıyla mutabık kalmıştır. Örneğin: Khosravi et al., (2012); Namvar vd., (2014) ve Abbasi-Montazeri vd., (2015), oranları sırasıyla% 87.36,% 72.7 ve% 88.6 olarak bildirmiştir.

Bu çalışmada yanık örneklerinden izole edilen *S. aureus'* un yüksek görülme oranı, Babakir-Mina ve ark., (2012) tarafından Irak Kürdistan'ında (% 88) yerel olarak gerçekleştirilen çalışma yaklaşımıdır.Mevcut çalışmada hedef bakterilerin sıklığı, Irak'ta yapılan ek çalışmalara benzer şekilde, sırasıyla;% 65,3), (% 75) ve (% 67,460) (Al-Mussawi, 2014; Al-Azawi, 2013 ve Degaim ve diğerleri, 2015).Ayrıca bu yüzde Kore'deki (% 98) (Song vd., 2001) ve Çin'deki (% 98) (Yali vd., 2014) diğer çalışmalara

benzemektedir. *S. aureus'un* çeşitli coğrafi bölgelerde yanık birlikteliğindeki yüksek yaygınlık oranı, standart enfeksiyon önleme ve kontrol programlarının kötü uygulanmasından kaynaklanabilir (Bahemia ve diğerleri, 2015).Mevcut verilerde, bademcik iltihabı örneklerinden iyileşen S. aureus yüzdesi% 75'tir. Bu bakteri oranı yüksektir ve sadece% 26.66'sının bademcik iltihabı ve farenjit örneklerinden izole edilen S. aureus olarak tanımlandığını gösteren Mater vd. (2019) tarafından yapılan yerel çalışma sonuçlarıyla karşılaştırıldığında bu yükseklik göze çarpmaktadır.Banafshe ve diğerleri, (2015) yaklaşık (% 36,3) solunum yolu enfeksiyonlarından izole edilen S. aureus olarak tespit edildiğini belgelemiştir.

5.5. *S. aureus'* un yaşa göre dağılımı

Sonuçlar, *S. aureus* oranının yüksek olduğunu ve en yüksek sonuçların (≤ 10 yaş) yaş grubunda kayıt altına alındığını açıklarken, yanık ve bademcik iltihabı örneklerinde en düşük sıklığın 2 (% 2,5) ile (51-60 yaş) yaş grubundaki hastalarda görüldüğü tespit edilmiştir.

Bu yaş grubundaki (≤10) (çoğunlukla okul çocukları) *S. aureus* enfeksiyonunun artmasının bazı nedenleri, bu yaş grubundaki yetersiz beslenme ve kusurlu bağışıklık gelişimi ile ilişkili olabilir.

Ayrıca Wang vd., (2016), *S. aureus* ile en fazla enfekte olan yaş grubu okula / üniversiteye giden çocukların daha düşük bağışıklığa sahip oldukları ve solunum yolu enfeksiyonlarına karşı daha savunmasız olduğunu ve bunların zayıf, yetersiz beslenmiş ve güçsüz olduğu tespit edilmiştir. Mevcut çalışma, Abid(2015)tarafından yapılan ve (21-30) yaş grubunun en yüksek *S. aureus* enfeksiyonuna (% 35.56) sahip olduğunu belgeleyen çalışma ile uyumlu değildi,

5.6. Moleküler Teşhis

PCR testinin mevcut sonuçları yanık ve bademcik iltihabı örneklerinden iyileşen S. *aureus* izolatlarının% 82.86'sında ve% 80'inde clf A genine sahip olduğunu göstermiştir. Az miktarda bulunan fnbA geni ise% 20 ve% 16.67 olup yanıktan 7/35, tonsillit örneklerinden 5 / 30'a bölünmüştür.

Clf A ve fnbgenes, *S. aureus* 'un biyofilm oluşumuyla ilişkili ve virülansını artıran önemli genlerdir, ayrıca biyofilm formunun bakteriyel kalıcılık ve virülans ile yakından ilişkili bir karakter olduğunu öne süren Mohamed ve Huang(2007), ve birçok kronik bakteriyel enfeksiyon ve bakterinin biyofilm oluşturma yeteneği ek olarak kronik polimer bağlantılı enfeksiyona neden olur (Götz, 2004).

S. aureus tarafından biyofilm üretimi, konakçı saldırgan tepkilerine karşı savunmanın önemli unsuru olarak tanımlanmıştır. Konakçının hücrelerinin yakınında kolonize olan bakteri, konakçının bağışıklık tepkisinden ve antimikrobiyal ilaçların etkilerinden korunmak için biyofilm oluşturmaktadır (Foster, 2005).

Clf A geni, *S. aureus* patojenitesinin artmasında önemli rol oynamalıdır. Ayrıca Jiang ve diğerleri, (2018) ve Xie ve diğerleri, (2018), clf A ve hla genlerinin bu bakterinin patojenitesinde merkezi bir rol oynayabileceğini belirtti.Son çalışmanın sonuçları, clf A geninin yüksek görünümünü göstermektedir; bu, izolatların neredeyse tamamen clf A (% 100) içerdiğini gösteren Li ve diğerlerinin (2018) sonuçlarına benzer sonuçlar vermektedir.

Fnb A görünümünün mevcut sonuçları, farklı çalışmalarla karşılaştırıldığında düşüktür. Bir Yerel çalışma, bademcik iltihabı ve farenjitten izole edilen incelenen *S. aureus'* un % 59'unun fnb A genini barındırdığını gösteren Mater ve diğerleri (2019) tarafından yapılmıştır. Ayrıca, başka bir çalışmada, fnb A geninin yüksek yüzdesini kaydedilmiştir: Duran ve diğerleri (2010) neredeyse tamamen bu gene sahip olan S. aureusizolatlarınıortaya koymaktaır (% 97.7). Nashev ve diğerleri (2004), S.

aureus'unbütün izolatlarının bu gene sahip olduğunu göstermektedir. Öte yandan, Mirzaeea ve diğerleri(2015) ve Eftekhar ve diğerleri (2017), S. aureus'un yüksek oranda (% 77,8 ve% 57,1) bu geni barındırdığını göstermiştir.

Fnb geninin varlığı, insan konakçılarda biyofilm oluşturma yeteneği ve virülans mekanizması arasında neredeyse gerekli bir ilişkidir (Cha ve diğerleri, 2013).Biyofilm oluşumuna ek olarak, fnbA ve fnbB genleri, bakterilerin istila ve yapışmasına katkıda bulunur (Serray vd., 2016).Ve son veriler, fnbB geninin görülme oranlarının küçük bir yüzdesinin (% 1.89) olduğunu gösterdi.Mevcut sonuçlar, Taneike ve arkadaşları tarafından yapılan araştırma sonuçlarından farklıdır. (2006), nozokomiyal salgınlardan izole edilen tüm *S. aureus'* un fnb geninden yoksun olduğunu bildirmiştir. Arciola ve arkadaşları (2005), *S. aureus* izolatlarının yaklaşık olarak tamamının (% 99.5) bu gene sahip olduğunu belgelemiştir.

Soares ve diğerleri (2017), *S. aureus* patojenitesinin, konakçı istilası, kolonizasyonu ve enfeksiyonu ile en önemli olan çeşitli virülans faktörlerinin varlığından kaynaklandığını belgelemiştir. Ayrıca Bhati ve diğerleri (2019), clfA, clfB, fnbA ve fnb dahil olmak üzere bağlılık ilişkili genlerin oluşumunun ve clf A ve fnbA genlerinin yüzdesinin% 100 ve% 63.6 olduğunu kaydetmektedir. Çalışmanın sonuçları Abd El-Tawab ve diğerleri, (2014) tarafından yapılmış ve bu çalışmanın sonuçlarına göre yüksek oranda (% 90) clfA genini bulduğunu belgelemiştir. Sonuçlar ayrıca Tirpude ve Batra, (2012) ve Viana ve diğerleri, (2012) tarafından yapılan çalışmalarla da kabul edilmiştir.

