ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

METİSİLİN DİRENÇLİ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* İZOLATLARINDA *mecA* GEN VARLIĞI VE BAZI BENZOİL TİYOÜRE BİLEŞİKLERİNİN İN-VİTRO ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ

SARAH KAMİL ABDULLAH ALHADEETHİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2022

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Sarah Kamil Abdullah ALHADEETHİ tarafından hazırlanan **"Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* İzolatlarında *mec*A Gen Varlığı ve Bazı Benzoil Tiyoüre Bileşiklerinin İn-Vitro Antibakteriyel Aktivitesinin İncelenmesi "**adlı tez çalışması 22/07/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman **:** Doç. Dr. Şinasi AŞKAR

Jüri Üyeleri **:**

Başkan **:** Doç. Dr. Şinasi AŞKAR
Toplu Beslenme Sistemleri Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye **:** Prof. Dr.Nilgün Ünal
Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Sağlık Bilimleri Üniversitesi,

Üye **:** Doç.Dr. Mehmet SEZGİN
Biyoteknoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi,

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum **"Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* İzolatlarında *mec*A Gen Varlığı ve Bazı Benzoil Tiyoüre Bileşiklerinin İn-Vitro Antibakteriyel Aktivitesinin İncelenmesi"** 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 (22/07/2022).

Sarah Kamil Abdullah ALHADEETHİ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

METİSİLİN DİRENÇLİ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* İZOLATLARINDA *mecA* GEN VARLIĞI VE BAZI BENZOİL TİYOÜRE BİLEŞİKLERİNİN İN-VİTRO ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ

Sarah Kamil Abdullah ALHADEETHİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Şinasi AŞKAR

Çoklu ilaç direncine sahip bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar günümüzde önemli sağlık sorunlarına yol açmaktadır. Bu durum son yıllarda yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi amacıyla yapılan çalışma sayılarının artmasına sebep olmuştur. Bu tezde farklı klinik örneklerde *Staphylococcus aureus* ve Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) prevalansı, izole edilen MRSA izolatlarının çoklu antibiyotik direnç durumu ve 3 farklı benzoiltiyoüre bileşiğinin (N-((2-chloropyridin-3-yl) carbamothioyl) thiophene-2-carboxamide (L-31), N-(morpholine-4-carbonothioyl) benzamide (EHL-90) ve N-(diphenylcarbamothioyl)benzamide (EHL-93)) antibakteriyel etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, yapılan morfolojik ve biyokimyasal testler ile toplam 100 sürüntü örneğinin (yanık, yara, kulak, apse, burun) 45'inde (% 45) *S. aureus* belirlenmiştir. Elde edilen *S. aureus* izolatlarına metisilin ve sefoksitin diskleri kullanılarak yapılan disk difüzyon testi ile 22 (%48) izolatta metisilin direnci kanıtlandı. Elde edilen MRSA izolatlarına 8 farklı antibiyotik diski kullanılarak yapılan disk difüzyon testi sonucunda 22 MRSA izolatının çoklu ilaç direncine (MDR) sahip olduğu belirlenmiştir. Konvansiyonel yöntemlerle tanımlanan MRSA izolatlarının tamamında *mec*A gen varlığı PZR ile saptanmıştır. MRSA izolatlarına karşı 3 farklı Benziltioüre bileşiğinin antibakteriyel etkinliği disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılmıştır. Yapılan mikrodilüsyon test sonuçlarına göre tüm bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda minimum inhibitör ve bakterisidal konsantrasyon değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bileşikler içinde MRSA izolatlarına karşı en yüksek zon çapı, en düşük minimum inhibitör konsantrasyon ile minimum bakterisidal konsantrasyon değeri EHL-93 bileşiğinden elde edilmiştir. Yapılan bu tez ile MRSA ve MDR-MRSA prevalansının önemli bir düzeyde olduğu, kullanılan 3 benzoil tiyoüre bileşiğinin farklı konsantrasyonlarda antibakteriyel ajan olarak kullanma potansiyelinin olduğu sonucuna varılmıştır.

2022, 65 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Antimikrobiyal, Benzoil tiyoüre, MDRB, MRSA
Mikrobroth dilüsyon, Polimeraz zincir reaksiyonu

ABSTRACT

Master of Science Thesis

INVESTIGATION OF *mecA* GENE AND IN-VITRO ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SOME BENZOYL THIOUREA DERIVATIVES IN METHICILLIN RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLATES

Sarah Kamil Abdullah ALHADEETHİ

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

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Şinasi AŞKAR

Infections caused by multi-drug resistant bacteria cause important health problems today. This situation has led to an increase in the number of researches conducted to develop new antibiotics in recent years. The World Health Organization reports that the efficacy of antibiotics against multidrug-resistant infectious agents, especially methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains, is gradually decreasing.
In this thesis, it was aimed to investigate the prevalence of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-resistant *S.aureus* (MRSA), multi-antibiotic resistance status of MRSA isolates and antibacterial activity of 3 different benzoylthiourea compounds (N-((2-chloropyridin-3-yl) carbamothioyl) thiophene-2-carboxamide (L-31), N-(morpholine-4-carbonothioyl) benzamide (EHL-90) ve N-(diphenylcarbamothioyl)benzamide (EHL-93)) against MRSA isolates in different clinical samples. As a result of the analyzes, *S. aureus* was detected in 45 (45%) of a total of 100 (burn, wound, ear, abscess, nose) swab samples with morphological and biochemical tests. Methicillin resistance was demonstrated in 22 (48%) isolates with the antibiotic susceptibility test performed on *S. aureus* isolates using Methicillin and cefoxitin discs. Multidrug resistance was determined in all 22 MRSA isolates. The presence of *mec*A gene was determined by PCR in all MRSA isolates identified by conventional methods. Benzylthiourea compounds were applied and their effectiveness was proven at different rates. However, the most effective chemical is L93. With this thesis, it was concluded that the prevalence of MRSA and MDR-MRSA is at a significant level, and that the 3 benzoyl thiourea compounds used have the potential to be used as antibacterial agents at different concentrations.

2022, 65 pages

Keywords: Antimicrobial, Benzoyl thiourea, Broth microdilution, MDRB, MRSA, Polymerase chain reaction

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Doç. Dr. Şinasi AŞKAR'a sabrı, rehberliği ve anlayışı için ayrıca her aşamadaki desteklerinden dolayı annem ve babama teşekkür ederim.

Sarah Kamil Abdullah ALHADEETHİ

Çankırı, Temmuz 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vi**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **viii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **ix**
1. GİRİŞ **1**
2. LİTERATÜR ÖZETİ **4**
2.1 Tarihçe **4**
2.2 Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikler **6**
2.3 Epidemiyoloji **7**
2.4 *S. aureus*'un Virülans Faktörleri **8**
2.5 *S. aureus*'un Neden Olduğu Hastalıklar **12**
2.6 Antibiyotiklere Direnç **14**
2.7 MRSA Tanı Yöntemleri **17**
2.8 Gelecek Perspektifleri **18**
3. MATERYAL VE METOT **19**
3.1 Örneklerin Alınması **19**
3.2 İzolasyon, Tanımlama ve Antimikrobal Direnç/Duyarlılık Çalışmaları **20**
3.2.1 Kullanılan besi yerleri **20**
3.2.2 Kullanılan kimyasallar **21**
3.2.3 Kullanılan antibiyogram diskleri **21**
3.2.4 Laboratuvar ekipmanları **22**
3.3 Stafilokokların İzolasyonu ve Tanımlanması **23**
3.3.1 Mannitol fermentasyon testi **23**
3.3.2 Katalaz testi **24**
3.3.3 Lam koagülaz testi **25**
3.3.4 Oksidaz testi **25**

3.4 *S. aureus* İzolatlarında Metisilin ve Çoklu İlaç Direncinin Belirlenmesi 26
3.5 MRSA İzolatlarında *mec*A Gen Varlığının Tespiti 28
3.5.1 Kullanılan kimyasal maddeler 28
3.5.2 Kullanılan cihaz ve ekipmanlar.....29
3.5.3 DNA izolasyonu.....30
3.5.4 DNA saflığının belirlenmesi.....31
3.5.5 Primerlerin hazırlanması.....31
3.5.6 Reaksiyon karışımı (PZR).....31
3.5.7 PZR programı 32
3.5.8 Agaroz jel elektroforez protokolü 32
3.5.9 DNA yüklemesi ve görüntülenmesi 33
3.6 MRSA İzolatlarına Karşı Benzoil Tiyoüre Bileşiklerinin İn-vitro Anti-bakteriyel Etkinliğinin Belirlenmesi 33
3.6.1 Kullanılan kimyasallar.....33
3.7 İstatistik Analiz.....36
4. BULGULAR.....37
4.1 İzolasyon ve Tanımlama Bulguları.....37
4.1.1 Koloni morfolojisi ve mikroskobik görüntü bulguları.....37
4.1.2 Biyokimyasal test bulguları 38
4.2 Metisilin Direnç/Duyarlılık Bulguları.....41
4.3 MRSA İzolatlarında Çoklu İlaç Direnç Test Bulguları.....43
4.4 MRSA İzolatlarında *mec*A Gen Varlığının PZR Analiz Bulguları.....46
4.5 MRSA İzolatlarına Karşı Benzoil Tiyoüre Bileşiklerinin Antibakteriyel Etkinlik Bulguları.....46
4.5.1 Minimum inhibitor konsantrasyon (MİK) test bulguları 47
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 49
KAYNAKLAR 54
ÖZGEÇMİŞ.....65

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
°	Derece
µG	Mikrogram
BP	Baz çifti
GR	Gram
Kb	Kilobaz
KG	Kilogram
L	Litre
MM	Milimetre
MOL	Mole
N	Normal
NM	Nanometre
ºC	Santigrat derece
PPM	Milyonda bir
VD	Ve diğerleri
XG	Bağıl merkez kaç kuvveti
β	Beta

KISALTMALAR DİZİNİ

AIDS	Edinilmiş bağışıklık yetmezlik sendromu
*bla*Z	Beta-laktamaz - blaZ geni
CA-MRSA	Toplumla ilişkili metisiline dirençli *S. aureus*
CDC	Hastalık kontrol ve önleme merkezleri
CFU	Koloni oluşturma ünitesi
CLSI	Klinik ve laboratuvar standartları enstitüsü
COVID-19	Koronavirüs hastalığı 2019
DNA	Deoksiribo nükleik asit
EMRSA	Epidemik metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*
HA-MRSA	Sağlık hizmetleriyle ilişkili metisiline dirençli *S. aureus*
HIV	İnsan bağışıklık eksikliği virüsü
IgG	İmmünoglobulin G
Koa	Koagülaz enzimi
KoNS	Koagülaz-negatif stafilokoklar
KoPS	Koagülaz-pozitif stafilokoklar
MDRB	Çoklu ilaca dirençli bakteriler
*mec*A	Metisiline dirençli gen
MGE	Hareketli genetik elementler
MRSA	Metisiline dirençli *S. aureus*
MSSA	Metisiline duyarlı *S. aureus*
UV	Ultraviyole
ORFX	Açık okuma çerçevesi X
PZR	Polimeraz zincirleme reaksiyonu
pH	Hidrojen potansiyeli
PVL	Panton-Valentine lökosidini
RNA	Ribonükleik asit
SCC	Stafilokok kaset kromozomu
SCCmec	Stafilokokal kaset kromozom Mec
TSS	Toksik şok sendromu
TSST	Toksik şok sendromu toksin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Yıllara göre MRSA vakalarının sayısı (SSI 2020) 5
Şekil 2.2 *S. aureus*'un virülans faktörleri (Gladwin *et al.* 2014) 9
Şekil 2.3 β-laktam antibiyotiklerden Penisilin ve Metisilin'in kimyasal yapıları (Stapleton and Taylor 2008) 15
Şekil 3.1 Kullanılan bazı besiyerleri 20
Şekil 3.2 Kanlı agar besiyerinin hazırlanması 23
Şekil 3.3 Mannitol salt agarda *S. aureus* ve *S.epidermidis* üremesi arasındaki fark (Winn *et al.* 2006) 24
Şekil 3.4 Hussein vd. (2018) tarafından *S. aureus*'a pozitif katalaz testi sonucu 24
Şekil 3.5 Lam koagülaz testi: a. Negatif sonuç b. Pozitif sonuç (Winn *et al.* 2006) 25
Şekil 3.6 Oksidaz testi; a. Pozitif sonuç b. Negatif sonuç (Holt *et al.* 1994, Collee *et al.* 1996) 25
Şekil 3.7 McFarland No. 0,5 standardı 26
Şekil 3.8 Çalışmada kullanılan antibiyogram diskleri 27
Şekil 3.9 DiaRex DNA ekstraksiyon Kiti 28
Şekil 3.10 Termal Döngü Cihazı ve Quawell UV-Spektrofotometre 29
Şekil 3.11 Elektroforez sistemi 30
Şekil 3.12 Jel Dökümantasyon Sistemi 30
Şekil 3.13 Benzoil tiyoüre bileşiklerinin kimyasal yapısı 34
Şekil 4.1 Kanlı agarda *S. aureus* kolonisi β-hemoliz görünümü 37
Şekil 4.2 Gram boyama lam görüntüsü 38
Şekil 4.3 Gram boyama sonrası *S.aureus* mikroskobik görüntüsü 38
Şekil 4.4 Mannitol tuzlu agarda *S. aureus* kolonileri 39
Şekil 4.5 Çalışmada kullanılan katalaz ve test görüntüleri 39
Şekil 4.6 Oksidaz negatif *S. aureus* 40
Şekil 4.7 Lam koagülaz test görüntüsü 40
Şekil 4.8 Farklı klinik kaynaklardan *S. aureus* oranı 40
Şekil 4.9 Disk Difüzyon testi: Metisiline dirençli *S.aureus* 41
Şekil 4.10 Disk Difüzyon testi: Metisiline duyarlı *S.aureus* 41
Şekil 4.11 Disk Difüzyon testi: A.Sefoksitine duyarlı *S. aureus* B. Sefoksitine dirençli *S.aureus* 42
Şekil 4.12 Antibiyotik duyarlılık testi (Metisilin-Sefoksitin) sonrası MRSA ve MSSA izolatlarının oranı 42
Şekil 4.13 Çoklu ilaç direnci disk difüzyon test görüntüsü 44
Şekil 4.14 PZR jel görüntüsü 46
Şekil 4.15 L31, L90 ve L93 benzoiltüre bileşiklerinin MRSA üreme inhibisyon zon görüntüsü 47

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 *S. aureus*'un sınıflandırılması (Rosenbach 1884, Todar 2008) 6
Çizelge 2.2 *Staphylococcus* tanısında kullanılan laboratuvar testlerinden bazıları 7
Çizelge 2.3 *S.aureus* virülans mekanizmaları (Teppo 2012) 11
Çizelge 2.4 HA-MRSA ve CA-MRSA'yı ayırt etmek için sıklıkla kullanılan özellikler (Safdar *et al.* 2007) 16
Çizelge 3.1 Sürüntü örneklerinin kaynakları ve sayısı 19
Çizelge 3.2 Kullanılan besi yerleri 20
Çizelge 3.3 Kullanılan kimyasallar 21
Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan antibiyogram diskleri 21
Çizelge 3.5 Genel laboratuvar ekipmanları 22
Çizelge 3.6 Kullanılan antibiyotik diski ve CLSI standart değerler 26
Çizelge 3.7 Antibiyotik diskleri ve CLSI standart değerler 27
Çizelge 3.8 DNA ekstraksiyon kitinin içeriği 28
Çizelge 3.9 Kullanılan *mec*A gen primerleri 29
Çizelge 3.10 Bir PZR karışımındaki bileşen, konsantrasyon ve miktar 32
Çizelge 3.11 PZR programı 32
Çizelge 4.1 *S. aureus* tanımlaması için yapılan biyokimyasal testlerin sonuçları 39
Çizelge 4.2 Klinik örneklere göre *S.aureus* ve MRSA izolat oranları 43
Çizelge 4.3 Antibiyotiklere karşı çoklu direnç gösteren MRSA izolatlarının sayısı 44
Çizelge 4.4 Her bir MRSA izoaltının 8 farklı antibiyotik diskine göre duyarlılık durumu 45
Çizelge 4.5 Disk difüzyon yöntemine göre bileşiklerin oluşturduğu üreme inhibisyon zon çapları (mm) 47
Çizelge 4.6 Komplekslerin broth mikrodilüsyon yöntemine göre minimum inhibitör konsantrasyon değerleri (MİK) 48
Çizelge 4.7 Komplekslerin broth mikrodilüsyon yöntemine göre minimum bakterisidal konsantrasyon değerleri (MBK) 48

1. GİRİŞ

Stafilokoklar, basit deri enfeksiyonlarından yaşamı tehdit eden bakteriyemiye kadar çeşitli hastalıklara neden olan bir bakteri cinsidir. Yayılmalarını kontrol altına almaya yönelik geniş çaplı çabalara rağmen, dünya çapında hem hastane hem de toplum kaynaklı enfeksiyonların önemli bir etkeni olmaya devam etmektedir. Stafilokok cinsi 52 tür ve 28 alt tür içermesine rağmen, bu cinsin iki önemli fırsatçı patojeni *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*'tir (Fung-Tomc *et al.* 2002, Gill *et al.* 2005).