Mevcut çalışmanın sonuçları Azmi ve ark (2019) tarafından yapılan çalışma sonuçlarından farklıdır. Clf A, fnb A genlerinin sıklığının sırasıyla% 80,2,% 78,2 olduğunu göstermektedir. Diğer çalışmalarda (Ghasemian ve ark., 2016) S. aureusizolatlarında bu genlerin oluşumunu sırasıyla 97, 64 olarak göstermiştir.

5.7. DNA Dizileme

Bu çalışmada, *S. aureus'* un iki geninin kodlama bölgelerinin genetik varyasyonları araştırılmıştır. İlk analiz edilen gen clfA genidir, bu gen, *S. aureus* hücre duvarı ile ilişkili proteinlerle ilişkili çeşitli rollere sahip olan ve bir N-terminal sekretuar sinyal dizisi, bir C-terminal motifi, bir hidrofobik duvar ve membran kapsayan alan ve pozitif yüklü bir kuyruk dahil olmak üzere bir dizi kenetleme faktörünü kodlar.Bu gen, tekrarlayan serin ve aspartik asit dipeptidlerinden (SD tekrarları) oluşan bölge R olarak bilinen bir bölgenin varlığıyla karakterize edilen anahtar öz genlerinden biridir.Bölge R, hücre duvarını kapsayan alanı benzersiz ligand bağlanma bölgesine (bölge A) bağlar.Ayrıca, clfA, serin-aspartat tekrar protein ailesi olarak bilinen daha büyük bir S. aureus proteinleri ailesinin bir üyesidir (Brien ve diğerleri, 2002).Ayrıca, baskın faktör topaklanma faktörü A, enfektifendokarditi başlatmak için önemli bir mekanizma olabilecek insan trombositagregasyonundan sorumludur (Palmqvist ve diğerleri, 2004).ClfA geni tarafından kodlanan proteinin çok yönlü rolüne dayanarak, araştırılan klinik numunelerin *S. aureus* izolatlarındaclfA gen varyasyonlarının modelini değerlendirmek ilginçtir. Bundan sonra, bu bakteri örneklerinin sonraki evrimsel ve klinik stratejisi, bu hedeflenen gende gözlemlenen nükleik asit dizilerinin modellerine göre değerlendirilebilir. Ancak bu örneklerde saptanabilir bir mutasyon gözlenmez. Buna göre, incelenen tüm C1 - C5 örnekleri, Almanya menşeli *S. aureus* dizilerine ait olan GenBank erişim numarası CP054876.1'in hemen yakınında yan yana kümelenmiştir. Bu sekanslar içinde, *S. aureus'* un birçok başka izolatı da dahil edilir ve bunlar, ister köken, izolasyonlarının pozisyonu veya diğer yönleri olsun değişken veriler sağlar.

Halihazırda araştırılan örneklerde tespit edilebilir bir genetik polimorfizm tanımlanmamasına rağmen, bu ağaç, kapsamlı ağaçtaki fiili filogenetik konumları veya bu numuneler arasındaki genetik uzaklıklar ve bir taraftaki yakın dizileri ve diğer taraftaki diğer diziler aynı ağacın içinde yer alması bakımından, analiz edilen tüm örnekler hakkında birkaç bilgilendirici veri sağlamıştır. Sonuçlarda gösterildiği gibi, incelenen tüm numunelerimiz, Almanya türü Dresden-275757'ye ait olan GenBank erişim numarası CP054876.1'in hemen yakınında bulunmaktadır.Bu suşa ek olarak,

örneklerimiz ayrıca Amerikan HQ424272.1 suşu H291 ve Danimarka CP047021.1 suşu M2024 dahil olmak üzere diğer GenBank erişim numaralarının yanında yer almıştır.Bu veriler, araştırılan örneklerimiz ile Avrupalı ve Amerikalı meslektaşları arasında son derece yüksek homolojinin varlığına ilişkin daha fazla ayrıntı gerektirir.Bununla birlikte, aynı organizmanın sekansları içinde sadece küçük varyasyonlara sahip olan tanımlanmış mutasyonlarda *S. aureus'tan* sapma yoktur. *S. argenteus'un* diğer yüksek derecede ilişkili dizileri de, bu nükleik asit varyasyonlarının araştırılan türlerden ayrılma potansiyelini değerlendirmek için bir dış grup olarak aynı ağaca dahil edilmiştir. İncelenen örneklerimiz, bu dış grup dizilerinden uzakta ayrı bir konumdadır. Ancak, incelenen tüm örneklerin kimliği sapmadan aynı türe ait oldukları için belirlenir. Ayrıca, bu kavram, bu yerel olarak incelenen örneklerin kimliğinin daha ileri bir göstergesini sağlar.Bu clf A gen tabanlı kapsamlı ağaç, bu tür genetik parçanın bu genetik parçayı kullanarak clf A örneklerini verimli bir şekilde tanımlamadaki yüksek yeteneği hakkında son derece kapsamlı bir araç sağlamıştır. Bununla birlikte, filogenetik analizimiz, bu PCR -filogenetik protokollerle ilgili en yüksek tür tespit özgüllüğünü gözlemlemektedir.Bu da, halihazırda kullanılan clfA'ya özgü primerlerin, halihazırda araştırılan suşları ve filogenetik pozisyonlarını tanımlama yeteneğinin bir başka göstergesini verir. Ayrıca, sunulan ağaç, araştırılan numunelerin aynı tespit edilen türler içinde doğru ve kapsamlı bir genetik dağılımını ve konumlandırmasını ekledi. Ayrıca, mevcut ağaç *S. aureus* dizilerinin izole edilmiş klinik örnekleri arasındaki genetik çeşitliliğin modeli için bir platform sağlamıştır. Bu çeşitlilik, cins içinde veya hatta tür düzeyinde herhangi bir sapma geliştirmemiş olsa da, mevcut araştırma, bu dizilerin bu organizmanın herhangi bir olası evrimsel değişikliğine dahil olmadığını ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, mevcut kapsamlı ağaç tüm C1 -C5 örneklerinin açık bir filogenetik konumlandırmasını sağlamıştır, çünkü tüm bu örnekler aynı *S. aureus* türünün Avrupa ve Amerikan sekanslarının hemen yakınında yer almaktadır.

FnbA geni ile ilgili olarak, *S. aureus* 'un başka herhangi bir protein veya molekülden ek destek olmadan konakçıya yapışmasını ve onu işgal etmesini sağlayan bir fibronektin bağlayıcı proteini kodlar (Roche ve diğerleri, 2004).Bu nedenle, bu kritik rol, bu oldukça önemli lokustaki moleküler varyasyonları analiz ederek araştırılmıştır. Bu nedenle, araştırılan *S. aureus* izolatlarının olası virülansındafibronektin bağlayıcı