Staphylococcus aureus, Staphylococcaceae familyasından Gram pozitif bir bakteridir. *S. aureus*, genel insan popülasyonun yaklaşık %20-40'ında nazal mukozasının kommensal mikrobiyotasında bulunur (Wertheim *et al.* 2005, Becker *et al.* 2017).

Flora üyesi olması, artan antibiyotik direnci sebebiyle insan sağlığı için büyük bir tehdit oluşturmakta (Stevens 2007) ve dünya çapında hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyonlarla ilişkili önemli bir patojen haline gelmiştir (Palavecino 2007). Antibiyotiklerin bulunmasından önce, *S. aureus*'un neden olduğu invaziv enfeksiyonlar genellikle ölüm ile sonuçlanmıştır. Günümüzde ise enfeksiyonların yüksek prevalansı, antibiyotik direnci ile birleşince bu durum tedavi için önemli bir sorun oluşturmaktadır (Uhlemann *et al.* 2014).

S. aureus ilk olarak 1880 yılında Ogston tarafından bir bacak apsesinin pürülan sıvısında tanımlanmış ve kısa bir süre sonra Rosenbach tarafından resmi olarak izole edilmiştir. Bu bakteri insan konakçısına ve sağlık bakım ortamına iyi adapte olmuştur (Turner *et al.* 2019).

Patojenik stafilokoklar çeşitli toksinler ve enzimler üreterek kanı hemolize eder, plazmayı pıhtılaştırır. Koagülaz (Koa) enzimi *S. aureus* için önemli bir virülans faktörüdür (Cheng *et al.* 2010). İnvaziv tıbbi cihazlara (periferik ve santral venöz kateterler gibi) veya zayıf bağışıklık sistemine sahip kişiler özellikle *S. aureus*

enfeksiyonuna karşı savunmasızdır. *S. aureus*'un ekzotoksin salınımının neden olduğu gastroenterit (gıda zehirlenmesi), toksik şok sendromu (TSS), haşlanmış deri sendromu, doğrudan organ istilasından kaynaklanan pnömoni, menenjit, osteomiyelit, akut bakteriyel endokardit, septik artrit, deri enfeksiyonları, bakteriyemi/sepsis, idrar yolu enfeksiyonu gibi farklı hastalık türleri vardır. Bu bakterinin yayılmasında, kapsüller, hemolizinler, süperantijenler (SE, Stafilokokal enterotoksin) ve toksinler gibi güçlü virülans faktörleri ve antibiyotik direnci önemli rol alır (Gladwin *et al.* 2014).

S. aureus, direnç genlerini hızla edinebilen bir patojendir. Penisiline dirençli *S. aureus*'un ilk bildirildiği 1940'ların başlarından beri *S. aureus*'taki direnç gelişmeleri rapor edilmektedir (Bitrus *et al.* 2018). Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA), ilk olarak 1961'de İngiltere'de, metisilinin klinik uygulamaya girdikten kısa bir süre sonra tanımlanmıştır. Günümüzde, metisilin içerikli antibiyotikler insan kullanımı için satılmamaktadır, yerini oksasilin, flukloksasilin ve dikloksasilin gibi benzer, daha kararlı penisilinler almıştır. *S. aureus* izolatlarının birçoğu metisiline dirençlidir ve 20'den fazla farklı antimikrobiyal ajana dirençli suşları bulunmaktadır (Gill *et al.* 2005).

Tüm MRSA suşları, *mec*A genini barındıran stafilokokal kaset kromozomu (SCC) adı verilen mobil bir genetik eleman taşır. Bu gen, β-laktam antibiyotiklere direnç sağlayan penisilin bağlayıcı protein 2a'yı kodlar (Foster and Geoghegan 2014). 13 farklı SCCmec türü tanımlanmıştır. Tüm SCCmec elemanları, konakçı kromozomal gen veya FX (Faktör X) içinde aynı bölgede bulunur. Daha büyük ve daha karmaşık SCCmec elemanları hastane kökenli MRSA ile ilişkilendirilirken, daha küçük SCCmec kasetleri toplum kökenli (CA)-MRSA ile ilişkilendirilmektedir (Urushibara *et al.* 2020).

MRSA, dünya çapındaki hastanelerde bakteriyemi, pnömoni, cerrahi alan enfeksiyonları ve diğer hastane enfeksiyonlarına neden olarak yaygınlaşmıştır. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC 2007), sağlık bakımıyla ilişkili tüm *S.aureus* enfeksiyonlarının neredeyse %60'ının MRSA'dan kaynaklandığını bildirmiştir. 1961'den 1990'lara MRSA'nın ilk raporları arasında, enfeksiyon genellikle sağlık hizmeti kaynaklı hastene kökenli MRSA (HA-MRSA) olarak tanımlansada, 1990'lardan günümüze gelindiğinde toplum kökenli MRSA (CA-MRSA) olarak adlandırılan daha önce hastaneye yatmamış

kişilerde MRSA enfeksiyonu vakaları ortaya çıkmaktadır (Turner *et al.* 2019). Son yıllarda, hayvan kökenli MRSA (LA-MRSA) olarak tanımlanan ve MRSA'nın potansiyel rezervuarı olarak düşünülen bir görüş ortaya çıkmaktadır (Lewis *et al.* 2014).

Stafilokok bakterileri de dahil olmak üzere Gram pozitif bakteriler arasında antibiyotik direncinin ortaya çıkması ve yayılması, birçok kimyager ve mikrobiyoloğu yeni kimyasalların üretimi de dahil olmak üzere sürekli olarak alternatif antibakteriyel kimyasallar aramaya sevk etmektedir (Essawi and Srour 2000). Çeşitli araştırmalarda antimikrobiyal, antiparaziter, anti-tümör, diüretik, trombosit agregasyon inhibitörü, H2-antagonisti, antidiyabetik, insektisit ve herbisit (Müller *et al.* 2009), antikanser (Shing *et al.* 2014), antikonvülzan (Kaymakçıoğlu *et al.* 2005), antioksidan (Saturnino *et al.* 2003), antibakteriyel (Ngaini *et al.* 2012), antifungal (Saeed *et al.* 2010) ve anti-HIV (Küçükgüzel *et al.* 2008) gibi bazı biyolojik etkileri tanımlanan ve ilaç endüstrisinde yaygın olarak kullanılan tiyoüre ve türevleri (örn: Metimazol, Tiourasil, Metiltiourasil, Propiltiourasil) yüksek biyolojik aktiviteye sahip önemli moleküllerdir.

Bu tezde *S.aureus* ve MRSA prevalansının belirlenmesi, MRSA izolatlarında *mec*A gen varlığı ve çoklu antibiyotik direncinin saptanması, yeni sentezlenen 3 farklı benzoil tiyoüre bileşiğinin MRSA izolatlarına karşı antibakteriyel etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Tarihçe

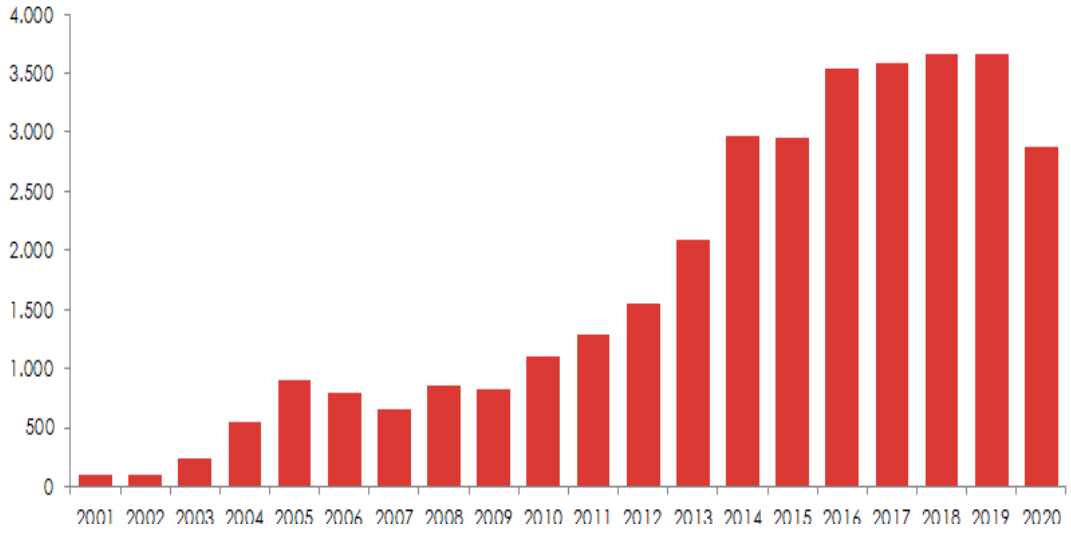
Robert Koch 1878'de stafilokok tanımını yapmış, 1880 yılında Alexander Ogston diz eklemi apsesi üzerinde yaptığı bir çalışma esnasında etkenlerin üzüm salkımına benzeyen kümeler şeklinde görüldüğünü bildirmiştir. Friedrich Julius Rosenbach 1884'te bu bakteriyi insandan saf kültür olarak izole etmiş ve içerisinde barındırdığı kolonilerin rengine istinaden, Latin dilinde *aurum* kelimesinin altın anlamına gelmesinden dolayı, *S. aureus* ismini vermiştir. Ancak stafilokokların neden olduğu pemfigus (haşlanmış deri sendromu) gibi yenidoğan hastalıkları 1700'lerde tanımlandığı için daha eski bir tarihe sahip olduğu düşünülmektedir (Rosenbach 1884).

Bildirilen ilk yenidoğan salgını 1889'da Amerika Birleşik Devletleri'nde meydana gelmiştir ve sonraki salgınlar 20. yüzyılda meydana gelmiştir. Yetişkin stafilokok salgınları, hastanelerde, özellikle derin yaraların ve kateter gibi tıbbi cihazların varlığının stafilokok gelişimine elverişli ortamlar sağladığı yanık veya cerrahi ünitelerde de yaygındır. Hastanelerde stafilokok hastalığının insidansı, kısmen endovasküler cihazların artan kullanımı ve yüksek immün yetmezlik prevalansı nedeniyle son yıllarda artmıştır (Shinefield and Ruff 2009).

Wolinsky vd. 1960'ta en yaygın bulaşma yolunun sağlık çalışanlarının elleri olduğunu bildirmişlerdir. Sonraki birçok rapor, sağlık çalışanlarının ellerinin ve nazofarenkslerinin sıklıkla stafilokok suşlarının taşıyıcıları olduğunu doğrulamıştır (Wise *et al.* 1989). Aseptik yöntemler on dokuzuncu yüzyılda tanıtılmış olsa da, Ogston vd. 1984'te stafilokokları apselerle ilişkilendiren çalışmalarında, aseptik tekniğin uygulanmasındaki hataların stafilokokların yaralara girmesine izin verdiğini ve tekrar uzaklaştırılmasının zor olduğunu bildirmiştir (Williams *et al.* 1958). Enfeksiyonları önlemek için aseptik tekniklerden ziyade antibiyotiklere aşırı güvenildiği bildirilmiştir. 1940'lardan 1960'lara kadar, penisiline dirençli suşlar, yetişkin hastane ünitelerinde (özellikle cerrahi) ve kreşlerdeki salgınların önemli bir neden olmuştur (Shinefield and Ruff 2009).

Bu sorunu önlemeyi amaçlayan yeni stratejilerin (el hijyeninin vb.) 2002 yılından itibaren hastanelerde yaygın olarak uygulansa da ne yazık ki, klinik pratikte hala bu etkenler sorun olmaya devam etmektedir (Larson *et al.* 2007). 2002 yılına kadar, CA-MRSA izolatlarının %20'ye kadarı geleneksel risk faktörlerinden herhangi birine sahip olmayan bireylerden elde edilmiştir. 2004 yılında MRSA enfeksiyon oranı %50'ye yaklaşmış ve önceden sağlıklı olan ve bilinen hiçbir risk faktörü olmayan bireyler arasında genel toplumda aralıklı olarak vakalar ortaya çıkmaya başlamıştır (Shinefield and Ruff 2009).

2002'den 2020'ye kadar MRSA enfeksiyonları zaman içinde artmaya devam etmiştir. "MRSA - hastalık prevalans raporu 2020" ye göre 2019, 2018 ve önceki yıllarda artış gözlenmesine rağmen, Covid-19 pandemisi nedeniyle 2020'de prevalansta düşüş gözlenmiştir. 2020 yılında ilk kez metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) tespit edilen kişi sayısı, önceki yıllarda gözlenen sayının oldukça altında kalmıştır. Şekil 2.1'de verilen yıllara göre MRSA prevalans raporuna göre 2016'da 3,550, 2017'de 3,579, 2018'de 3,669 ve 2019'da 3,657 vakaya kıyasla 2020'de toplam 2,883 vaka kaydedilmiştir. Covid-19'un neden olduğu seyahat kısıtlamaları, sosyal temaslardaki sınırlamalar ve azaltılmış sayıda sağlık hizmeti teması nedeniyle azalma gözlendiği bildirilmiştir (SSI 2020).



Şekil 2.1 Yıllara göre MRSA vakalarının sayısı (SSI 2020)

2.2 Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikler

Stafilokoklar ilk olarak Micrococcaceae familyasına sınıflandırılmış fakat moleküler ve filogenetik analizler sonucunda stafilokokların *Micrococci* ile yakından ilişkili olmadığı belirlenmiş ve Staphylococcaceae ailesinde sınıflandırılmıştır (Savini 2018). Stafilokoklar 0,5-1,5µm çapında, hareketsiz, fakültatif anaerop (*S. aureus subs. anaerobius* ve *S. saccarolyticus* hariç) sporsuz, katalaz pozitif (*S. aureus subs. anaerobius* ve *S. saccarolyticus* hariç) düzensiz kümeler halinde büyüyen gram pozitif koklardır. Spor oluşturmayan bakteriler içerisinde en dayanıklı bakterilerden birisidir ve birçok fizyolojik olmayan çevresel koşulda hayatta kalabilir (Alen ve ark. 2006).

S. aureus, mikroskopta düzensiz üzüm salkımı benzeri bir görünüme sahiptir, ve mannitolu fermente eder (Stapleton and Taylor 2008). Bakteri kolonileri yuvarlak, pürüzsüz, kabarık ve parlaktır ve kanlı besiyerlerinde bir hemoliz bölgesi oluştururlar. *S. aureus* genomu, yaklaşık %32'lik bir Guanine+Sitozin (G+C) içeriğine sahiptir ve yaklaşık 2,500 gen taşıdığı düşünülen 2,8 Mb'lik tek bir kromozomdan oluşur. *S. aureus*, ön nazal burun delikleri ve nazofarenks dahil olmak üzere deri ve mukozal yüzeylerdeki normal florada yer alır (Kluytmans *et al.* 1997, Long *et al.* 2017). Rosenbach (1884), *S. aureus*'u ilk sınıflandıran kişidir. *S. aureus*'un sınıflandırılması Çizelge 2.1'de, *Staphylococcus* cinsinin bazı bazı özellikleri ise Çizelge 2.2'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.1 *S. aureus*'un sınıflandırılması (Rosenbach 1884, Todar 2008)

Üst âlem	Bacteria
Şube	Firmicutes
Sınıf	Bacilli
Takım	Caryophanales (Bacillales)
Familya	Staphylococcaceae
Cins	*Staphylococcus*
Tür	*S. aureus*

Çizelge 2.2 *Staphylococcus* tanısında kullanılan laboratuvar testlerinden bazıları

Test adı	Özellik
Koloni boyutu	0,6 - 1,5 µm
Koloni morfolojisi	Kabarık koloni
Üreme hızı	Yavaş - Hızlı
Anaerobik koşullarda glikozdan asit üretimi	+
Eritromisin varlığında gliserolden asit oluşumu	+
Lizostafin duyarlılığı	Duyarlı
Furazolidon duyarlılığı	Duyarlı
Bacitracin duyarlılığı	Dirençli
Modifiye oksidaz testi	-

Staphylococcus türleri koagülaz enzimi üretip üretmemesine göre iki gruba ayrılır. Koagülaz pozitif stafilokoklar, (*KoPS*) koagülaz üreten stafilokoklardır. Bu terim tıbbi mikrobiyolojide *S. aureus* ile eş anlamlıdır. Koagülaz negatif (*KoNS*) stafilokoklar, koagülaz üretmeyen stafilokoklardır. Bu terim *S. aureus* dışındaki türler için kullanılır (Collee *et al.* 1996).

2.3 Epidemiyoloji

S. aureus'u ve enfeksiyona nasıl neden olduğunu anlamak için bakterinin bulaşma şeklini, kolonizasyonunu ve kolonizasyon ortamını anlamak önemlidir. *S. aureus*, derinin normal flora üyesidir, vücuttaki birçok bölgeden (birincil rezervuar olan burun delikleri, ter bezleri, kıllar ve yağ bezleri içeren keratinize epidermis) izole edilebilir ve enfeksiyona neden olma potansiyeline sahiptir (Williams 1963).

İnsanlarda neden oldukları hastalıklarla ilişkili oldukları için klinik olarak önemli üç türü vardır: *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus saprophyticus* (Holt *et al.* 1994, Ray and Ryan 2004). *S. aureus*, tarafından üretilen

enterotoksin (ısıya dayanıklı) ölüme neden olan sepsise neden olabilir. Şekil 2.2'de *S. aureus* enfeksiyonları ile ilişkili bazı organlar verilmiştir.

İnsanlarda *S. aureus*'un taşıyıcılığı genellikle üç duruma ayrılır: sürekli taşıma, aralıklı taşıma ve taşımama (Williams 1963). Nazal taşıma, artan klinik enfeksiyonla bağlantılıdır, ancak yetişkin popülasyondaki S. aureus taşıyıcılığı oranlarına ilişkin veri eksikliği vardır. Munckhof vd. (2008), toplum temelli bir çalışmada CA-MRSA ve CA-MSSA'nın nazal taşıyıcılık oranlarının %28 olduğunu bildirmiştir.

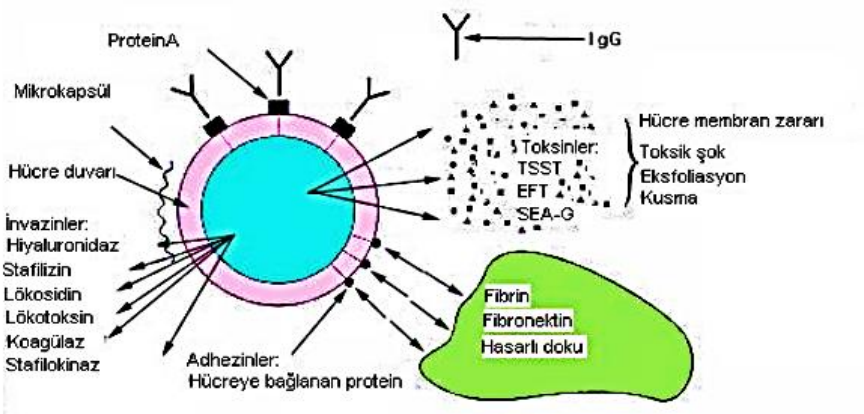
S. aureus dayanıklı bir bakteridir ve olumsuz çevre şartlarında (%10 tuz oranı, kuru ortam vb) hayatta kalabilir (Bremer *et al.* 2004), 15 ila 45 ºC arasında değişen bir sıcaklık aralığında üreyebilir. Fakültatif anaerob olduklarından, enerji ve laktik asit üretmek için oksidatif fermantasyon yeteneğine sahiptirler. *S.aureus* stafilokok cinsinin en önemli patojenik üyelerinden birisidir ve hastane, toplum ve çiftlik hayvanları ile ilişkili enfeksiyonların önde gelen nedenlerinden biridir (Bloemendaal *et al.* 2010).

Bu patojenin stabilitesi ve dünya çapında yayılması, hareketli genetik elementlerin (MGE) yatay transferi yoluyla stafilokok cinsinin diğer üyelerinden direnç ve virülans faktörlerini hızla edinme ve aktarma yeteneğinden kaynaklanmaktadır. Tüm genom dizisi üzerine yapılan çalışmalar, *S. aureus* genomunun, tüm genomun yaklaşık %75-80'ini oluşturan nispeten kararlı bir çekirdek genoma ve kaset kromozomları, plazmitler, bakteriyofaj, transpozon ve daha az kararlı bir MGE oluştuğu ortaya koyulmuştur (Lowy 2003, Holden *et al.* 2004*). S. aureus*'taki MGE'ler soya özgüdür ve yatay transfer yoluyla serbestçe genomun içine ve dışına aktarılır. Çok çeşitli direnç ve virülans genlerini kodlarlar, böylece adaptasyon yetenekli ve oldukça dirençli yeni patojenik klonlar ortaya çıkar (Lowy 2003).

2.4 *S. aureus'*un Virülans Faktörleri

S. aureus'un hastalık yapma şiddetleri, sahip oldukları virülens faktörleri ve konak bağışıklığı ile ilişkilidir. *S. aureus*'un hücre duvarını çevreleyen bir mikrokapsülü vardır,

bu da penisilin bağlayıcı protein içeren bir hücre zarını çevreler. Çok sayıda savunma proteinleri mikrokapsülden dışarı çıkar veya sitoplazmadan atılarak konak dokularında hasara neden olabilir (Gladwin *et al.* 2014). S. *aureus'*un çeşitli virülans faktörleri Şekil 2.2 ʼde, *S. aureus*'un virülans mekanizmalarını Çizelge 2te özetlenmiştir (Teppo ʼ3. .(2012



Şekil 2.2 *S. aureus*'un virülans faktörleri (Gladwin *et al.* 2014)

S. aureus'un hastalıklara neden olmak için kullandığı virülans faktörleri (Gladwin *et al.* 2014):

1. Konak dokulara yapışmayı ve kolonizasyonunu destekleyen yüzey proteinleri (bağlı koagülaz/clumping faktör).
2. Dokularda bakteri yayılımını destekleyen invazinler (lökosidin, kinazlar ve hiyalüronidaz).
3. Fagositozu engelleyen yüzey faktörleri (kapsül ve protein A).
4. Stafilokokların hayatta kalmasını artıran biyokimyasal özellikler (karotenoid ve katalaz üretimi).
5. İmmünolojik maskeler (protein A, koagülaz).
6. Ökaryotik hücre zarlarına zarar veren toksinler (hemolizinler ve lökotoksin).
7. Septik şok semptomlarına katkıda bulunan süperantijenler (SAgs), toksik şok sendromu toksini [TSST] ve Enterotoksin (ET).

Bağışıklığı baskılayan virülens faktörleri (Bien *et al.* 2011, Gladwin *et al.* 2014):

1. *Protein A*: Bu protein, IgG'nin Fc kısmına bağlanan bölgelere sahiptir. Bu organizmayı fagositozdan koruyabilir.
2. *Koagülaz:* Bu enzim bakteri çevresinde fibrin oluşumuna yol açarak bakteriyi fagositozdan korur.
3. *Hemolizinler*: Alfa, beta, delta ve gama toksinleri. Kırmızı kan hücrelerini, nötrofilleri, makrofajları ve trombositleri yok ederler.
4. *Lökosidinler*: Lökositleri (beyaz kan hücreleri) yok ederler, CA-MRSA Panton-Valentine Lökosidin (PVL) adı verilen özel bir lökosidin üretir.
5. *Penisilinaz:* Bu, salgılanan bir betalaktamaz şeklidir. Penisilin molekülünün beta-laktam kısmını bozarak antibiyotiği etkisiz hale getirir.
6. *Penisilin bağlayıcı protein* (PBP): Transpeptidaz olarak da adlandırılan bu protein, hücre duvarı peptidoglikan oluşumu için gereklidir ve penisilin tarafından inhibe edilir.

Dokularda yayılmada (makroapertür) rol alan virülens faktörleri (Gladwin *et al.* 2014):

1. *Hyaluronidase* (Yayılma Faktörü): Bu protein, bağ dokusundaki proteoglikanları parçalar.
2. *Stafilokinaz:* Bu protein, oluşan fibrin pıhtılarını (streptokinaz gibi) lize eder.
3. *Lipaz:* Bu enzim, genellikle vücudumuzun yüzeyinde biriken katı ve sıvı yağları bozar. Bu degradasyon, yağ bezlerinin *S. aureus* kolonizasyonunu kolaylaştırır.
4. *Proteaz:* doku proteinlerini yok eder.

Ekzotoksin virülens faktörleri (Bien *et al.* 2011):

1. *Enterotoksinler* (ısıya dayanıklı): Gıda zehirlenmesine neden olan, kusma ve ishale neden olan ekzotoksinler. Serolojik olarak 8 gruba (A, B, C1, C2, C3, D, E ve F) ayrılırlar.

2. *Eksfoliatin*: Cildin dökülmesine neden olan yayılabilir bir ekzotoksindir Yenidoğanlarda sıklıkla rastlanılan Haşlanmış deri sendromundan sorumludurlar.
3. Toksik Şok Sendromu Toksini (TSST): A grubu β-hemolitik streptokokların pirojenik toksinine benzer, ancak çok daha ölümcüldür. Toksik şok sendromununa neden olur.

Çizelge 2.3 *S.aureus* virülans mekanizmaları (Teppo 2012)

Virülans faktörü	**Tarif**	**Rol**	**Klinik sonuçlar**
Bağlı koagülaz (Clumping faktör)	Yüzey proteinleri	Konak dokularına bağlanma	Endokardit, Yabanci cisim enfeksiyonlari, Septik artrit
Fibrinojen bağlayıcı protein, Kollajen bağlayıcı protein, Proteazlar, Lipazlar, Nükleazlar HyaluronidazlarElastazlar	MSCRAMM[1] İnvazyon	Konak dokulara penetrasyon	İvazyon ve yıkım
Hemolizin, PVL[2], Protein A, Kapsüler polisakkaritler	Sitokinler	Eritrosit hemolizi, Lökositlerin yok edilmesi, Opsonizasyondan kaçınma, Biyofilm üretimi	Nekrotizan pnömoni Metastatik enfeksiyonlar Apse enfeksiyonları
Katalaz, Stafiloksantin	Antioksinler	Reaktif oksijenin azaltilmasi	Dayanıklılık
TSST[3] Enterotoksinler Eksfolyatif toksinler	Ekzotoksinler	Sitokin salınımı Gastrointestinal toksinler, Epidermal yapıyı parçalar	Toksik şok sendromu, gıda zehirlenmesi, haşlanmiş deri sendromu
Penisilinaz PBP2a[4] *van*A[5] Atılım pompaları, Modifiye edici enzimler	Direnç belirleyicileri	Penisilini parçalar, Değiştirilmiş antibiyotik bağlanma yeri, İlaç moleküllerinin ekzositozu, İlac molekülünün inaktivasyon	Penisilin direnci Metisilin direnci Vankomisin direnci Aminoglikozid direnci

[1] MSCRAMM, yapışkan matris moleküllerini tanıyan mikrobiyal yüzey bileşenleri.
[2] PVL, Panton-Valentine lökositin
[3] TSST, Toksik Şok Sendromu Toksin
[4] PBP2a, *mec*A geni tarafından kodlanan penisilin bağlayıcı protein olan PBP2a
[5] *van*A, vankomisin direncini kodlayan gen.

Hücre Duvarı: S. aureus hücre duvarı antijenik yapıya sahiptir. Hücre duvarı sırasıyla asetil glikoz, amino N-asetilglukozamin, N-asetilmuramik asit olmak üzere iki tür ardışık ve karşılıklı antijenik şekerden oluşan doğrusal bir glikan zinciri içeren peptidoglikandan oluşur (Ray and Ryan 2004). Bu antijenik yapı patogenezde önemlidir çünkü mononükleer hücreler (Polimorfonükleer hücreler) tarafından salgılanan ve bir kemokin olan interlökin-1'i üretimine sebep olur (Al-Kobaisi *et al.* 2007). Hücre duvarının antijenik ikinci yapısı Teikoik asit, çift ester bağları ile bağlanmış ribitol veya gliserol birimleri içeren suda çözünür bir poli bileşiktir. Bir veya daha fazla amino asit veya şeker bileşeni içerir. Bu yapı, teikoik asit antijenleri adı verilen antijenlerin üretiminden sorumludur (Nair *et al.* 2000).

Biyofilm; Stafilokoklar, yabancı cisim enfeksiyonlarına ve tıbbi cihaz ilişkili enfeksiyonlara neden olan en yaygın bakteriyel patojenlerdir. Bakterileri konakçıdan koruyan biyomalzemeler üzerinde biyofilm oluşturma yeteneği, bu tür enfeksiyonlara katkıda bulunan ana faktördür (Lim *et al.* 2004). Biyofilm, canlı veya cansız bir alt tabakaya geri dönüşümsüz olarak bağlanan ve ürettikleri hücre dışı polisakkarit (sümüksü) bir matrise gömülü çok katmanlı bir hücre kümesi oluşturmak üzere yapışmayı kolaylaştıran, yüzeyle ilişkili bir mikroorganizma topluluğu olarak tanımlanabilir. Biyofilm mikroorganizmaların yüzeylere taşınması ve konakçı bağışıklık sisteminden ve antimikrobiyal ajnlardan korunmada rol alır (Mathur *et al.* 2006). Hem *S. aureus* hem de *S. epidermidis*, bir biyofilm oluşturan ve intravenöz kateterle ilişkili enfeksiyonların %50 ila 70'ine neden olduğu bilinen klinik olarak en önemli gram pozitif bakteriyel patojenler arasında yer alır (Tu Quoc *et al.* 2007). Son yirmi yılda, başta *S. epidermidis* olmak üzere özellikle biyofilm oluşturan *stafilokokların*, "kronik polimerle ilişkili enfeksiyon" olarak tanımlanan yeni bir enfeksiyona neden olduğu gösterilmiştir (Götz 2002).