proteindeki dizi varyasyonunun önemini alarak fnbA geninin kodlama bölgelerini keşfetmek önemli olabilir. Bu çalışmada 198 bp'lik spesifik bir PCR parçası seçilmiştir. Bu parça, fnbA geninin kodlama dizilimini kısmen güçlendirir. Bu hedeflenen amplikon, konakçı hücrelerin doğuştan gelen bağışıklığı tarafından herhangi bir olası istilayı önlemek için klinik *S. aureus* suşlarının evrimsel stratejisi üzerinde fnbA geninin kodlama dizilerindeki olası herhangi bir mutasyon modelini değerlendirmek için seçilmiştir.İlginç bir şekilde, gözlemlenen mutasyonların çoğu yalnızca D1 ve D4 örneklerinde tanımlanır, yani 220 V =, 218 R =, 212 E> Q, 212 E> Q, 191 V =, 188 G =, 187 K =, 185 E > V ve 184 S> K.Buna göre, hem D1 hem de D4 örneklerinin filogenetik konumlandırmasının değiştirilmesindeki bu varyasyonların kapsamını değerlendirmek için fnbA gen dizisi varyasyonlarına dayalı kapsamlı bir ağaç inşa edilmiştir ve diğer D2, D3 ve D5 örnekleriyle karşılaştırılmıştır. Ağaçta bulunan ana organizmayı temsil eden *S. aureus* 'a ek olarak, diğer yüksek derecede ilişkili organizmalar da bir dış grup olarak, yani Enterococcusfaecalis olarak mevcut kapsayıcı ağaca dahil edilir. FnbA geninden yola çıkarak, incelenen tüm örneklerin kimliği, başka bir türe sapmadan aynı türe ait oldukları için de belirlenir. Ayrıca, bu kapsamlı ağaç, bu yerel olarak incelenen örneklerin kimliğine ilişkin daha kapsamlı bir veri sağlanabilir. Bununla birlikte, filogenetik analizimiz, fnbA tabanlı PCR -filogenetik protokollerle ilgili en yüksek tür tespit özgüllüğünü gözlemledi.Bu veriler, halihazırda kullanılan fnbAspesifik PCR primerlerinin, *S. aureus'* un şu anda araştırılan suşları arasında ayrım yapma gücünün başka bir göstergesini verir.Dahası, mevcut ağaç, özellikle hem D1 hem de D4 örneklerinde konumlandırılan birçok yanlış ve sessiz mutasyondan kaynaklanan araştırılan örneklerin başka bir kapsayıcı filogenetik dağılımını ve konumlandırmasını sağlamıştır.İlginç bir şekilde, araştırılan örnekler S. aureus dizileri içinde dört göreceli sınıfta kümelenmiştir.Bu sınıflardan biri iki örnekten (D1 ve D4) yapılırken, diğer yakın sınıf üç örnekten (D2, D3 ve D5) yapılır. Aslında, hem D1 hem de D4'ün aynı sınıfta konumlandırılmasının nedeni, ikisi arasında paylaşılan mutasyonlarda dokuzun varlığına aitti. Bu nedenle, hem D1 hem de D4, şu anda inşa edilmiş ağaçta bir kuşak işgal etmektedir. Bu sınıfın diğer üç sınıf D2, D3 ve D5'in yanında yakın konumlandırılmasına ek olarak, aynı ağaçta yer alan birkaç referans dizisinin yakınına da konumlandırılmıştır.D1 ve D4 örneklerinin iki örnek sınıfının, her ikisi de İngiliz S.aureus dizilerine ait olan LS483300.1 ve LR134088.1 GenBank erişim numaralarının

yakınında bulunduğu bulunmuştur.Ayrıca, aynı organizmanın İrlandalı ve İngiliz suşlarına ait olduğu bulunan AJ938182.1 ve LS483317.1'in iki GenBank erişim numarasıyla bu sınıfın başka bir yakın konumu da gözlemlenmiştir.Oysa D2, D3 ve D5'in diğer üç sınıfı, S. aureus dizilerine ait olan ve Almanya'dan sunulan GenBank erişim numarası CP015646.1'in hemen yakınında bulunur.Tüm bu veriler, incelenen numunelerimizin aynı analiz edilen organizmanın Avrupa dizileri ile net bir homolojisini göstermiştir.Bu üç D2, D3 ve D5 sınıfındaki bu hafif sapma, bu örnekte birkaç saptanabilir mutasyonun varlığına atfedilir.Tüm bu örnekler yalnızca S. aureus dizileri içinde konumlanmıştır.Bu gözlemler, hem D1 hem de D4'te saptanan mutasyonların, bu bakteriyel izolatların evrimsel konumlarını bu gelişmiş kapsamlı ağaçta başka bir genetik konuma değiştirme potansiyelini ortaya koymuştur.Başka bir deyişle, bu sessiz ve yanlış mutasyonların (220 V=, 218 R=, 212 E>Q, 212 E>Q, 191 V=, 188 G=, 187 K=, 185 E>V, and 184 S>K) olduğunuaçıklamak mümkün olabilir. Konakçı endotel hücrelerinin doğal bağışıklığına karşı D1 ve D4 örneklerinin adaptasyon stratejisini değiştirmede açık bir rol sergiler.ClfA geninin aksine, fnbA gen ağacı, klinik S. aureus izolatlarının konağın bağışıklığına dayanma kabiliyetinin evrimsel açıklamasında daha etkilidir.Bu açıklama, mutasyonların çoğunluğunun yalnızca bir kuşakta konumlandırılmış iki bakteri izolatındaki kümelenmesinden gelirken, diğer üç D2, D3 ve D5 numunesi diğer filogenetik konumlarda bulunur.D1 ve D4 örneklerinin bu yakın konumlandırılması, bu bakteriyel izolatların hücresel konakçı bağışıklığın istilasına karşı adaptasyonlarında izledikleri belirli stratejilerle ilişkilendirilebilir (Barroso-Batista ve diğerleri, 2015).Bu mutasyonların evrimsel hayati önemine ek olarak, fnbAlokusunda gözlemlenen bu varyasyonların klinik sonuçları da göz ardı edilemez. Bu veriler, araştırılan diğer üç örnekten farklı olabilecek D1 ve D4 örnekleriyle enfeksiyonun bazı olası sonuçlarını önermektedir. Bu nedenle, D1 ve D4 olası patogenezinin genetik temeli, diğer D2, D3 ve D5 örneklerinde bildirilenlerden farklı olabilir. ClfA gen tabanlı ağacın aksine, fnbA gen tabanlı ağacın D1 - D5 örneklerini farklı filogenetik kuşaklara verimli bir şekilde alt bölümlere ayırma yeteneği nedeniyle daha bilgilendirici genetik ayrıntılar tanımlanır. Bununla birlikte, mevcut gözlemler, analiz edilen S. aureus örneklerinde bilgilendirici filogenetik değişiklik oluşturmada gözlemlenen fnbA varyasyonlarının saptanan mutasyonlarının farklı bir rolünü göstermiştir.Bu varyasyonların birçok klinik açıdan çeşitli etkileri olabilir. Bu

gözlemler, fnbA geni temelli ağaçta bulunmuştur, S. aureus ile endotelyal konakçı bağışıklığı arasındaki ilişkiyi açıklamak için daha bilgilendirici veriler sağlar.

Yukarıda bahsedilen açıklamadan, fnbA gen bazlı analizinin, şu anda araştırılmakta olan örneklerin konakla etkileşiminin filogenetik açıklamasında clfA genine dayalı olanlara göre daha verimli olduğu düşünülebilir. Bunun nedeni, şu anda analiz edilen izolatlardakifnbAgene'nin yüksek değişkenliğidir. Bu nedenle, fnbA gen bazlı ağaç, S. *aureus*'un klinik örneklerinin moleküler varyasyonlarını tanımlamak için fnbA genini araştırmak mümkün olabilecek şekilde yüksek filogenetik doğruluk sağlamıştır. Bu nedenle, bu çalışma, bu fnbA geni temelli parçayı S. aureus dizilerinin genetik yapısını keşfetmek için önermektedir bununla birlikte, aynı klinik kaynaklardan izole edilen diğer bakteri örneklerinde bulunandan farklı olan hem D1 hem de D4 izolatlarının özel bir adaptasyonunu önerebilir.Bu nedenle, fnbA geninin genetik varyasyonu, değiştirilmiş fibronektin bağlayıcı protein A'nın bu izole edilmiş bakteri numuneleri yoluyla olası uyarlamalarından biri, konağın direnciyle karşılaşabileceğinden önerilmektedir.

6. SONUÇ GVE ÖNERİLER

1. *S. aureus,* yanık ve bademcik iltihabı enfeksiyonlarında tekrar tekrar görülen en büyük bakteri türlerinden biridir.
2. *S. aureus* virülans faktörleri, bu izolatlarınpatojenitesini arttırmakla ilişkilendirilmiştir.
3. Hastanelerde enfeksiyon kaynağı olarak kabul edilebilecek diğer bakteri türlerinin tespiti için daha ileri çalışmalar önerilmektedir.
4. Bu bakterinin diğer virülans faktörlerinin saptanması.
5. Daha saflaştırılmış antijenler kullanarak *S. aureus* aşısının geliştirilmesi için daha fazla araştırma yapılması önerilir.
6. Aşılama için monoklonal antikor hazırlanması.