2.5 *S. aureus*'un Neden Olduğu Hastalıklar

S. aureus'un neden olduğu hastalıklar 4 kategoriye ayrılabilir (Kluytmans *et al.* 1997):

1. Toksin aracılı hastalıklar: Gıda zehirlenmesi, haşlanmış deri sendromu, Toksik Şok Sendromu (TSS).
2. Deri ve yumuşak doku hastalıkları: Fronkül, selülit ve impetigo.
3. Doku Hastalıkları: Sıklıkla kemik, eklemler, kalp kapakçıkları, dalak ve karaciğer.
4. Akciğer ve idrar yolu enfeksiyonu: Pnömoni, kateterizasyona bağlı idrar yolu enfeksiyonu

S.aureus enfeksiyonları için bazı risk faktörleri aşağıda sıralanmıştır:

1. Kalıcı implantları, protezleri, drenleri ve kateterleri olan kişiler (Gurusamy *et al.* 2013).
2. Zayıf bağışıklık sistemi olan kişiler (HIV/AIDS, lupus veya kanser hastaları; organ nakli alıcıları; şiddetli astım hastaları) (Gurusamy *et al.* 2013).
3. Şeker hastaları (Lipsky *et al.* 2010).
4. Damardan uyuşturucu kullanıcıları ve bu kişilerle yakın temas (Otter et al. 2011, Loewen et *al.* 2017).
5. Kinolon antibiyotik kullanıcıları (Gurusamy *et al.* 2013).
6. Yaşlı insanlar (Dumyati *et al.* 2017).
7. Bir sağlık kuruluşunda uzun süre kalan veya çalışan kişiler (Gurusamy *et al.* 2013).
8. MRSA'nın bulunduğu Plajlar (Florida'daki) ve kıyı sularında (Amerika Birleşik Devletleri'nin Batı Kıyısı) zaman geçiren insanlar.
9. Sığınma evlerinde kalanlar, cezaevi mahkumları ve temel eğitimde askere alınanlar dahil olmak üzere diğer insanlarla sınırlı alanlarda zaman geçiren insanlar (Zinderman *et al.* 2004).
10. Veterinerler, hayvan bakıcıları ve evcil hayvan sahipleri (David and Daum 2010).

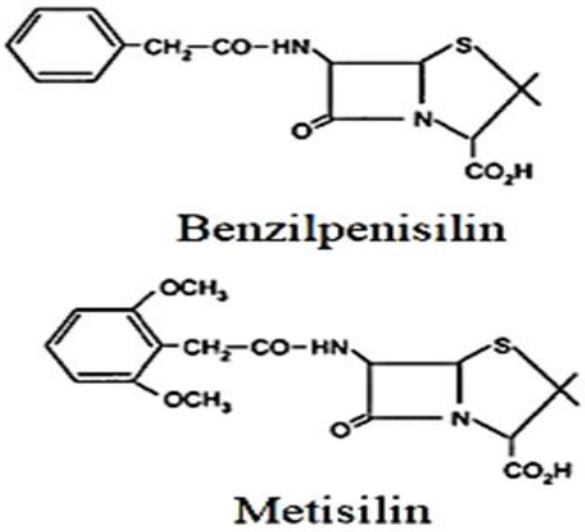
11. Pastörize edilmemiş süt tüketenler (Gopal and Divya Mart 2017).
12. Bağışıklığı baskılanmış ve ayrıca kolonize olan kişiler (Ficalora 2013).
13. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan kişiler (Gurusamy et al. 2013).
14. Göğüs cerrahisi geçirmiş kişiler (Gurusamy and 2013).

2.6 Antibiyotiklere Direnç

S. aureus'un neden olduğu enfeksiyonlar sadece temel yara bakımı ile tedavi ediliyordu, bakteriyemi gelişen hastalar enfeksiyondan ölebiliyordu. Penisilin'in keşfiyle birlikte bakteriyel hastalıkları tedavi etme yeteneği, *S. aureus* enfeksiyonu için sihirli tedavi olarak yaygın bir şekilde lanse edilmiştir. Ancak Penisilin, rutin bir antibiyotik olarak uygulanmasından kısa bir süre sonra, hastanelerde ve daha sonra toplumda penisilin direnci ortaya çıkmıştır. Penisilin direnci, β-laktamazı kodlayan *bla*Z geninden kaynaklanmaktadır. β-laktamaz amoksisilin gibi β-laktam antibiyotiklere maruz kalındığında sentezlenen hücre dışı bir enzimdir (Rammelkamp and Maxon 1942). *bla*Z geni, β-laktam halkasını hidrolize ederek β-laktamı inaktif hale getirir. Bu inaktivasyon, sefalosporinler ve karbapenemler gibi penisilin bazlı antibiyotikleri etkisiz hale getirir (Lowy 2003).

Stafilokok hücresi, peptidoglikan adı verilen 2-3nm kalınlığında ağ benzeri bir yapı ile çevrilidir. Peptidoglikan, bir dizi kısa glikan zincirinden oluşur ve bu zincirler, β-laktamaz sınıfındaki kimyasal yapıları verilen Penisilin ve Metisilin gibi antibiyotikler tarafından hedeflenir (Şekil 2.4). Penisilin bağlayan proteinlerin (PBP) tümü, bakteri hücre duvarlarının ana bileşeni olan peptidoglikan sentezinin son aşamalarında yer alır. PBP'lerin lipid ara ürünlerinden çapraz bağlı peptidoglikanın sentezlenmesi ve peptidoglikanın öncüsünden D -alaninin çıkarılmasına aracılık eden bir dizi reaksiyonu katalize etmektedir. Bu reaksiyon sitoplazmik zarın dış yüzeyinde gerçekleşir. *S. aureus*'un dört PBP'si vardır: PBP1, PBP2, PBP3 ve PBP4. PBP'lerin iki protein alanı vardır: biri çapraz bağlanmada (transpeptidasyon) ve diğeri glikan zincirinin uzatılmasında (transglikosilasyon) yer alır. Çapraz bağlanma için kök peptidin bağına benzeyen β-laktam antibiyotikler, çapraz bağlanma reaksiyonuna

müdahale ederek PBP'lerin transpeptidasyonunu inhibe ederek hücre duvarının zayıflamasına ve dolayısıyla hücrelerin yırtılmasına neden olur (Stapleton and Taylor 2008).



Şekil 2.3 β-laktam antibiyotiklerden Penisilin ve Metisilin'in kimyasal yapıları (Stapleton and Taylor 2008)

MRSA ilk olarak 1960'ların sonlarında bildirilen bir salgında Amerika Birleşik Devletleri'nde tanımlanmıştır. 1975'e gelindiğinde, eğitim hastanelerinden ve özellikle hastanelerden ve yanık hastalarına bakan birimlerden düzenli olarak MRSA salgınları bildirilmiştir. O zamandan beri, bu organizmanın hastanelerde ve diğer sağlık kuruluşlarında görülme sıklığında genel olarak önlenemez bir artış meydana gelmiştir. Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) salgınları yanık üniteleri ve yoğun bakım üniteleri için büyük sorunlar yaratmıştır. Epidemik MRSA (EMRSA) olarak adlandırılan bazı MRSA suşları hastalar arasında hızla yayılma kabiliyetine sahiptir ve baskın klonal EMRSA tip 15, 16 ve 17 Birleşik Krallık'ta önemli bir sorun haline gelmiştir (Edwards-Jones *et al.* 2004).

MRSA suşlarını toplum kökenli (CA), hastane kökenli (HA) ve hayvan kökenli (LA) MRSA olarak 3'e ayrılabilir. Toplum kökenli (CA) MRSA enfeksiyonları, sağlıklı ve predispozan risk faktörleri olmayan bireylerde meydana gelen MRSA enfeksiyonları olarak tanımlanmıştır. CA-MRSA, toplum içinde yayılma yeteneğine sahip, genellikle

β-laktamlar dışındaki çoklu dar spektrumlu antimikrobiyallere karşı duyarlıdır. CA-MRSA enfeksiyonları ağırlıklı olarak deri ve yumuşak dokuyu içerir, ancak nekrotizan pnömoni ve nekrotizan fasiit tanımlanmıştır. Çeşitli araştırma raporları, CA-MRSA'nın, hastanede edinilmiş MRSA suşlarının (HA-MRSA) yerini alabileceğini öne sürmektedir (Bassetti *et al.* 2009).

Metisilin direncinin ortaya çıkmasından bu yana, MRSA dünya çapında hastanelerde yaygınlaşarak bakteriyemi, pnömoni, cerrahi alan enfeksiyonları ve diğer hastane enfeksiyonlarına neden olmuştur. MRSA enfeksiyonları, yüksek morbidite ve mortalite ve artan hastane yatış maliyetleri ile ilişkileri nedeniyle hem hastalar hem de sağlık hizmetleri sistemleri için bir yük oluşturmaktadır (Palavecino 2007). Hastane kan dolaşımı enfeksiyonlarına ilişkin ülke çapında yapılan bir sürveyans çalışmasında, *S. aureus*'un kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olan en yaygın ikinci organizma olduğu ve MRSA izolatlarının oranının 1995'te %22'den 2001'de %57'ye yükseldiği bildirmiştir (Wisplinghoff *et al.* 2009). Safdar vd.(2007)'ye göre HA-MRSA ve CA-MRA'yı ayırt etmek için sıklıkla kullanılan özellikler Çizelge 2.4'te verilmiştir.

Çizelge 2.4 HA-MRSA ve CA-MRSA'yı ayırt etmek için sıklıkla kullanılan özellikler (Safdar *et al.* 2007)

Faktör	HA-MRSA	CA-MRSA
Risk faktörleri ve risk altındakiler	Sağlık hizmeti sırasındaki temas	Takım sporu katılımcıları, hapsedilmiş kişiler, askerler ve çocuklar
SCC mec tipi	Tip I-II-III	Tip IV ve V
Toksinler	Az	Çok
Panton-Valentine lökositin (PVL)	Nadiren	Genel
Antibiyotik direnci	Çoklu ilaç dirençli	B-laktamlar hariç çoğuna duyarlı
İlişkili olduğu klinik sendromlar	Bakteriyemi, Pnömoni	Deri ve Yumşak doku enfeksiyonları

Hayvan kökenli (LA) MRSA Kore, Brezilya, İsviçre, Malezya, Hindistan, Büyük Britanya, Danimarka ve Çin'de gözlenmiştir (Gopal *et al.* 2017). Ünal'ın (2007) Türkiye'de yapmış olduğu plazmid analizleri ve Pulsed Field Jel Elektroforezi verilerine

göre, Kırıkkale ve çevresindeki süt sığırcığı işletmelerinde sınırlı sayıda *S. aureus* klonunun varlığını saptamış, inek kökenli izolatlar arasında MRSA suşlarına rastlanmadığını bildirmiştir. İneklerden izole edilen stafilokoklarda antibiyotik direnç tehlikesinin sınırlı göründüğünü ancak antibiyotiklere direncin oluşmasını ve bakterilerdeki çoğul dirençliliğin engellenmesi için ülke genelinde çok merkezli sörveyans programları uygulanarak patojen ve indikatör bakterilerde direnç durumunun sürekli kontrol edilmesi gerektiğini rapor etmiştir (Ünal *et al.* 2012).

Tüm MRSA suşları, *mec*A genini barındıran stafilokokal kaset kromozomu (SCC) adı verilen mobil bir genetik eleman taşır. Bu gen, β-laktam antibiyotiklere direnç sağlayan hücre duvarındaki peptidoglikanların çapraz bağlanmasından sorumlu bir enzim olan penisilin bağlayıcı 78 kDa molekül ağırlığındaki protein 2a (PBP2a)'yı kodlar. PBP2a, β-laktamlar için düşük bir afiniteye sahiptir, bu da tüm bu antibiyotik sınıfına dirençle sonuçlanır. Metisilin direnci, tüm beta-laktam ve beta-laktam türevi antibiyotiklere karşı direncin ifadesi olarak kabul edilmektedir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile *mec*A geni varlığının tespit edilmesi altın standart yöntem olarak kabul edilmektedir. On üç farklı SCCmec türü tanımlanmıştır. Farklı SCCmec türleri, farklı antimikrobiyal direnç oranları gibi farklı mikrobiyolojik özellikler oluşturur. Tüm SCCmec elemanlarının sahip oldukları ortak özellikler konakçı kromozomal gen (*orf*X) içinde aynı bölgede bulunmalarıdır. Daha büyük ve daha karmaşık SCCmec öğeleri HA-MRSA ile ilişkilendirilirken, daha küçük SCCmec kasetleri CA-MRSA ile ilişkilendirilmektedir (Urushibara *et al.* 2020).

2.7 MRSA Tanı Yöntemleri

MRSA'yı teşhis etmek için hızlı ve kolay bir yöntem bulunmadığından, enfeksiyonun ilk tedavisi genellikle tedaviyi yapan doktorun tecrübesine dayanır. Fakat son yıllarda klinik teşhisi doğruluğunu artırmak adına PBP2a proteinini tespit eden hızlı bir lateks aglütinasyon testi laboratuvarlarda kullanılmaktadır (Mackay 2007). MSSA ve MRSA arasında daha iyi ayrım yapmak için özel kültür ortamları geliştirilmiştir ve bazı durumlarda bu tür ortamlar, farklı antibiyotiklere dirençli belirli suşları tanımlamak için

kullanılır. Metisiline duyarlı *S. aureus'un* (MSSA) aksine, MRSA besiyerlerinde yavaş çoğalır (Murray 2004).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) testi, MRSA suşlarını tanımlamak için konvansiyonel yöntemlerle birlikte kullanılan güvenilir bir yöntemdir. Bir dizi antibiyotiğe direnç kazandıran *mec*A geni, MRSA'da her zaman mevcuttur ve genellikle MSSA'da yoktur, ancak bazı durumlarda *mec*A geni MSSA'da bulunur ancak eksprese edilmez. Bu sebeple disk difüzyon vb. yöntemlerle de metisilin direnci doğrulanması veya farklı genlerin tespitinin yapılması önemlidir.

2.8 Gelecek Perspektifleri

Birçok yeni antibakteriyel ilaç üretilmiş olmasına rağmen, bakterilerde ilaç direncinin artması ve tedavi seçeneklerinin hızla tükenmesi küresel bir endişe haline gelmiştir. Antimikrobiyal direnç ile mücadele sağlık hizmetlerinde ve toplumda birden fazla ortakla geniş bir yaklaşımı zorunlu kılmaktadır. Örneğin, MRSA ile kolonize olan hastaların %18-33'ü daha sonra çoklu ilaç dirençli (MDR) MRSA ile enfekte olduğu bildirilmiştir. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC), ABD devletinde yılda 2 milyondan fazla hastalığın ve yaklaşık 23 bin ölümün antibiyotik direnciyle ilişkili olacağını tahmin etmektedir (Okwu *et al.* 2019).

MRSA'yı hedefleyen mevcut antibiyotikler hücre duvarı biyosentezi, protein sentezi ve nükleotid sentezinin baskılanması ile etkilerini gösterirler. Bununla birlikte, MRSA tüm bunlara karşı direnç geliştirmiştir. Günümüzde vankomisin, daptomisin, seftarolin ve linezolid gibi son çare antibiyotiklere bile MRSA direnci kayıtlara girmiştir. Bu gözlem, MRSA'nın muhtemelen yakın gelecekte daha fazla direnç geliştireceğini de göstermektedir. Bu nedenle, MRSA tarafından elde edilen antibiyotik direnç mekanizmalarının gelişimiyle yüzleşmek için yeni antibakteriyel madde geliştirme stratejilerine acilen ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle PBP2a'yı hedefleyen, antimikrobiyal tedavi umut verici bir yaklaşım oluşturmaktadır (Shalaby *et al.* 2020).

3. MATERYAL VE METOT

Ankara ilinde bulunan sağlık kurumlarından özel bir laboratuvara gelen toplam 100 adet sürüntü (sıvap) örneklerinden (yanık, yara, kulak, apse, burun) *S. aureus* izolasyon ve identifikasyon çalışmaları yapılmıştır. Metisilin dirençli *S.aureus* izolatlarını belirlemek için Metisilin ve Sefoksitin disklerine direnç durumu ve çoklu ilaç direncini (MDR) tanımlamak için farklı antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Konvensiyonel yöntemlerle izole edilen MRSA izolatlarında mecA gen varlığı PZR ile araştırılmıştır. İlk kez bu tez ile 3 farklı benziltiyoüre bileşiğinin (N-((2-chloropyridin-3-yl) carbamothioyl) thiophene-2-carboxamide (L-31), N-(morpholine-4-carbonothioyl) benzamide (EHL-90) ve N-(diphenylcarbamothioyl) benzamide (EHL-93) MRSA izolatlarına karşı antibakteriyel etkinliği incelenmiştir.

3.1 Örneklerin Alınması

Tezin örneklemini Ankara ilindeki farklı hastanelerden 2022 yılı içerisinde özel bir laboratuvara gelen, yara, yanık, kulak, nazal ve abse sürüntülerini içeren 100 klinik sıvap örneği oluşturmuştur. Laboratuvar örnekleri kaynaklarına ve cinsiyet durumuna göre Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Sürüntü örneklerinin kaynakları ve sayısı

Örneğin Kaynağı (Köken)	**Örnek sayısı**	**Cins**	
		Kadın	**Erkek**
Burun sürüntüleri	26	8	18
Kulak sürüntüleri	7	2	5
Yanık sürüntüleri	38	17	21
Yara sürüntüleri	24	8	16
Apse sürüntüleri	5	2	3
Toplam	**100**	**37**	**63**

3.2 İzolasyon, Tanımlama ve Antimikrobal Direnç/Duyarlılık Çalışmaları

3.2.1 Kullanılan besi yerleri

Stafilokok izolatlarının izolasyon ve identifikasyon çalışmalarında, Çizelge 3.2'de detaylı bilgileri verilen %5 koyun Kanlı Agar, Mannitol Salt Phenol Red Agar, Tryptic Soy Agar, Tripticase Soy Broth besi yerleri kullanılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testlerinde disk difüzyon testi için Mueller-Hinton agar, broth mikrodilüsyon testinde katyon ayarlı Mueller Hinton II broth besi yerleri kullanılmıştır. Tüm besi yerleri üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyerleri sterilite kontrolü için 37ºC 'de 18 saat bekletildikten sonra kullanılıncaya kadar +4ºC 'de saklanmıştır. Kullanılan bazı besi yerlerinin görüntüsü, Şekil 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.2 Kullanılan besi yerleri

No.	Besi yerleri	Kısaltması	Üretici Firma ve Katalog numarası
1	Kanlı Agar (%5 Koyun Kanı)	BA	Oxoid-CM0854
2	Mannitol Salt Phenol Red Agar	MSA	Sigma-63567
3	Mueller-Hinton Agar	MHA	Merck-105437
4	Mueller-Hinton II Agar	MHA-II	BBL-296164
5	Tryptic Soy Agar	TSA	Merck-22091
6	Triptic Soy Broth	TSB	Merck-22092
7	Nutrient Agar	NA	Merck -105450
8	Nutrient Broth	NB	Merck-105443



Şekil 3.1 Kullanılan bazı besiyerleri

3.2.2 Kullanılan kimyasallar

Stafilokok izolatlarının izolasyon ve identifikasyon çalışmalarında Çizelge 3.3'te detaylı bilgileri verilen kimyasallar kullanılmıştır.

Çizelge 3.3 Kullanılan kimyasallar

No.	Kimyasal	Firma
1	Etanol %70	Merck
2	Gram boyama seti	Merck
3	% 3 Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	Merck
4	Oksidaz (N,N,N,N tetramethyl-p-phenylenediaminedihydrochloride)	Himedia
5	EDTA'lı koyun plazması	Becton, Dickinson and Company
6	Steril % 0,9 NaCl çözeltisi	Polifarma
7	Dezenfektan	Dermosept
8	Gliserol (C3H8O3)	GCC
9	DMSO	Merck

3.2.3 Kullanılan antibiyogram diskleri

MRSA ve MDR-MRSA'nın identifikasyonu çalışmalarında, Çizelge 3.4'te detaylı bilgileri verilen antibiyogram diskleri kullanılmıştır.

Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan antibiyogram diskleri

No.	Antibiyogram Diskleri	Doz	Firma
1	Metisilin	10µg	Bioanalyse-Türkiye
2	Sefoksitin	30µg	
3	Penisilin	10U	
4	Gentamisin	10µg	
5	Klindamisin	2µg	
6	Siprofloksasin	5µg	
7	Rifampisin	5µg	
8	Eritromisin	15µg	
9	Imipenem	10µg	
10	Sefazolin	30µg	
11	Antibiyogram boş diskleri	-	Oxoid

3.2.4 Laboratuvar ekipmanları

Çalışmada kullanılan laboratuvar ekipmanlarının detaylı bilgileri Çizelge 3.5'te verilmiştir.

Çizelge 3.5 Genel laboratuvar ekipmanları

No.	Ekipmanlar	Firma
1	Otoklav	HMC Hirayama
2	Bunzen beki	Amal
3	Santrifüj	Fisher Scientific
4	Hassas terazi	Mettler
5	Derin dondurucu	Hettich
6	Cam lam	Citotest Labware
7	Düz kapaksız cam tüp	S&H Labware
8	Steril pipet ucu	Eppendorf
9	Tek kullanımlık petri kapları 90mm	Fisher Scientific
10	Distile su cihazı	Aromel
11	Eppendorf tüp (farklı boyutlar)	Eppendrof
12	Mikro spin santrifüj	Nüve
13	Laminar flow kabinleri (Laminar hava akış kabini)	Gallenkamp
14	Isıtıcılı manyetik karıştırıcı	Velp
15	İnkübatör	Nüve EN 500
16	Işık mikroskobu	Olympus
17	Mikropipet (farklı boyutta)	Bioanalyse
18	Kuru sterilizatör	Memmert
19	Parafilm	Bemis
20	Sıvap	Bioanalyse
21	Plastik öze	Looplast, LP Italiana SPA
22	pH metre	Inolab pH 7110 – WTW
23	Termal Döngü Cihazı	Omega flour
24	Elektroforez sistemi	Nüve
25	Jel Dökümantasyon Sistemi	Nüve

3.3 Stafilokokların İzolasyonu ve Tanımlanması

Laboratuvara getirilen sıvap örneklerinden şekil 3.2'de görüntüleri verilen kanlı agara ekimler yapılmıştır. Petriler 37^{o}C 18-24 saat aerobik atmosferde inkübasyona bırakılmıştır. Üreme sonunda koloniler morfoloji ve hemoliz özelliklerine göre değerlendirilmiştir. Üzeri pürüzsüz ve yuvarlak 1-2 mm çapında beyaz, gri veya sarı renkli hemoliz oluşturan koloniler stafilokok şüpheli olarak değerlendirilmiştir. Şüpheli kolonilerden gram boyama yapılarak mikroskobik olarak değerlendirilmiştir. Gram pozitif, üzüm salkımı şeklinde yuvarlak bakteri kolonilerinden nutrient agara pasajlanarak saflaştırılma yapılmıştır (Cappuccino and Sherman 1996).



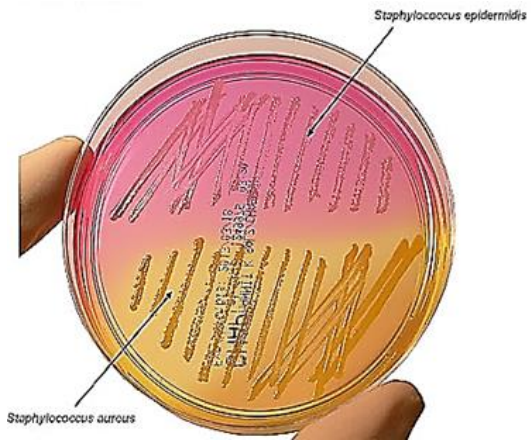
Şekil 3.2 Kanlı agar besiyerinin hazırlanması

Patojen stafilokokların ayrımı için mannitol fermentasyon testi, katalaz, lam koagülaz ve oksidaz testleri yapılmıştır (Baron *et al.* 1994). Yapılan testler sonucunda *S.aureus* olarak tanımlanan izolatlar, diğer testler yapılana kadar %20 gliserol içeren nutirent broth besiyerinde süspanse edilmiştir ve -22˚C de buzdolabında saklanmıştır (Karch *et al.* 1995).

3.3.1 Mannitol fermentasyon testi

Bu test bakterilerin karbonhidrat mannitolünü bir karbon kaynağı olarak fermente edip edemediğini test etmek için kullanılmıştır (Cappiccino and Sherman 1996). Bu amaçla olası patojenik stafilokokların izolasyonu için kullanılan seçici besiyeri olan Mannitol Salt Agar (MSA) kullanılmıştır. Bu besiyerinde koagülaz pozitif stafilokoklar sarı koloniler oluştururken koagülaz negatif stafilokoklar kırmızı koloniler oluşturur.

Nutrient agardaki saf bakteri kolonilerinden öze ile alınarak MSA besiyerine ekilmiş ve 24 saat 37^{o}C'de inkübe edilmiştir. Şekil 3.3'te gösterildiği gibi çevresinde sarı halka oluşturan sarı koloniler mannitol pozitif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.3 Mannitol salt agarda *S. aureus* ve *S.epidermidis* üremesi arasındaki fark (Winn *et al.* 2006)

3.3.2 Katalaz testi

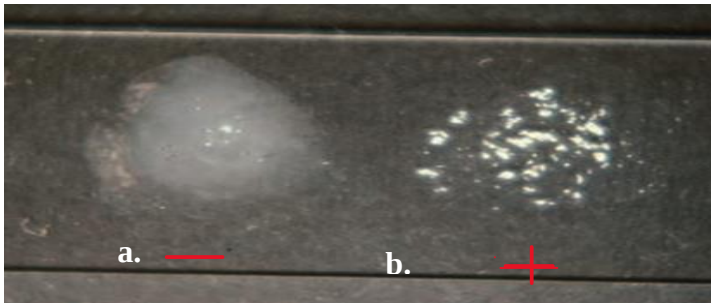
Hidrojen peroksidin ayrışmasında rol alan katalaz enziminin bakterilerdeki varlığını araştırmak için bu test yapılmıştır (Cappiccino and Sherman 1996). TSB'de 24 saatlik kültürü yapılan bakterilerden 1-2 damla alınarak, bir lam üzerinde 1-2 damla bulunan %3 hidrojen peroksit (97 mL steril su ile 3 mL %30 Stok hidrojen peroksit konsantrasyonu) üzerine ilave edilmiştir. Şekil 3.4'de görseli verilen gaz çıkışı pozitif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.4 Hussein vd. (2018) tarafından *S. aureus*'a pozitif katalaz testi sonucu

3.3.3 Lam koagülaz testi

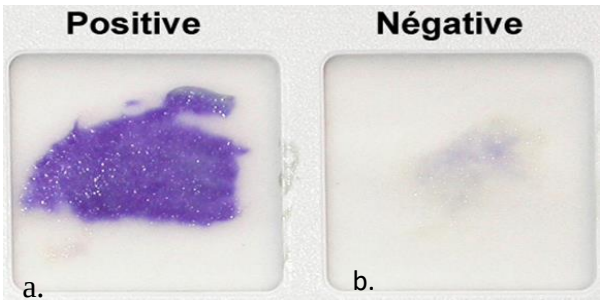
Bu test bakterilerin plazmayı pıhtılaştıran bir protein olan Koagülaz'ı üretme yeteneğini saptamak için kullanılmıştır (Harley and Prescott 2002). TSB'de üreyen bakteri kolonisinden bir damla, seyreltilmiş sitratlı plazma (1mL sitratlı plazma ile 3mL steril SF) ile bir slayt üzerinde karıştırılmıştır. Bir dakika içinde Şekil 3.5b'de görüntüsü verilen kokların kümelenmesi pozitif olarak kabul edilmiştir.



Şekil 3.5 Lam koagülaz testi: a. Negatif sonuç b. Pozitif sonuç (Winn *et al.* 2006)

3.3.4 Oksidaz testi

Sitokrom C oksidaz enziminin varlığının araştırıldığı bir testtir (Cappiccino and Sherman 1996). TSB'de üretilen saf bakterilerden birkaç damla temiz bir filtre kağıdına damlatılmıştır. Ardından filtre kağıdına 2-3 damla oksidaz reaktifi eklenmiş ve 20-30 saniye içinde Şekil 3.6'da verilen rengin koyu mora dönüşüp dönüşmemesine göre değerlendirilmiştir.



Şekil 3.6 Oksidaz testi; a. Pozitif sonuç b. Negatif sonuç (Holt *et al.* 1994, Collee *et al.* 1996)

3.4 *S. aureus* İzolatlarında Metisilin ve Çoklu İlaç Direncinin Belirlenmesi

MRSA'yı saptamak için tüm izolatlara Sefoksitin ve Metisilin disk difüzyon testleri Bauer vd. (1966)'e göre gerçekleştirilmiştir. Bir gecelik bakteri kültüründen, 4-5 koloni bakteri izolatı öze ile alınmıştır ve McFarland No. 0,5 (Şekil 3.1) bulanıklık standardına eşdeğer olana kadar 5mL steril %0,9 serum fizyolojik içersinde homojenize edilmiştir. Bakteri süspansiyonuna steril bir sıvap batırılmıştır ve Mueller-Hinton agar yüzeyini tamamen kaplayacak şekilde ekim yapılmıştır. Steril forseps ile 30µg sefoksitin ve 10µg metisilin diskleri Mueller Hinton agar yüzeyine yerleştirilmiştir. Disk, agar ile tam temas edecek şekilde hafifçe bastırılmıştır. Petriler 35–37˚C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra oluşan zon çapları duyarlı, orta duyarlı veya dirençli olarak Çizelge 3.6' da verilen Klinik ve Laboratuar Standartları Enstitü'sünün (CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020) değerlerine göre belirlenmişir.



Şekil 3.7 McFarland No. 0,5 standardı

Çizelge 3.6 Kullanılan antibiyotik diski ve CLSI standart değerler

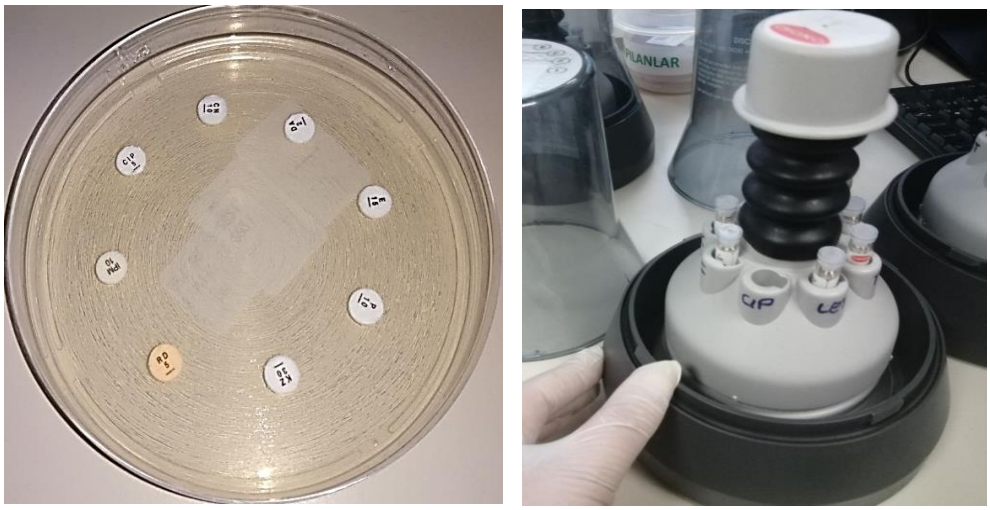
Antibiyogram Diskleri	Doz (µg)	Kısaltması	Inhibisyon Çapları			Firma
Metisilin	10 µg	MET	≥17	15-16	≤14	Bioanalyse-Türkiye
Sefoksitin	30 µg	FOX	≥22	-	≤ 21	

Rutin laboratuvarda üçten fazla beta-laktam ve beta-laktam olmayan antibiyotik sınıfına dirençli ise mMRSA (çoklu ilaç dirençli MRSA) olarak tanımlanmaktadır. Metisilin dirençli *S.aureus* olarak belirlenen izolatların disk difüzyon yöntemi ile çizelge 3.7'de

verilen 8 farklı antibiyotiğe karşı duyarlılık testi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar CLSI-2020 değerlerine göre belirlenmiştir.