7. KAYNAKLAR

ABA: American Burn Association. (2000). Burn incidence and treatment in the US: 2000 fact sheet. http://www.ameriburn.org. [Online].

Abd El-Tawab, A., Maarouf, A. A., Fatma, I., El-Hofy, F. I., Khalil, A. O. (2014). Detection of some virulence genes of *staphylococcus aureus* isolated from rabbits by polymerase chain Reaction.*Benha. Veter. Med. J*. **27**(2):58-69.

Abid, A. N. (2015). Serological Diagnosis and Molecular Detection of Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from burn patients in Al-Hussein Teching Hospital at Thi-Qar Province. M.Sc. Thesis. College of Science/ Thi-Qar University. Iraq.

Abraham, N. M., Jefferson, K. K. (2010). A low molecular weight component of serum inhibits biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. *J. Microb. Pathog*. **49** (6):388–391.

Afrough, P., Pourmand, MR., Zeinalinia, N., Yousefi, M., Abdossamadi, Z., Yazdchi, S. (2012). Molecular typing of clinical and nasal carriage isolates of *staphylococcus aureus* by *spa* gene patterns. *J. Mazand. Univ. Med.* **22**:28-34.

Al-Azawi, I.H.S. (2013). Antibiotic susceptibility pattern and *mec* A gene detection in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from burn and wound in Al-Diwaniya city. *J. Babyl. Univ.*, *Pure appl. sci.*.**21**(3): 917-926.

Alexander, E.H., Hudson, M.C. (2001) Factors influencing the internalization of *Staphylococcus aureus* and impacts on the course of infections in humans. *J. Appl. Microbiol. Biotechnol*. **56**: 361–366.

Alghalibi, S. M. S., Humaid, A. A., Alshaibani, E. A. S., Alhamzy, E. H. L. (2011). Microorganisms associated with burn wound infection in Sanaa, Yemen. Egypt. *Acad. J. Biol. Sci*. **3**(1): 19-25.

Al-Mussawi, A.A. (2014). Detection of *Staphylococcus aureus* and Methicillin

Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from human clinical specimens using conventional biochemical tests and chromogenic media. *Indi. J. Appl. Rese.* **4** (2):7-9.

Arciola,. CR.,, Campoccia D., Gamberini, S., Baldassarri, L., Montanaro, L. (2005). Prevalence of *cna, fnbA and fnbB* adhesin genes among *Staphylococcus aureus* isolates from orthopedic infections associated to different types of implant. *FEMS. Microbiol. Lett*. **246**: 81-86.

Argudin, M. A., Mendoza, M. C., Rodicio, M. R. (2010). Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *J. Toxins*. **2**: 1751-1773.

Aslantaş, O., Demir, C. (2016). Investigation of the antibiotic resistance and biofilm-forming ability of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis cases. *J. Dairy Sci*. **99**:8607–8613.

Atkins, K. L., Burman, J. D., Chamberlain, E. S., Cooper, J. E., Poutrel, B., Bagby, S., *et al*. (2008). *S. aureus* IgG-binding proteins SpA and Sbi: host specificity and mechanisms of immune complex formation. *J. Mol. Immunol*. **45**:1600–1611.

Azmi, K., Qrei, W., Abdeen, Z. (2019). Screening of genes encoding adhesion factors and biofilm production in methicillin resistant strains of *Staphylococcus aureus* isolated from Palestinian patients. *J. BMC Genomics*. **20**:578

Babakir-Mina, M., Othman, N., Najmuldeen, H.H., Noori, C.K., Fatah, C.F., Perno, C.F. (2012). Antibiotic susceptibility of vancomyin and nitrofurantoin in

Staphylococcusaureus isolated from burnt patients in Sulaimaniyah, Iraqi Kurdistan. *J. New Microbiol.***35**(4):439–446.

Bahemia, I.A., Muganza, A., Moore, R., Sahid, F., Menezes, C.N. (2015). Microbiology and antibiotic resistance in severe burns patients: A 5 year review in an adult burns unit. *J. Burns.***41**(7):1536–1542.

Banafshe, D., Soheila, S., Ebrahim, K., Ladan, A. (2015) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from various types of hospital infections in pediatrics: Panton-valentine leukocidin, *Staphylococcal* chromosomal cassette mec SCCmec phenotypes and antibiotic resistance properties. *Jundishapur J. Microbiol*. **8**(11): e11341.

Barret, J. P., Herndon, D. N. (2003). Effects of burn wound excision on bacterial colonization and invasion. *J. Plast. Reconstr. Surg*. **111**:744–750.

Barroso-Batista, J., Demengeot, J., Gordo, I. (2015). Adaptive immunity increases the pace and predictability of evolutionary change in commensal gut bacteria. *J. Nature communications***. 6:**8945.

Barski, P., Piechowicz, L.,, Galinski J., Kur, J. (1996). Rapid assay for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using multiplex PCR. *J. Mol. Cell. Probes.***10**:471-475.

Benson, J. H. (2001). Microbiological Applications: Laboratory Manual in General Microbiology. (8thed). McGraw-Hill Higher Education. New York.

Bhati, T., Gaurav, K.; Choudhary, S., Kataria, A. K. (2019). Molecular detection of some virulence genes of *Staphylococcus aureus* isolates associated with bovine mastitis in Arid and Semi-Arid regions of India. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.***8**(11): 2350-2362.

Boswihi, S.S., Udo, E.E. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an update on the epidemiology, treatment options and infection control. *J. Curr. Med. Res. Pract*. **8**:18–24.

Brien, O., Kerrigan, L., Kaw, S. W., Hogan, G., Penadés, M. J., Cox, D. (2002). Multiple mechanisms for the activation of human platelet aggregation by *Staphylococcus aureus*: roles for the clumping factors *ClfA* and *ClfB*, the serine–aspartate repeat protein *SdrE* and protein A. *J. Mole. Microbio*. **44**(4): 1033-1044.

Brooks, G. F., Caroll, K C., Morse, S. A. (2007). *Staphylococcus* (Jawetz). Melnick and Adelberg's, Medical Microbiology. (24thed). The McGraw-Hill. New York.

Carroll, K C., Hobden, J. A., Miller, S., Morse, S .A., Mietzner, T. A., Detrick, B., Mitchell, T. G., McKerrow, J. H., Sakanari, J. A. (2016). Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology. (27thed.). The McGraw-Hill companies.

Cha, J.O., Yoo, J.I., Yoo, J.S., Chung, H.S., Park, S.H., Kim, H.S., Lee, Y.S., Chung, G.T. (2013). Investigation of Biofilm Formation and its Association with the Molecular and Clinical Characteristics of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Osong. Public. Health. Res. Perspect*. **4**: 225-232.

Chen, X., Yang, H.H., Huangfu, Y.C., Wang, W.K., Liu, Y., Ni, Y.X., Han, L.Z. (2012). Molecular epidemiologic analysis of *Staphylococcus aureus* isolated from four burn centers. *J. Burns*. **38**(5):738–742.

Chen, K., Huang, Y., Song, Q., Song, Q., Chen, X., Zeng, L. (2017). Drug-resistance dynamics of *Staphylococcusaureus* between 2008 and 2014 at a tertiary teaching hospital, Jiangxi Province, China. *J. BMC. Infect. Dis*. **17**(1):97.

Chen, K., Lin, S., Li, P., Song, Q., Luo, D., Liu, T., Zeng, L., Zhang, W. (2018). Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from patients with burns in a regional burn center, Southeastern China. *J. BMC. Infect.Dis*. **18**:51.

Cheung, A. L., Bayer, A. S., Zhang, G., Gresham, H., Xiong, Y.-Q. (2004). Regulation of virulence determinants *in vitro* and *in vivo* in *Staphylococcus aureus*. *J. FEMS. Immunol. Med. Microbiol*. **40**:1–9.