Çizelge 3.7 Antibiyotik diskleri ve CLSI standart değerler

Antibiyogram Diskleri	Doz (µg)	Kısaltması	Inhibisyon Çapları			Firma
			Duyarlı%	Orta %	Dirençli%	
Penisilin	10U	PEN	≥29	-	≤ 28	Bioanalyse-Türkiye
Gentamisin	10 µg	CN	≥15	13-14	≤12	
Klindamisin	2 µg	DA	≥21	15-20	≤14	
Siprofloksasin	5 µg	CIP	≥21	16-20	≤15	
Rifampisin	5 µg	RD	≥20	17-19	≤16	
Eritromisin	15 µg	ERY	≥23	14-22	≤13	
Imipenem	10 µg	IPM	≥19	16-18	≤15	
Sefazolin	30 µg	KZ	≥18	15-17	≤14	



Şekil 3.8 Çalışmada kullanılan antibiyogram diskleri

3.5 MRSA İzolatlarında *mec*A Gen Varlığının Tespiti

3.5.1 Kullanılan kimyasal maddeler

Yapılan konvansiyonel çalışmalarda MRSA olarak belirlenen izolatlarda *mec*A gen varlığı PZR yöntemi ile araştırılmıştır. MRSA izolatlarından DNA ekstraksiyonu amacı ile DiaRex DNA ekstraksiyon Kiti (Katalog no: SD-0323-50, Diagen/Türkiye) kullanmıştır. Kit içeriği Çizelge 3.8'de verilmiştir.



Şekil 3.9 DiaRex DNA ekstraksiyon Kiti

Çizelge 3.8 DNA ekstraksiyon kitinin içeriği

No.	İçerik	Miktar
1	Toplama tüpleri içinde spin kolonlar	5 adet
2	Toplama tüpleri (2mL)	50 adet
3	Lizis solüsyonu (LBD)	1mL
4	Proteinaz K solüsyonu (PKD)	1.25mL
5	Bağlama solüsyonu (BBD)	15mL
6	Yıkama solüsyonu (WBD-1)	17mL
7	Yıkama solüsyonu (WBD-2)	17mL
8	Elüsyon solüsyonu (EBD)	15mL

DNA amplifikasyonu aşamasında kullanılmak üzere 2X Taq Master Mix (Vivantis-Taq DNA Polymerase (0,05u/µl), 2X ViBuffer A (100mM KCl, 20mM TrisHCl (pH9.1, 20°C) ve (0,02% Triton™ X-100), 0.4mM dNTPs ve 3.0mM $MgCl_2$) ticari olarak sağlanmıştır. Çalışmada Çizelge 3.9 'da sekansı verilen ve Diagen A.Ş. tarafından tasarlanan *mec*A gen primer seti ticari olarak sentezlettirilmiştir.

Çizelge 3.9 Kullanılan *mec*A gen primerleri

Primer	Sekans	Ürün boyutu
*mec*A (F)	5'GCA GTT ATT GGT AAA AAG GGA 3'(25)	236 bp
*mec*A (R)	5'GTT TGA GGG TGG ATA GCA 3' (20)	

(F) = İleri primer (R)= Geri primer

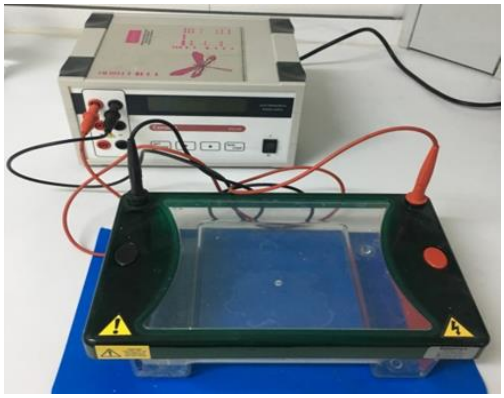
Çoğaltılan DNA'nın elektroforezinde agaroz (Vivantis-PC0701), distile su, etidyum bromide 10 mg/mL (Vivantis-PC0707) ve 10X TBE (Tris/Borate/EDTA) Buffer (0,089M Trisbase, 0,089M Borate, 0,002M EDTA), 6x Loading Dye solusyonu (Vivantis - NL0401) ve 100 bp'lik marker (Vivantis - NL0401) kullanılmıştır.

3.5.2 Kullanılan cihaz ve ekipmanlar

PZR çalışmalarında termal döngü cihazı (Bioer, Genetech), elektroforez cihazı (Consort, EV245), jel görüntüleme sistemi (Omega Flour Plus, Aplegen), mikrosantrifüj (Eppendorf 5417R) ve DNA saflığının belirlenmesinde Quawell UV-Spektrofotometre (Q3000) cihazı kullanılmıştır. (Şekil (3.11 ve,3.9,3.10



Şekil 3.10 Termal Döngü Cihazı ve Quawell UV-Spektrofotometre



Şekil 3.11 Elektroforez sistemi



Şekil 3.12 Jel Dökümantasyon Sistemi

3.5.3 DNA izolasyonu

DNA ekstraksiyonu DiaRex DNA ekstraksiyon Kiti kullanılarak üretici firmanın önerdiği protokole göre yapılmıştır. DNA ekstraksiyon kitinde bulunan WBD-1 ve WBD-2 solüsyonlarına sırasıyla 11mL ve 38 mL absolut etanol ile dilue edilmiştir. Daha sonra 1 gece NB'de inkübe edilen MRSA izolatlarından 1-3 mL (OD 600=1) alınarak 5000xg devirde 5dk santrifüj yapılmıştır ve süpernatant atılmıştır. Kalan pelet üzerine LBD solüsyonundan 300µL eklenmiş ve 2x 20 saniye 4000rpm olacak şekilde homejenizasyon yapılmıştır.

Ardından PKD slüsyonundan 25 µL eklenip ve lizat vorteks ile homojen hale getirilip 56ºC 30 dakika inkübe edilmiştir. Süre sonunda 5000xg devirde 5dk santrifüj yapılmıştır ve süpernatant yeni tüpe aktarılmıştır. Süpernatant üzerine BBD

solüsonundan 300µL eklenmiştir ve lizat pipetaj ile homojen hale getirilmiştir. Daha sonra tüm içerik spin kolana aktarılmıştır ve 8000xg devirde 1dk santrifüj yapılmıştır. Atık tüp değiştirilip kolon üzerine 500µL WBD-1 solüsyonu eklenmiştir ve 8000xg devirde 1dk santrifüj yapılmıştır. Atık tüp değiştirilip kolon üzerine 500µL WBD-2 eklenmiştir ve 8000xg devirde 1dk santrifüj yapılmıştır. Son işlem birkere daha tekrar edildikten sonra spin kolon genomik DNA elde edileceği tüpe aktarılmıştır ve üzerine 100-200 µL EBD solüsyonu eklenmiştir. Tüp oda sıcaklığında 1dk inkübe edildikten sonra 8000xg 1dk santrifüj edilmiştir. Bu işlemler sonunda DNA ekstraktı eppendorf tüpünde toplanmıştır ve bu ekstrakt -20ºC de muhafaza edilmiştir.

3.5.4 DNA saflığının belirlenmesi

Numunelerin protein, RNA vb. kontaminasyonu optik yoğunluk OD (Optical density, optik yoğunluk) 260/ 280 nm oranı gözlemlenerek değerlendirilmiştir. Ekstrakte edilen DNA 1µL alınarak Qubit cihazının lensine eklenmiş ve ölçüm yapılmıştır. OD 260/280 oranı 1,7-2.0 olanlar PZR çalışmalarında kullanılmak üzere -22ºC 'de muhafaza edilmiştir.

3.5.5 Primerlerin hazırlanması

Liyofilize ileri ve geri primerler (Diagen), bir stok çözelti olarak 100 pmol/µL'lik bir nihai konsantrasyon verecek şekilde nükleaz içermeyen su içinde çözündürüldü. 10 pmol/µL çalışan bir primer solüsyonu elde etmek için 90µL nükleaz içermeyen suya 10µL primer stok solüsyonu eklenmiştir.

3.5.6 Reaksiyon karışımı (PZR)

Elde edilen DNA izolatlarında *mec*A gen varlığını araştırmak amacıyla, Çizelge 3.10 'da detayları verilen primer çifti kullanılmıştır. PZR tüplerinde son konsantrasyonu 25µL olacak Çizelge 3.11'de miktarları verilen PZR karışımı hazırlanmıştır.

Çizelge 3.10 Bir PZR karışımındaki bileşen, konsantrasyon ve miktar

No.	İçerik	Hacim (µL)
1	2x Tag Master Mix (Vivantis)	12,5
2	10 pmol/µL Primer F	1
3	10 pmol/µL Primer R	1
4	Ultra saf su	8,5
5	DNA örneği (en az 0,1 ng)	2
6	Genel toplam	25

(F) = İleri primer **(R)=** Geri primer

3.5.7 PZR programı

Metisilin direncinden sorumlu *mec*A genini çoğaltmak için hazırlanan PZR tüpleri, gen çoğaltma program bilgileri Çizelge 3.12'de verilen termal döngüleyiciye (Bioer, Genetech) yerleştirilerek DNA çoğaltma işlemi yapılmıştır.

Çizelge 3.11 PZR programı

No.	Adımlar	Sıcaklık (°C)	Zaman	Siklus
1	Ön denatüryason	95°C	5 dk	1
2	Denatüryason	95°C	10 sa	40
3	Birleşme	59°C	30 sa	
4	Uzama	72°C	5 sa	
5	Son uzama	72°C	5 dk	1
6	Muhafaza	4°C	∞	

3.5.8 Agaroz jel elektroforez protokolü

PZR programı ile çoğaltılan reaksiyon ürünleri aşağıda hazırlanma bilgileri verilen %1 agaroz jelde yürütülmüştür.

1. 100 mL 1X TAE bir şişeye alınmıştır.

2. Tampona 1 gr agaroz eklenmiştir.
3. Çözelti, tüm jel partikülleri eriyene kadar (Mikrodalga kullanılarak) kaynama noktasına kadar ısıtılmıştır.
4. Agaroz çözeltisine 1µL Ethidium Bromide (10mg/mL) eklenmiş ve çözelti 50^{o}C'ye soğumaya bırakılmıştır.

Tarakları takılmış jel tepsisinin her iki kenarı kapatıldıktan sonra agaroz solüsyonu döküldü ve agaroz oda sıcaklığında 30dk katılaşmaya bırakılmıştır. Daha sonra sabitlenmiş taraklar dikkatlice çıkarılmıştır ve ardından elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Elektroforez tankının içerisine jel yüzeyini 3-5 mm üstüne ulaşana kadar 1X TBE-elektroforez bufferı eklenmiştir.

3.5.9 DNA yüklemesi ve görüntülenmesi

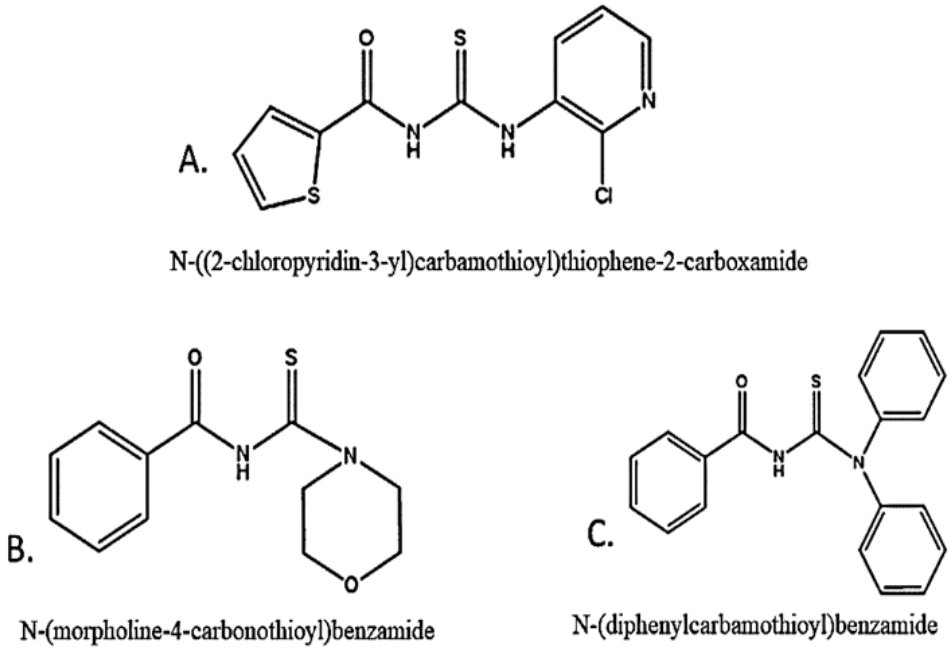
Çoğaltılan MRSA DNA'sını görüntülemek için 7 µL DNA örneği ve 2 µL marker'ın her biri ayrı ayrı 3µL 6x loading dye solusyonu ile karıştırılmıştır. Daha önceden hazırlanmış olan ve 10µL etidyum bromide (10µg/mL) içeren %1'lik agaroz jele otomatik pipet yardımıyla yüklenmiştir. Örnekle yüklü jel TBE buffer içeren elektroforez tankına yerleştirilmiştir ve 30 dk boyunca 120 V akımla elektroforez işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra bu jel UV görüntüleme sistemi (Omega Flour Plus, Aplegen) kullanılarak incelenmiştir. Beklenilen moleküler ağırlıkta olan ve UV ışık etkisiyle parlayan bantlar görüntüleme sistemi tarafından kaydedilmiştir.

3.6 MRSA İzolatlarına Karşı Benzoil Tiyoüre Bileşiklerinin İn-vitro Anti-bakteriyel Etkinliğinin Belirlenmesi

3.6.1 Kullanılan kimyasallar

Üç farklı Benzoil Tiyoüre bileşiği N-((2-chloropyridin-3-yl) carbamothioyl) thiophene-2-carboxamide (L-31: Molekül Ağırlığı: 297,78 gr/mol), N-(morpholine-4-carbonothioyl)benzamide (EHL-90: Molekül Ağırlığı: 250,32 gr/mol) ve N-

(diphenylcarbamothioyl)benzamide (EHL-93: Molekül Ağırlığı: 332,10 gr/mol) Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya bölümünden temin edilmiştir. İlk kez bu tez ile Benzoil Tiyoüre bileşiklerinin MRSA izolatlarına karşı antibakteriyel etkinliği araştırılmıştır. Üç farklı Benzoil Tiyoüre bileşiğinin kimyasal yapıları Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.13 Benzoil tiyoüre bileşiklerinin kimyasal yapısı

İdentifiye edilen ve mecA gen varlığı belirlenen MRSA izolatlarına karşı 3 farklı Benzoil Tiyoüre bileşiğinin (L31, EHL-90, EHL-93) in-vitro aktivitesini araştırmak amacıyla disk difüzyon ve broth mikrodilüsyon yöntemleri kullanılmıştır. Tüm izolatlar stok besiyerinden nutrient brotha ekilmiştir ve 37ºC'de 24 saat inkube edilmiştir. Daha sonra antibakteriyel aktivite testlerine başlamadan önce nutrient agara ekilip ve 37ºC'de 24 saat inkube edilmiştir.