Church, D., Elsayed S., Reid, O., Winston, B., Lindsay, R. (2006). Burn wound infections. *J. Clin. Microbiol. Rev.***19**:403–434.

Clark, N.M., Patterson, J., Lynch, J.P. (2003). Antimicrobial resistance among gram-negative organisms in the intensive care unit. *J. Curr. Opin. Crit. Care.* **9**:413–423.

Clarke, S.R., Foster, S.J. (2006). Surface adhesins of *Staphylococcus aureus*. *J. Adv. Microb. Physiol*. **51**: 187-224.

Collee, J. G., Franser, A. G., Mormion, B. P., Simmons, A. (1996). Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology. (14thed). Churchill Livingstone. New York.

Cramton, S. E., Gerke, C., Schnell, N. F., Nichols, W. W., Gotz, F. (1999). The intercellular adhesion (*ica*) locus is present in *Staphylococcus aureus* and is required for biofilm formation. *J. Infect. Immun.***67**: 5427–5433.

De, L. H., Oliveira, D., Tomasz, A. (2007). Antibiotic resistant *Staphylococcus aureus*: a paradigm of adaptive power. *J. Curr. Opin. Microbiol*. **10**: 428-435.

Degaim, Z. D., Shani, W. S., Hamim, S. S. (2015). Virulence factors of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from burn patients. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*. **4**(7): 898-906.

De Rosa, F.G., Corcione, S., Motta, I., *et al*. (2016). Risk factors for mortality in patients with *Staphylococcus aureus* bloodstream infection. *J. Chemother.* **28**:187–190.

Dominiecki, M. E., Weiss, J. (1999). Antibacterial Action of Extracellular Mammalian Group IIA Phospholipase A2 against Grossly Clumped *Staphylococcus aureus*. *J. Infec.Immun*. **67**(5): 2299-2305.

Donlan, R.M., Costerton, J.W. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *J. Clin. Microbiol. Rev*. **15**: 167-193.

Duran, N., Dogramaci, Y. Ozer, B., Demir, C., Kalaci, A. (2010). Detection of adhesin genes and slime production among Staphylococci in orthopaedic surgical wounds. *J. Afric. Microb. Res*. **4** (9): 708-715.

Edwards, R., Harding, K. G. (2004). Bacteria and wound healing. *J. Curr. Opin. Infect. Dis.***17**:91–96.

Eftekhar, F., Rezaee, R., Azad, M., Azimi, H., Goudarzi, H., Goudarzi, M. (2017). Distribution of adhesion and toxin genes in *Staphylococcus aureus* strains recovered from Hospitalized patients admitted to the ICU. *J. Arch Pediatr. J. Infect. Dis*. **5**(1):e39349.

Foster, T. J. (2004). The *Staphylococcus aureus* "superbug." *J. Clin. Investig*. **114**:1693–1696.

Foster, T. J. (2005). Immune evasion by staphylococci. *J. Nat. Rev. Microbiol*. **3**(12): 948–958.

Foster, T.J., Geoghegan, J.A., Ganesh, V.K., Höök, M. (2014). Adhesion, invasion and evasion: The many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. *J. Nat. Rev. Microbiol*. **12**:49–62.

Gamelli, R.L., He, L.K., Liu, H. (1994). Marrow granulocyte-macrophage progenitor cell response to burn injury as modified by endotoxin and indomethacin. *J. Trauma.***37**:339–346.

George, M. G., Belland, J. A., Timothy, G. L. (2004). Taxonomic outline of the prokaryotes bergey's manual of systematic bacteriology, (2th ed) release. **5** (399): 24-187.

Ghasemian, A., Najar Peerayeh, S., Bakhshi, B., Mirzaee, M. (2015). Several Virulence Factors of Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates From Hospitalized Patients in Tehran. *Intern. J. Enter. Pathog.***3**(2).

Ghasemian, A., Najar Peerayeh, S., Bakhshi, B., Mirzaee, M. (2016). Comparison of biofilm formation between methicillin-resistant and methicillin-susceptible isolates of *Staphylococcus aureus*. *Iran. Biomed. J*. **20**(3):175–181.

Ghasemian, A., Peerayeh, S.N., Bakhshi, B., Mirzaee, M. (2015). The microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules (MSCRAMMs) genes among clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from hospitalized children. *Iran. J. Pathol*. **10**:258-264.

Gorwitz, R J., Kruszon-Moran, D., McAllister, S K., McQuillan, G., McDougal, L. K., Fosheim, G. E., Jensen, B. J., Killgore, G., Fred, C., Tenover, F. C., Kuehnert, M. J. (2008). Changes in the prevalence of nasal colonization with *Staphylococcus aureus* in the United States, 2001-2004. *J. Infect. Dis.*, **197**:1226-1234.

Götz, F. (2004) Staphylococci in colonization and disease: prospective targets for drugs and vaccines. *J. Curr. Opin. Microbiol*. **7**: 477-487.

Goudarzi, M., Goudarzi, H., Sa Figueiredo, A.M., Udo, E.E., Fazeli, M., Asadzadeh, M., *et al*. (2016). Molecular Characterization of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from intensive Care Units in Iran: ST22-SCCmec IV/t790 Emerges as the Major Clone. *J. PLoS One.***11**(5):0155529.

Gowrishankar, S., Kamaladevi, A., Balamurugan, K., Pandian, S. K. (2016). *In vitro* and *In vivo* biofilm characterization of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* from patients associated with pharyngitis infection. *J. Bio. Med. Res. Intern*.1-14.

Gresham, H. D., Lowrance, J. H., Caver, T. E., Bridget S. Wilson, B. S., Cheung, A. L., Lindberget, F. P. (2000). Survival of *Staphylococcus aureus* inside neutrophils contributes to infection. *J. Immunol*. **164**:3713–3722.

Hair, P. S., Ward, M. D., Semmes, O. J., Foster, T. J., Cunnion, K. M. (2008). *Staphylococcus aureus* clumping factor A binds to complement regulator factor I and increases factor I cleavage of C3b. *J. Infect. Dis*. **198**:125–133.

Hajska, M., Slobodnikova,. L., Hupkova, H., Koller, J. (2014). *In vitro* efficacy of various topical antimicrobial agents in different time periods from contamination to application against 6 multidrug-resistant bacterial strains isolated from burn patients. *J. Burns.***40**(4):713–718.

Hall, T.A. (1999). Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98nt. Nucl Acids Symb ser. **41**: 95-98.

Harley, J. P., Prescott, L. M. (2002). Laboratory Exercises in Microbiology. (5thed). The McGraw-Hill Companies, Inc., New York.

Harro, JM., Peters, BM., O'May, GA., Archer, N., Kerns, P., Prabhakara, R., *et al*., (2010). Vaccine development in *Staphylococcus aureus*: taking the biofilm phenotype into consideration. *J. FEMS Immunol Med Microbiol.*,**59**:306–323.

Herrera, F. C., Garcia-Lopez, M. L., Santos, J. A. (2016). Short communication: Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk fresh cheese in Colombia. *J. Dairy. Sci.***99**:7872–7876.

Higgins, J., Loughman, A., van Kessel, K. P. M., van Strijp, J. A. G., Foster, T. J. (2006). Clumping factor A of *Staphylococcus aureus* inhibits phagocytosis by human polymorphonuclear leucocytes. *J. FEMS. Microbiol. Lett*. 258: 290-296.

Higgins, J., Loughman, A., van Kessel, K.P., van Strijp, J.A., Foster, T. J. (2006). Clumping factor A of *Staphylococcus aureus* inhibits phagocytosis by human polymorphonuclear leucocytes. *J. FEMS. Microbiol. Lett*. **258**: 290-296.

Holban, A., Cotar, A C., Chifiriuc, M. C., Bleotu, C., Banu, O., Lazar, V. (2013). Variation of virulence profiles in some *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* stains isolated from different clinical patients, African. *J. Microbiol. Res*., **7**: 3453-3460.