3.6.1.1 Disk difüzyon testi

Benzoil tiyoüre bileşiklerinin MRSA izolatlarına karşı antibakteriyel aktivitesini araştırmak amacıyla Klinik ve Laboratuvar Standartları Ensititüsü'nün bildirdiği disk difüzyon testi (CLSI-2012a) kullanılmıştır. Nutrient agarda üremiş bakteri

kolonilerinden öze ile alınarak, % 0,9'luk serum fizyolojik içerisinde bulanıklığı McFarland 0,5 (~ 1,5x108cfu/mL)'e ayarlanmış bakteri süspansiyonları elde edilmiştir.

Bu bakteri süspansiyonlarında kısa süre içerisinde Mueller-Hinton agar yüzeyine sıvap ile yayma ekim yapılmıştır. Takiben daha önce dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözülerek 150mg/mL olacak şekilde hazırlanan maddelerin her birinden 30µL (5mg/disk) boş disklere emdirilmiştir ve 37ºC'de kurutulmuştur. Daha sonra diskler steril pens yardımıyla bakteri ekimi yapılmış Mueller-Hinton agar yüzeyine yerleştirilmiştir. Araştırmada metisilin (5µg) diskleri referans antibiyotik olarak kullanılmıştır. Besiyerleri 37ºC'de 20-24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır, süre sonunda 7 mm'den daha büyük olan inhibisyon zonları kaydedilmiştir. Analizler üç paralelli yapılmıştır.

3.6.1.2 Broth mikrodilüsyon testi

Benzoil tiyoüre bileşiklerinin MRSA izolatlarına karşı minimum inhibitör konsantrasyonu belirlemek ve disk diffüzyon test sonuçlarını doğrulamak amacıyla, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsünün bildirdiği broth mikrodilüsyon yöntemi (CLSI-2012b) kullanılmıştır. Etken maddeler 150 mg/mL olacak şekilde DMSO ile çözdürülmüştür, mikroplakalarda 75mg/mL ile 1,17 mg/mL aralığında iki katlı seri sulandırılma yapılmıştır. Her kuyucuğa son konsantrasyonu ~1,5x105 kob olacak şekilde bakteri ekimi yapılmıştır.

Çalışmada 0,01 mg/mL konsantrasyonunda Gentamisin (Sigma) referans antibiyotik olarak kullanılmıştır. Her bakteri için kompleks içermeyen bir kuyucuk üreme kontrolü amacıyla, Mueller-Hinton broth ve kompleks içeren birer kuyucuk da sterilite kontrolü amacıyla kullanılmıştır. Ayrıca üreme kontrol kuyucuklarından 1:1000 sulandırma yapılarak 0,1 mL nutrient agara ekim yapılarak kuyucuklardaki bakteri sayısı kontrol edilmiştir.

Mikroplakalar 37°C'de 20-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda bulanıklığın olmadığı son dilüsyon kuyucukları minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri olarak belirlenmiştir. MİK değeri belirlenen kuyucuklardan ve MİK değerinden daha yoğun kimyasal içeren kuyucuklardan öze ile NA besiyerine ekimler yapılmıştır. Besi yerleri 37^{o}C de 24 saat inkübe edilmiştir ve üreme durumu değerlendilerek minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerleri belirlenmiştir. Tüm analizler üç paralelli yapılmıştır.

3.7 İstatistik Analiz

Disk diffüzyon testinden elde edilen veriler, Minitab 16 (Minitab Inc. State College, PA) paket programında tek yönlü varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur. Gruplar arası farklılıklar $p < 0,05$ önem düzeyine göre belirlenmiştir.

4. BULGULAR

Yapılan morfolojik ve biyokimyasal testler ile toplam 100 (yanık, yara, kulak, irin, burun) sürüntü örneğinin 45'inde (%45) *S. aureus* belirlenmiştir. Elde edilen *S. aureus* izolatlarına metisilin ve sefoksitin diskleri kullanılarak yapılan antibiyotik duyarlılık testi ile 22 (%48) izolatta metisilin direnci saptanmiştir. Elde edilen MRSA izolatlarına 8 farklı antibiyotik diski kullanılarak yapılan antibiyotik duyarlılık testi ile 22 MRSA izolatının tamamında çoklu ilaç direnci belirlenmiştir. Konvansiyonel yöntemlerle tanımlanan MRSA izolatlarının tamamında *mec*A gen varlığı PZR ile belirlenmiştir. Üç farklı benzoil tiyoüre bileşiğinin MRSA izolatları için farklı düzeylerde antibakteriyel aktivitesi olduğu saptanmıştır.

4.1 İzolasyon ve Tanımlama Bulguları

4.1.1 Koloni morfolojisi ve mikroskobik görüntü bulguları

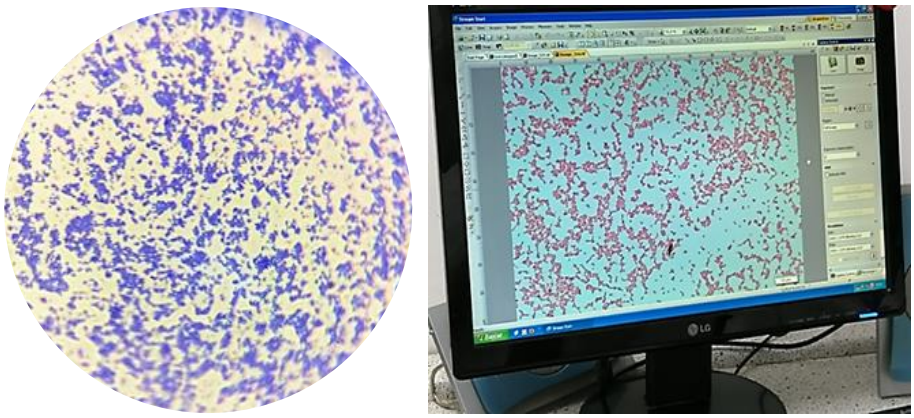
Sıvap örneklerinin ekildiği kanlı agarda üreyen üzeri pürüzsüz ve yuvarlak 1-2 mm çapında beyaz, gri veya sarı renkli, hemoliz oluşturan kolonilerden yapılan mikroskobik incelemede gram olumlu, üzüm salkımı şeklinde yuvarlak görünümlü 45 bakteri kolonisi stafilokok şüpheli olarak değerlendirilmiştir. Analizler sırasında elde edilen bulguların görüntüleri Şekil .de verilmiştir'4.3 ve 4.2 ,4.1



Şekil 4.1 Kanlı agarda *S. aureus* kolonisi β-hemoliz görünümü



Şekil 4.2 Gram boyama lam görüntüsü



Şekil 4.3 Gram boyama sonrası *S.aureus* mikroskobik görüntüsü

4.1.2 Biyokimyasal test bulguları

Patojen stafilokokların ayrımı için yapılan mannitol fermentasyon testi, katalaz, lam koagülaz ve oksidaz testleri yapılmiştir.

S. aureus teşhisi doğrulamak için çeşitli biyokimyasal testler kullanılmıştır. Yapılan biyokimyasal testler sonucunda 100 sıvap örneğinden şüpheli olarak belirlenen 45 koloninin tamamı katalaz ve koagülaz test sonuçları pozitif iken, oksidaz testi sonucu negatif olarak belirlenmiştir. *S.aureus* tanımlaması için yapılan testlerin sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir. Testler sırasında elde edilen görüntüler Şekil 4.4, 4.5, 4.6 ve,

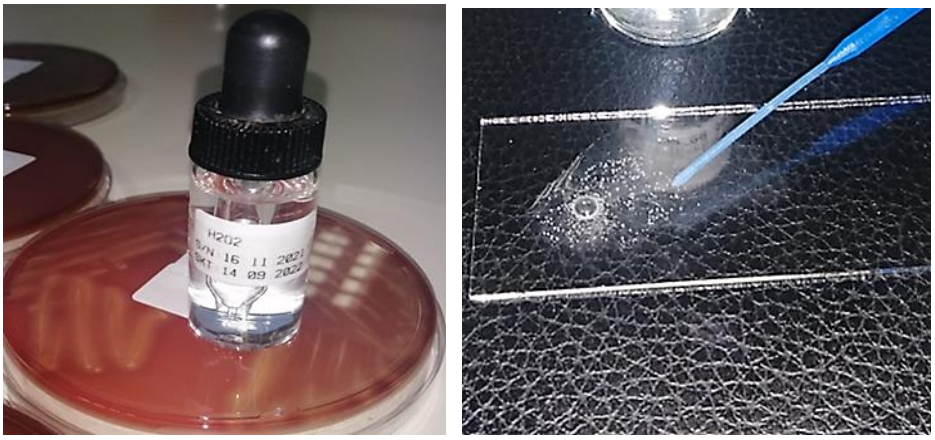
4.7'de verilmiştir. Farklı klinik örneklere göre tanımlanan *S.aureus* izolatların yüzde oranları Şekil 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.1 *S. aureus* tanımlaması için yapılan biyokimyasal testlerin sonuçları

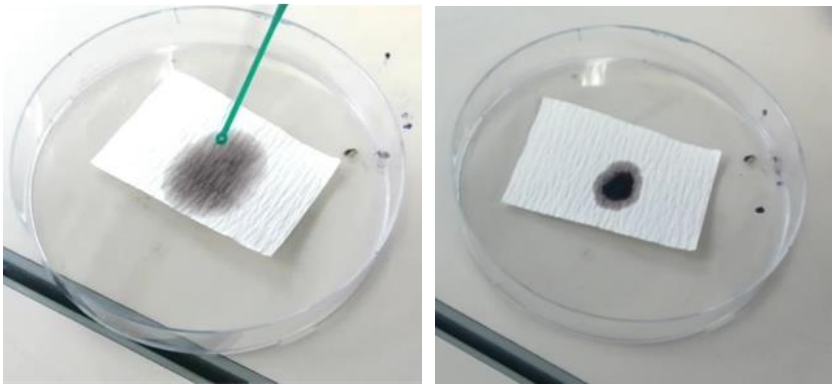
Test	***S. aureus***
Mannitol fermantasyonu	Sarı koloniler
Gram boyama	Gram pozitif koklar
Koagülaz testi	+
Katalaz testi	+
Oksidaz testi	-



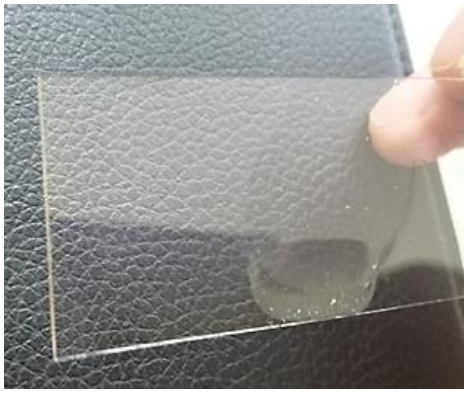
Şekil 4.4 Mannitol tuzlu agarda *S. aureus* kolonileri



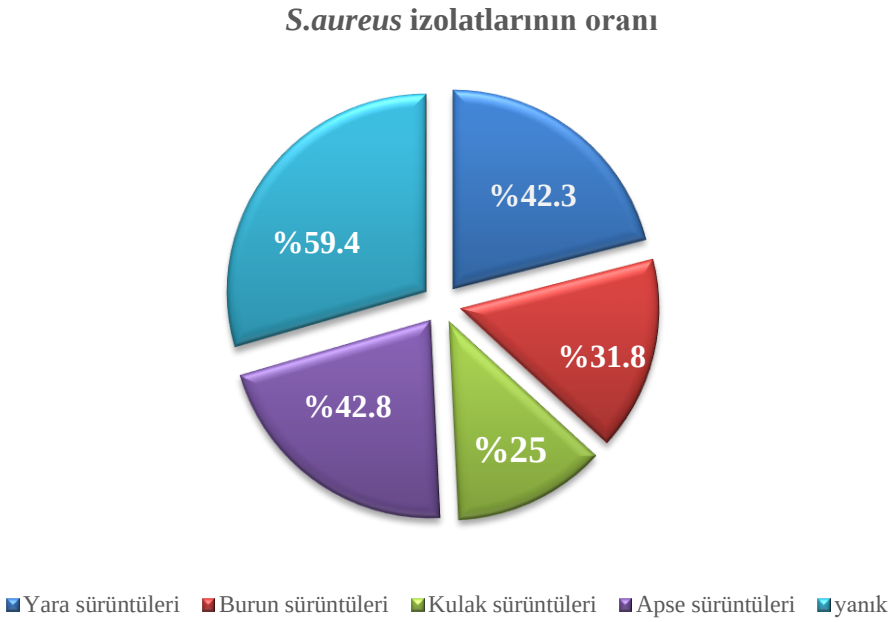
Şekil 4.5 Çalışmada kullanılan katalaz ve test görüntüleri



Şekil 4.6 Oksidaz negatif *S. aureus*



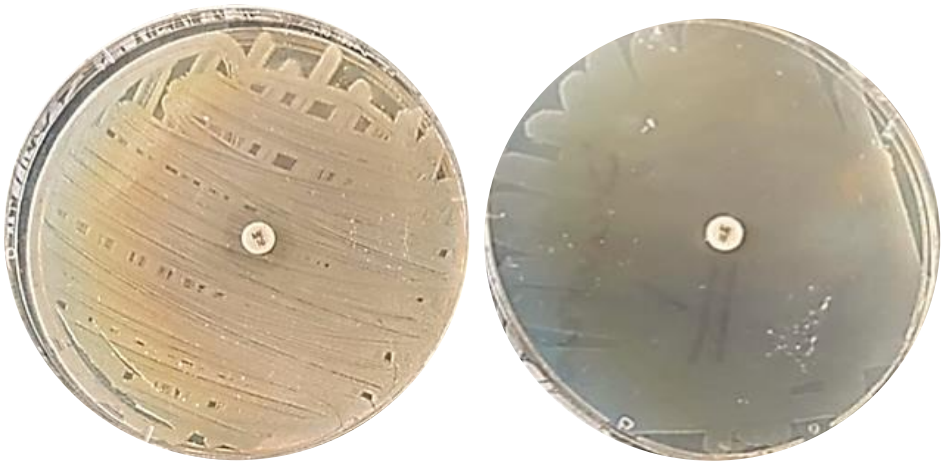
Şekil 4.7 Lam koagülaz test görüntüsü



Şekil 4.8 Farklı klinik kaynaklardan *S. aureus* oranı

4.2 Metisilin Direnç/Duyarlılık Bulguları

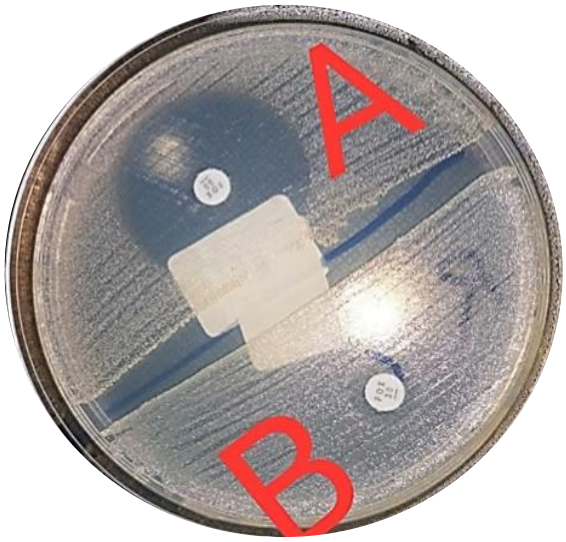
Metisiline dirençli *S. aureus*'un hastanelerdeki hastalara dağılımını araştırmak için 45 izolatın tamamına antibiyotik duyarlılık testi uygulanmıştır. Metisilin diskleri (10µg/disk) ve sefoksitin diskleri (30µg/disk) kullanılarak yapılan disk diffüzyon testi ve CLSI (kaynak) kriterlerine göre 25 *S.aureus* izolatının 22 (%48,8)'si metisiline dirençli olduğu belirlenmiş ve MRSA olarak tanımlanmıştır. Geri kalan 23 (%51,2) izolat metisiline duyarlı olduğu için MSSA' olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.12). Disk difüzyon testi sırasında elde edilen görüntüler Şekil 4.9, 4.10, 4.11'de verilmiştir.