Holmes, A., Ganner, M., McGuane, S., Pitt, T.L., Cookson, B.D., Kearns, A.M. (2005). *Staphylococcus aureus* isolates carrying Panton-Valentine leucocidin genes in England and Wales: frequency, characterization, and association with clinical disease. *J. Clin. Microbiol*. **43**(5):2384–2390.

Hussein, T.H., Al-Shuhaib, M.B.S., Al-Thuwaini, T.M.(2020). Potential mitochondrial diversity role in the productivity of three lines of Japanese quails. *J. Biodiversitas*. **21**(5): 2258-2265. doi: 10.13057/biodiv/d210556

Issler-Fisher, A.C., Mckew, G., Fisher, O.M., Harish, V., Gottlieb, T., Maitz, P.K. (2015). Risk factors for, and the effect of MRSA colonization on the clinical outcomes of severely burnt patients. *J. Burns*. **41**(6):1212–1220.

Jackson, K., Keyser, R., Wozniak, D.J. (2003). The role of biofilms in airway disease. *J. Semin. Respir. Crit. Care. Med*. **24**: 663–670.

Jackson, P.C., Hardwicke, J., Bamford, A., Nightingale, P., Wilson, Y., Papini, R., *et al*. (2014). Revised estimates of mortality from the Birmingham Burn Centre, 2001–2010: a continuing analysis over 65 years, *J. Ann. Surg.***259** (5): 979–984.

Jan, M.B., Turnidge, J.D., Sentry, A. (2002) High prevalence of Oxacillin-resistant *S. aureus* isolates for hospitalized patients in Asia-Pacific and South Africa. The sentry antimicrobial surveillance program, 1998-1999. *J. Antimicrob Chemother*. **46**(3): 879-887.

Jasem, M A., Mahmood, A E., Shanyoor, G J., Al-Newani1, H R., Al-Bahadly, A B. (2018). The most frequent bacterial infections in burn injuries at burn units of two hospitals in Baghdad. *Iraq. J. Public Health*. **2**:1.

Jiang, B., Yin, S., You, B., *et al*. (2018). Antimicrobial resistance and virulence genes profiling of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in a burn center: a 5-year study. *J. Microb. Pathog*.**114**:176–179.

Joh, D., Wann, E.R., Kreikemeyer, B., Speziale, P., Höök, M. (1999). Role of fibronectin-binding MSCRAMMs in bacterial adherence and entry into mammalian cells. *J. Matrix Biol*. **18**:211-223.

Karchmer, A.W. (2004). Increased antibiotic resistance in respiratory tract pathogens: PROTEKT US—an update. *J. Clin. Infect. Dis. Publ. Infect. Dis. Soc. Am*. **39**:S142–S150.

Keane, F. M., Clarke, A. W., Foster, T. J., Weiss, A. S. (2007). The N-terminal A domain of *Staphylococcus aureus* fibronectin-binding protein A binds to tropoelastin. *J. Biochem*. **46**(24), 7226-7232.

Klein, E., Smith, D.L., Laxminarayan, R. (2007). Hospitalizations and deaths caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, United States, 1999–2005. *J. Emerg.Infect. Dis*.**13**: 1840–1846.

Kocaturk, S., Demiray, T., Incesulu, A., Kandirali, E., Erkam, U., Mert, A. (2003). Comparison of adenoid and tonsil core cultures in chronic adeno-tonsillitis. *J. Kulak burunbogazihtisderg*. Mar., **10** (3): 105-109.

Keren, I., Kaldalu, N., Spoering, A., Wang, Y., Lewis, K. (2004). Persister cells and tolerance to antimicrobials. *J. FEMS. Microbiol. Lett*. **230**:13-18.

Khosravi, A.D., Hoveizavi, H., Farshadzadeh, Z. (2012). The prevalence of genes encoding leukocidins in *Staphylococcus aureus* strains resistant and sensitive to methicillin isolated from burn patients in Taleghani Hospital, Ahvaz, Iran. *J. Burns*.**38**(2):247–251.

Kim, H.K., Emolo, C., DeDent, A.C., Falugi, F., Missiakas, D.M., Schneewind, O. (2012). Protein A-specific monoclonal antibodies and prevention of *Staphylococcus aureus* disease in mice. *J. Infect. Immun*., 80: 3460-3470

Kot, B., Sytykiewicz, H., Sprawka, I. (2018). Expression of the biofilm-associated genes in methicillin-resistant *Staphylococcusaureus* in biofilm and planktonic conditions. *Int. J. Mol. Sci.***19**:pp: E3487.

Kouyos, R., Klein, E., Grenfell, B., (2013). Hospital-Community Interactions Foster Coexistence between Methicillin-Resistant Strains of *Staphylococcusaureus*. *J. PLoS Pathog.***9**: e1003134.

Lederer, J.A., Rodrick, M.L., Mannick, J.A. (1999). The effects of injury on the adaptive immune response. *J. Shock*. **11**:153–159.

Letunic, I, Bork, P. (2019). Interactive Tree Of Life (iTOL) v4: recent updates and new developments. Nucleic Acids Res. 2; 47(W1): W256–W259.

Li, X., Fanga, F., Zhaoa, J., Loua, N., Li, C., Huangc, T., Li, Y. (2018). Molecular characteristics and virulence gene profiles of *Staphylococcus aureus* causing bloodstream infection. *Braz. J. infect. Dis*. **22**(6):487–494.

Lindsay, J.A., Holden, M.T. (2004). *Staphylococcus aureus*: superbug, super genome? Trends. *J. Microbiol*. **12**:378 –385.

Mahon Cannie R, Manuselis George Maselis, Lehman DC. (2000). Textbook of diagnostic microbiology: 2th ed Sanders company.; 81-82:330-341.

Mater, A. D., Degaim, Z. D., Abdulazeez, A. S. (2019). Detection of Fibronectin Binding Protein (*fnb* A) gene in *Staphylococcus aureus* isolates. *Uni. Thi-Qar. J*. **14**(1): 10-16.

Mathanraj, S., Sujatha, S., Sivasangeetha, K., Parija S. C. (2009). Screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriers among patients and health care workers of a tertiary care hospital in south India. *Indian. J. Med. Microbiol*. **27**: 62-64.

McAdow, M. *et al*., (2011). Preventing *Staphylococcus aureus* sepsis through the inhibition of its agglutination in blood. *J. PLoS. Pathog*. **7**:e1002307.

Memon, J., Yang, Y., Kashif, J., Yaqoob, M., Buriro, R., *et al.* (2013). Genotypes, virulence factors and antimicrobial resistance genes of *Staphylococcus aureus* isolated in bovine subclinical mastitis from Eastern China. *Pak. Vet. J.***33** (4): 486-491.

Miller, L.G., Diep, B.A. (2008). Clinical practice: colonization, fomites, and virulence: rethinking the pathogenesis of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *J. Clinic. Infect. Dis*. **46**: 752–760.

Mirzaeea, M., Peerayeha, S. N., Behmanesh, M. (2015). Prevalence of fibronectin binding protein (*Fnb* A and *Fnb* B) genes among clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Mol. Gene. Microb. Viro*. **30** (4): 221–224.

Mohamed, J.A., Huang, D.B. (2007). Biofilm formation by enterococci. *J. Med. Microbiol.* **56**: 1581-1588.

Montazeri, E.A., Khosravi, A.D., Jolodar, A., Ghaderpanah, M., Azarpira, S. (2015). Identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains isolated from burn patients by multiplex PCR. *J. Burns.***41**(3):590–594.

Moormeier, D. E., Bose, J. L., Horswill, A. R., Bayles, K. W. (2014). Temporal and stochastic control of *Staphylococcus aureus* biofilm development. *MBio*, **5**: e01341-14.

Mulcahy, M.E., McLoughlin, R.M. (2016). Host–bacterial crosstalk determines *Staphylococcus aureus* nasal colonization. *J. Trends. Microbiol*. **24:** 872–886.

Namvar, A.E., Asghari, B., Ezzatifar, F., Azizi, G., Lari, A.R. (2013). Detection of the intercellular adhesion gene cluster *(ica)* in clinical *Staphylococcus aureus* isolates. *J. GMS. Hyg. Infect .Control*. **8**:Doc03.

Namvar, A. E., Afshar, M., Asghari, B., Rastegar Lari, A. (2014). Characterization of SCCmec elements in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from burn patients. *J. Burns.***40**(4):708–712.

Nashev, D., Toshkova, K., Salasia, I. O. Hassan, A., L€ammler, C., Zsch€ock, M. (2004). Distribution of virulence genes of *Staphylococcus aureus* isolated from stable nasal carriers. *J. FEMS. Microb. Lett*. **233**:45–52.

Nasser, S., Mabrouk, A., Maher, A. (2003). Colonization of burn wounds in Ain Shams University burn unit. *J. Burns.***29**:229–233.

Navidinia, M., Fallah, F., Lajevardi, B., Shirdoost, M., Jamali, J. (2015). Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated From Health Care Providers in Mofid Children Hospital. *J. Arch. Pediatr. Infect. Dis.***3**(2).

Ndip, R.N., Ntiege, E.A., Ndip, L.M., Akoachere, J.F.T., Akenji, T.N. (2009). Antimicrobial resistance of bacterial agents of the upper respiratory tract of school children in Buea, Cameroon. *J. Health Popul. Nutr*. **26**:397–404.

Neely, C.J., Kartchner, L.B., Mendoza, A.E., *et al*. (2014). Flagellin treatment prevents increased susceptibility to systemic bacterial infection after injury by inhibiting anti-inflammatory IL-10+ IL-12- neutrophil polarization. *J. PLoS. One*. **9**:e85623.

Nezhad, R..R, Meybodi, S.M., Rezaee, R., Goudarzi, M., Fazeli, M. (2017). Molecular Characterization and Resistance Profile of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Hospitalized Patients in Intensive Care Unit, Tehran-Iran. *Jundishapur. J. Microbiol*. **10**(3): e41666.

Norbury, W., Herndon, D.N., Tanksley, J., Jeschke, M.G., Finnerty, C.C. (2016). Infection in burns. *J. Surg Infect*. **17**(2):250–255.

O'Gara, J.P. (2007). *ica*and beyond: biofilm mechanisms and regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. *J. FEMS. Microbiol. Lett.***270**:179–188.

Omidi, M., Firoozeh, F., Saffari, M., Sedaghat, H., Zibaei, M., Khaledi, A. (2020). Ability of biofilm production and molecular analysis of *spa* and *ica* genes among clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. BMC. Res. Notes*. **13**:19.

Otto, M. (2008). Staphylococcal biofilms. *Current Topics in Microbiology and Immuno*. **322**: 207–228.

Palmqvist, N., Patti, J. M., Tarkowski, A., Josefsson, E. (2004). Expression of staphylococcal clumping factor A impedes macrophage phagocytosis. *J. Microbes. Infect*. **6**:188–195.

Pasalar, M., Mohammadi, A.A., Rajaeefard, A.R., Neghab, M., Tolidie, H.R., Mehrabani, D. (2013). Epidemiology of burns during pregnancy in southern Iran: effect on maternal and fetal outcomes. *World. Appl. Sci. J.***28**:153–158.

Peacock, S. J., Moore, C.E., Justice, A., Kantzanou, M., Story, L., *et al*. (2002). Virulent combinations of adhesin and toxin genes in natural populations of *Staphylococcus aureus*. *J. Infect. Immun*. **70**: 4987–4996.

Peacock, S J., Day, N. P. J., Thomas, M. G., Berendt, A. R., Foster, T. J. (2000). Clinical isolates of *Staphylococcus aureus* exhibit diversity in *fnb* genes and adhesion to human fibronectin. *J. Infect*. **41**(1):23-31.

Pettigrew, M. M. Gent, F. G., Revai, K., Patel, J. A., Chonmaitree, T. (2008). Microbial Interactions during Upper Respiratory Tract Infections. *J. Emerg. Infect. Dis*. **14** (10): 1584-1591.

Plouin-Gaudon, I., Clement S., Huggler, E., Chaponnier, C., Franc¸ois, P., *et al*. (2006). Intracellular residency is frequently associated with recurrent *Staphylococcus aureus* rhinosinusitis. *J. Rhino.***44**: 249–254.

Podzorski, R. P., Loeffelholz, M., Hayden, R. T. (2006). Detection and characterization of molecular amplification products: agarose gel electrophoresis, southern blot hybridization, restriction Enzyme digest analysis, and Enzyme-Linked Immunoassay. p. 234-263 In: Tang Y. and Stratton C. W. (ed), Advanced techniques in diagnostic microbiology. Springer Science Business Media, LLC.

Que, Y. A., Haefliger, J. A., Piroth, L., François, P., Widmer, E., Entenza, J. M., Moreillon, P. (2005). Fibrinogen and fibronectin binding cooperate for valve infection and invasion in *Staphylococcus aureus* experimental endocarditis. *J. experimental medicine*, **201**(10): 1627-1635.

Rafla, K., Tredget, E.E., (2011). Infection control in the burn unit. *J. Burns*. **37**:5-15.

Raz-Pasteur, A., Hussein, K., Finkelstein, R., Ullmann, Y., Egozi, D. (2013). Blood stream infections (BSI) in severe burn patients--early and late BSI: a 9-year study. *J. Burns.***39**:636-642.

Renders, N.H., van Belkum, A., Overbeek, S.E., Mouton, J.W., Verbrugh, H.A. (1997). Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* strains colonizing the lungs of related and unrelated cystic fibrosis patients. *J. Clin. Microbiol. Infect*. **3**: 216–221.

Roche, F. M., Downer, R., Keane, F., Speziale, P., Park, P. W., Foster, T. J. (2004). The N-terminal A domain of fibronectin-binding proteins A and B promotes adhesion of Staphylococcus aureus to elastin. *J. Biolog. Chem.***279**(37), 38433-38440.

Roth, J. J., Hughes, W. B. (2004). The essential burn unit handbook. Quality Medical Publishing, St. Louis, Mo.377. Santaniello, J. M., Luchette, F. A., Esposito, T. J., Gunawan, H., Reed, R. L., Davis, K. A., Gamelli, R. L. (2004). Ten year experience of burn, trauma, and combined burn/trauma injuries comparing outcomes. *J. Trauma*. **57**: 696–700.

Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T. (1989). Molecular cloning: A laboratory manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.

Schito, G.C.(2006). The importance of the development of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol. Infect*. **12**(Suppl 1): S3–S8.

Scott, E., Duty, S., Callahan, M. (2008). A pilot study to isolate Staphylococcus aureus and methicillin-resistant S aureus from environmental surfaces in the home. *Am. J. Infect. Control*. **36**: 458–460.

Seethalakshmi, I., Sathishkumar, J., Muthu, S., Saritha, V. (2010). Virulence and cytotoxicity of seafood borne *Aeromonashydrophila*. *Brazil. J. Microbiol*. **41**: 978-983.

Selvaraj, A., Jayasree, T., Valliammai, A., Karutha pandian, S. H. U. N. M. U. G. I. A. H. (2019). Myrtenol attenuates MRSA biofilm and virulence by suppressing sarA expression dynamism. *J. Front. Microb*. **10**: 2027.

Serray, B., Oufrid, S., Hannaoui, I., Bourjilate, F., Soraa, N., Mliji, M., Sobh, M., Hammoumi, A., Timinouni, M., El Azhari, M. (2016). Genes encoding adhesion factors and biofilm formation in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Morocco. *J. Infect. Dev.. Ctries*. **10** (8):863-869.

Simor, A.E. (2011). Staphylococcal decolonisation: an effective strategy for prevention of infection? *J. Lancet. Infect. Dis.***11:** 952–962.

Soares, B.S., Melo, D.A. Motta, C.C., Marques, V.F., Barreto, N.B., *et al.* (2017). Characterization of virulence and antibiotic profile and *agr* typing of *Staphylococcus aureus* from milk of subclinical mastitis bovine in State of Rio de Janeiro. *J. Arq. Bras. Med. Vet. Zoo*. **69** (4): 843-850.

Singh, R., Ray, P., Das, A., Sharma, M. (2010). Penetration of antibiotics through *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *J. Antimicr. Chemother.***65**: 1955–1958.

Snyder J. W., Munier G. K., Johnson C. L. (2010). Comparison of the BD GeneOhm methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) PCR assay to culture by use of BBL CHROMagar MRSA for detection of MRSA in nasal surveillance cultures from intensive care unit patients. *J. Clin. Microbiol*. **48**:1305–1309.

Song, W., Lee, K.M., Kang, H.J., Shin, D.H., Kim, D.K. (2001). Microbiologic aspects of predominant bacteria isolated from the burn patients in Korea. *J. Burns.* **27**(2):136–139.

Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D. G., Costerton, J. W. (2002). Biofilms as complex differentiated communities. *J. Annu. Rev. Microbiol*. **56**:187–209.

Swidsinski, A., Go¨ktas, O., Bessler, C., Loening-Baucke, V., Hale, L.P., *et al*. (2007). Spatial organization of microbiota in quiescent adenoiditis and tonsillitis. *J. Clin. Pathol*. **60**: 253–260.

Taneike, I., Otsuka, T., Dohmae, S., Saito, K., Ozaki, K., Takano, M., Higuchi, W., Takano, T., Yamamoto, T. (2006). Molecular nature of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* derived from explosive nosocomial outbreaks of the 1980s in Japan. *J. FEBS. Lett*. **9**: 23-34

Tangchaisuriya, U., Yotpanya, W., Kitti, T., Sitthisak, S. (2014). Distribution among Thai children of methicillin resistant *staphylococcus aureus*. Southeast Asian. *J. Trop. Med. Public. Health*. **45**: 149-156.

Tirpude, R.J., Batra, H.V. (2012).Characteristics of *S. aureus* isolated from acute, sub-acute and subclinical *staphylococcus* is in rabbits. *J. World Rab. Sci*. **20**: 215-221.

Tristan, A., Ying, L., Bes, M., Etienne, J., Vandenesch, F., Lina, G. (2003). Use of multiplex PCR to identify *Staphylococcus aureus* adhesins involved in human hematogenous infections. *J. Clin. Microbiol*. **41**(9): 4465–4467.

Valenza, G., Tappe, D., Turnwald, D., Frosch, M., König, C., Hebestreit, H., Abele-Horn, M. (2008). Prevalence and antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from sputa of patients with cystic fibrosis. *J. Cyst. Fibros.* **7**: 123– 127.

Van Belkum, A., Verkaik, N.J., de Vogel, C.P., *et al*., (2009). Reclassification of *Staphylococcus aureus* nasal carriage types. *J. Infect. Dis.***199:** 1820–1826.

Vancraeynest, D., Hermans, K., Haesebrouck, F. (2004). Genotypic and phenotypic screening of high and low virulence *Staphylococcus aureus* isolates from rabbits for biofilm formation and MSCRAMMs. *J. Vet. Microbiol*. **103**: 241-247.

Vaudaux, P. E. *et al*., (1995). Use of adhesion-defective mutants of *Staphylococcus aureus* to define the role of specific plasma proteins in promoting bacterial adhesion to canine arteriovenous shunts. *J. Infect. Immun.***63**:585–590.

Viana, D., Selva, L., Garcia-Quiros, A., Penades, M., Penades, J.R., Corpa, J.M. (2012). Screening of virulence genes in *S. aureus* isolated form rabbits. Proceeding 10th World Rabbts Congress– September 3-6, 2012- Sharm El-Sheikh –Egypt. 1175- 1179.

Vincent JL, Rello J, Marshall J, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA* 2009; **302:** 2323–29.

Von-Eiff, C., Becker, K., Machka, K., Stammer, H., Peters, G. (2001). Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *N. Engl. J. Med.*, **344** (1): 11-16.

Walsh, E.J., Miajlovic, H., Gorkun, O.V., Foster, T.J. (2008). Identification of the *Staphylococcus aureus* MSCRAMM clumping factor B (*Clf* B) binding site in the αC-domain of human fibrinogen. *J. Microbio*. **154**:550-8.

Wertheim, H.F., Melles,. DC., Vos, M.C., van Leeuwen, W., van Belkum, A., Verbrugh, H.A., Nouwen, J.L. (2005). The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *J. Lancet. Infect. Dis*. **5**:751–762.

Wilke, M.S., Lovering, A.L., Strynadka, N.C.J. (2005). β-Lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. *J. Curr. Opin. Microbiol*. **8**:525–533.

Wolz, C., D. McDevitt, T. J. Foster, A. L. Cheung. (1996). Influence of *agr* on fibrinogen binding in *Staphylococcus aureus* Newman. *J. Infect. Immun*. **64**:3142–3147.

Xie, X., Bao, Y., Ouyang, N., Dai, X., Pan, K., Chen, B., *et al*. (2016). Molecular epidemiology and characteristic of virulence gene of community-acquired and hospital acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in sun Yat-sen memorial hospital, Guangzhou, southern China. *J. BMC Infect Dis*. **16**(339).

Xie, X., Dai, X., Ni, L., *et al*. (2018). Molecular epidemiology and virulence characteristics of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in medical laboratory staff: comparison between microbiological and non-microbiological laboratories. *J. BMC Infect Dis*.**18**:122.

Yali, G., Jing, C., Chunjiang, L., Cheng, Z., Xiaoqiang, L., Yizhi, P. (2014). Comparison of pathogens and antibiotic resistance of burn patients in the burn ICU or in the common burn ward. *J. Burns*.**40**(3):402–407.

Wang, W., Lin, X., Jiang, T., Peng, Z., Xu, J., Yi, L., Li, F., Fanning, S., Baloch, Z. (2018). Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* cultured from raw milk taken from dairy cows with mastitis in Beijing, *China*. *J. Front. Microbiol*. **9**:1123.

Weiner LM, Webb AK, Limbago B, *et al*., (2016). Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011–2014. *Infect Control Hosp Epidemiol*., **37:** 1288–1301.

Zhang, L., Li, Y., Bao, H., Wei, R., Zhou, Y., Zhang, H., Wang, R. (2016). Population structure and antimicrobial profile of *Staphylococcus aureus* strains associated with bovine mastitis in China. *J. Micro. Path*. **97**: 103-109.

Wang, L., Qiao, X., Ai, L., Zhai, J. Wang, X. (2016). Isolation of antimicrobial resistant bacteria in upper respiratory tract infections of patients. *J. Biotech*. **6**:166.

Watts, A. M., M. P., Tyler, M. E., Perry, A. H., Roberts, McGrouther, D. A. (2001). Burn depth and its histological measurement. *J. Burns.***27**:154–160.

Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L., Miller, W. A. (2000).Greedy algorithm for aligning DNA sequences. *J. Comput. Biol.***7**(1-2):203-14. doi: 10.1089/10665270050081478.

Web-based injury statistics query and reporting system [Internet][cited 06/10/ 2016]. Available from: https://www.cdc.gov/injury/wisqars/ 2014.

ÖZGEÇMİŞ

Adı - Soyadı : Muthanna shareef tahibul AL RADHI

Doğum Yeri : Irak- Thi-Qar

Doğum Tarihi : 1984

Yabancı Dil : Arapça, İngilizce

E-posta: muthanna0alradhi@gmail.com

Eğitim Durumu

Üniversite: Thi-Qar Üniversitesi, Bilimler Koleji -

Bölüm: Biyoloji, 2008.

İstihdam Geçmişi: -

Souk Shoukh Hastanesi laboratuvarında biyoloji O zamanlar bakteri biriminden sorumluydum.

Eğitim Kursları, Çalıştay ve Konferanslar:

- Thi-Qar Direktörlüğü tarafından yaklaşık bir yıl süren laboratuvar eğitim kursu.