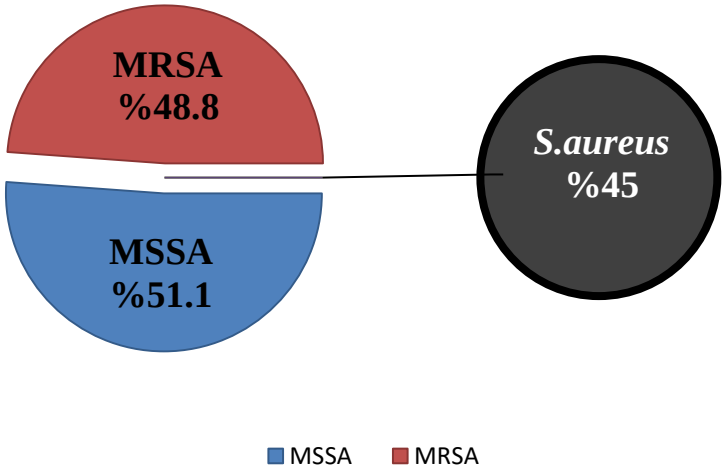
Şekil 4.9 Disk Difüzyon testi: Metisiline dirençli *S.aureus*



Şekil 4.10 Disk Difüzyon testi: Metisiline duyarlı *S.aureus*



Şekil 4.11 Disk Difüzyon testi: A.Sefoksitine duyarlı *S. aureus* B. Sefoksitine dirençli *S.aureus*



Şekil 4.12 Antibiyotik duyarlılık testi (Metisilin-Sefoksitin) sonrası MRSA ve MSSA izolatlarının oranı

Bu tezde farklı 100 klinik sürüntü örneğinden *S.aureus* ve MRSA izolatları sırasıyla, 37 yanık sürüntüsünden 22 (%59,4), 14 (%37,8), 26 yara sürüntüsünden 11(% 42,3), 6 (%23), 22 burun sürüntüsünden 7 (%31,8), 2 (%9),8 kulak sürüntüsünden 2 (%25,0), 0

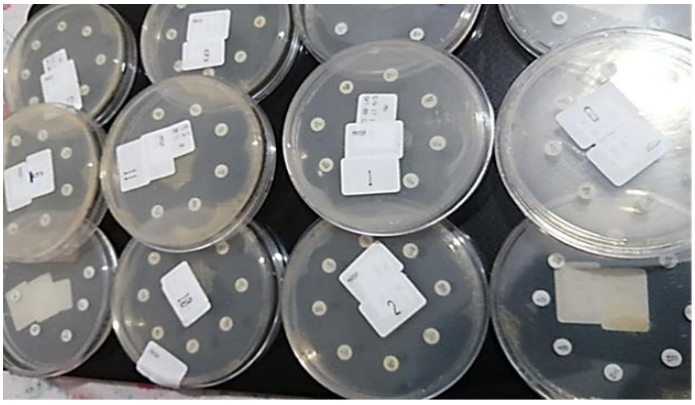
(%0,0), 7 apse sürüntüsünden 3 (%42,8), 0 (%0,0) izolat tanımlanmıştır. Elde edilen sonuçlar çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 Klinik örneklere göre *S.aureus* ve MRSA izolat oranları

Örneklerin kaynakları	**Örnek sayısı**	***S. aureus* izolatlarının sayısı ve klinik örneklere göre oranı (%)**	**MRSA izolatlarının sayısı ve klinik örneklere göre oranı (%)**
Yanık sürüntüleri	37	22 (%59,4)	14 (%37,8)
Yara sürüntüleri	26	11(% 42,3)	6 (%23)
Burun sürüntüleri	22	7 (%31,8)	2 (%9)
Kulak sürüntüleri	8	2 (%25,0)	0 (%0,0)
Apse sürüntüleri	7	3(%42,8)	0 (%0,0)
Toplam	**100**	**45**	**22**

4.3 MRSA İzolatlarında Çoklu İlaç Direnç Test Bulguları

Yapılan çoklu ilaç antibiyogram test sonuçlarına göre 22 MRSA izolatın tamamı (%100)'ü Penisilin'e, 19 izolat (%86,3) Gentamisin'e dirençli, 17 izolat (%77,2) Eritromisin'e, 8 izolat (%36,3) Imipenem'e dirençli belirlenmiştir. 10 izolat (%45,4) Klindamisin'e, 20 izolat (%90,9) Siprofloksasin'e, 11 izolat (%50) Sefazolin'e, 5 izolat (%22,7) Rifampisin'e dirençli, 1 izolat (%4,5) Gentamisin'e, 7 izolat (%31,8) Klindamisin'e, 1 izolat (%4,5) Siprofloksasin'e, 2 izolat (%9,0) Rifampisin'e, 4 izolat (%18,1) Eritromisin'e, 3 izolat (%13,6) Imipenem'e, 7 izolat (%31,8) Sefazolin'e orta derecede dirençli belirlenirken geri kalan izolatlar ise duyarlı olarak belirlenmıştır. Yapılan testler sırasında alınan görüntü Şekil 4.13'te verilmiştir. Herbir antibiyotik diskine karşı direnç gösteren MRSA izolat sayısı ve oranı Çizelge 4.3'te her bir MRSA izolatının 8 farklı antibiyotik diskine göre duyarlılık durumu Çizelge 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.13 Çoklu ilaç direnci disk difüzyon test görüntüsü

Çizelge 4.3 Antibiyotiklere karşı çoklu direnç gösteren MRSA izolatlarının sayısı

Antibiyogram Diskleri	Doz (µg)	%Duyarlı	%Orta	%Dirençli
Penisilin	10 U	% 0.0	-	22 (%100)
Gentamisin	10 µg	2 (%9.0)	1 (%4.5)	19 (%86.3)
Klindamisin	2 µg	5 (%22.7)	7 (%31.8)	10 (%45.4)
Siprofloksasin	5 µg	1 (%4.5)	1 (%4.5)	20 (%90.9)
Rifampisin	5 µg	15 (%68.1)	2 (%9.0)	5 (%22.7)
Eritromisin	15 µg	1 (%4.5)	4 (%18.1)	17 (%77.2)
İmipenem	10 µg	11 (%50.0)	3(%13.6)	8 (%36.3)
Sefazolin	30 µg	5 (%22.7)	7 (%31.8)	10 (%45.4)

Rutin laboratuvarda üçten fazla beta-laktam ve beta-laktam olmayan antibiyotik sınıfına dirençli ise mMRSA (çoklu direnç) olarak tanımlanmaktadır. Metisilin dirençli *S.aureus* olarak belirlenen izolatların disk difüzyon yöntemi 8 farklı antibiyotiğe karşı duyarlılık test sonuçlarına ve CLSI-2020 kriterlerine göre 22 MRSA izolatının tamamının MDR-MRSA olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4 Her bir MRSA izoaltının 8 farklı antibiyotik diskine göre duyarlılık durumu

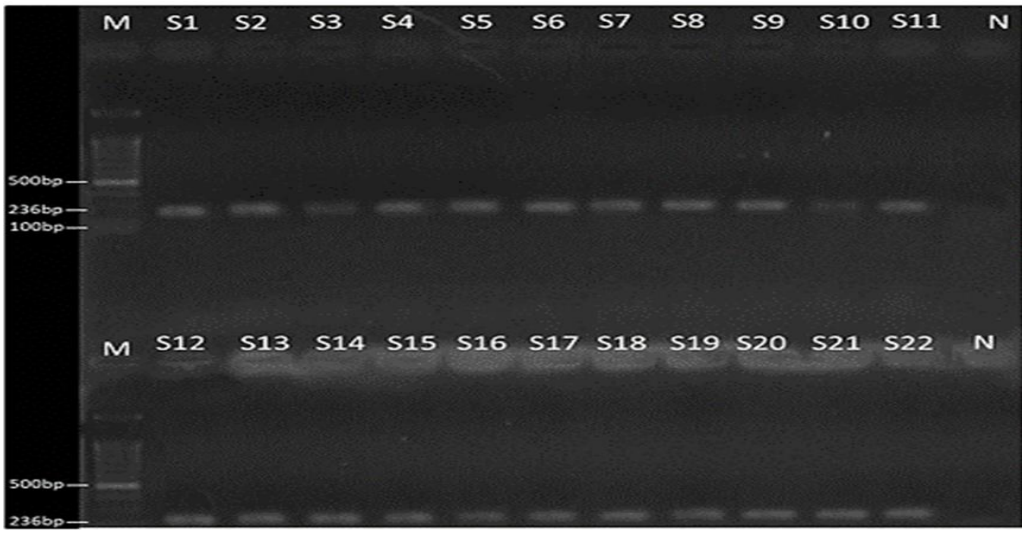
Suş	Örnek kaynağı	PEN	GN	CIP	CLN	RIF	IMP	ERY	CEZ	R (n)
S1	Yanık	R	R	R	S	S	S	R	R	5 R
S2	Yara	R	S	R	R	S	R	R	I	5 R
S3	Yanık	R	R	R	R	S	S	S	R	5 R
S4	Yara	R	S	R	S	S	R	R	I	4 R
S5	Yara	R	R	R	R	S	S	I	S	4 R
S6	Yanık	R	R	R	R	R	S	R	R	7 R
S7	Yara	R	R	R	R	S	S	R	I	5 R
S8	Burun	R	R	R	S	S	R	R	S	5 R
S9	Yanık	R	R	R	R	R	S	I	R	6 R
S10	Yanık	R	R	R	S	S	R	R	R	6 R
S11	Yanık	R	R	R	R	S	R	R	I	6 R
S12	Yanık	R	R	I	S	S	S	R	I	3 R
S13	Yanık	R	R	R	S	S	R	R	R	6 R
S14	Yanık	R	R	R	S	I	R	I	S	4 R
S15	Yara	R	R	R	R	S	S	R	R	6 R
S16	Yanık	R	R	R	S	R	R	R	R	7 R
S17	Yanık	R	I	S	R	S	R	R	S	4 R
S18	Yara	R	R	R	R	I	S	I	R	5 R
S19	Burun	R	R	R	S	S	R	R	I	5R
S20	Yanık	R	R	R	R	S	S	R	I	5R
S21	Yanık	R	R	R	R	S	S	R	R	6 R
S22	Yanık	R	R	R	S	R	R	R	S	6 R

PEN:Penisillin, **GN**:Gentamisin, **CIP**: Siprofloksasin, **CLN**: Klindamisin, **RIF**: Rifampisin, **IMP**: İmipenem, **ERY**: Eritromisin, **CEZ**:Sefazolin, **R(n)**: Dirençli Antibiyotik Sayısı **S:** Duyarlı **I:** Orta Duyarlı **R**: Dirençli

Yanık sürüntü örneklerinden izole edilen S6 ve S16, yedi farklı antibiyotiğe dirençli belirlenirken, suş 12 sadece üç farklı antibiyotiğe dirençli olduğu belirlenmiştir. Geri kalan 12 yanık, 6 yara ve 2 burun sürüntüsünden izole edilen MRSA izolatlarının 4 ile 6 farklı antibiyoiğe dirençli olduğu saptanmıştır.

4.4 MRSA İzolatlarında *mec*A Gen Varlığının PZR Analiz Bulguları

MRSA izolatlarında *mec*A gen varlığını araştırmak için PZR kullanılmıştır. Yapılan analizler sonucunda 22 izolatın tamamının 236bp uzuluğundaki *mec*A genini taşıdığı belirlenmiştir. Böylece konvansiyonel yöntemlerle belirlenen metisilin direnci genetik olarak doğrulanmıştır. Elde edilen PZR jel görüntüsü Şekil 4.14 'te verilmiştir.



Şekil 4.14 PZR jel görüntüsü

4.5 MRSA İzolatlarına Karşı Benzoil Tiyoüre Bileşiklerinin Antibakteriyel Etkinlik Bulguları

Üç farklı benzoil tiyoüre bileşiğinin (EHL 31, EHL90 ve EHL 93) çoklu ilaç direnç sonucuna göre seçilen 10 MRSA izolatına karşı antibakteriyel aktivitesini araştırmak amacıyla yapılan disk difüzyon testinde elde edilen üreme inhibisyon zon çapı değerleri ve tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları Çizelge 4.5'te verilmiştir. Bu verilere göre; MRSA izolatlarına karşı 4,5 mg/disk dozunda EHL31 ve EHL90 bileşiklerinin

inhibisyon zonu oluşturmadığı fakat L93 bileşiğinin farklı düzeyde inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir. Elde edilen inhibisyon zon çapları görüntüsü Şekil 4.15'te verilmiştir.

Çizelge 4.5 Disk difüzyon yöntemine göre bileşiklerin oluşturduğu üreme inhibisyon zon çapları (mm)

S.No	MRSA İzolatları	Kimyasal Maddeler (4,5 mg/disk) ve (Antibakteriyel aktivite zon çapları (mm)			Metisilin (5µg)
		L31	L90	L93	
1	S1	R	R	12 ± 2^{A}	R
2	S6	R	R	$14\pm2,6^{B}$	R
3	S9	R	R	$12\pm2,6^{A}$	R
4	S10	R	R	13 ± 2^{B}	R
5	S11	R	R	$14\pm1,7^{B}$	R
6	S13	R	R	$11\pm0,5^{A}$	R
7	S15	R	R	$12\pm1,5^{A}$	R
8	S16	R	R	$13\pm1,7^{B}$	R
9	S21	R	R	$12\pm1,5^{A}$	R
10	S22	R	R	$14\pm1,5^{B}$	R

R: Dirençli. Değerler; ortalama ± standart sapma **A-B:** Aynı sütundaki gruplar arasındaki farklılıklar, **p**<0,05 düzeyinde önemli.



Şekil 4.15 L31, L90 ve L93 benzoiltüre bileşiklerinin MRSA üreme inhibisyon zon görüntüsü

4.5.1 Minimum inhibitor konsantrasyon (MİK) test bulguları

Bileşiklerin seçilen 3 MRSA izolatı (S1, S6 ve S16) üzerine minimum inhibitör konsantrasyonu belirlemek amacıyla broth mikrodilüsyon testi yapılmıştır. Elde edilen

sonuçlar Çizelgeda veril'4.6 miştir. Bu sonuçlara göre, L31 bileşiğinin 18,75 mg/mL ile 37,5mg/mL doz aralığında, L90 bileşiğinin 4,68mg/mL ile 9,37mg/mL doz aralığında, L93 bileşiğinin 2,34mg/mL dozunda MİK düzeylerine sahip olduğu belirlenmiştir. MRSA bakterilerine karşı tüm kompleksler içerisinde en düşük MİK değeri sırasıyla L93, L90 ve L31 olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar disk difüzyon sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.

Çizelge 4.6 Komplekslerin broth mikrodilüsyon yöntemine göre minimum inhibitör konsantrasyon değerleri (MİK)

S.No	MRSA İzolatları	Kimyasal Maddeler (mg/mL)		
		L31 (mg/mL)	L90 (mg/mL)	L93(mg/mL)
1	S1	37,5	9,37	2,34
2	S6	18,75	4,68	2,34
3	S16	37,5	4,68	2,34

***** Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz üreten, ****** Metisilin dirençli.

Bileşiklerin bakteriler üzerine minimum bakterisidal konsantrasyonu belirlemek amacıyla broth mikrodilüsyon pleytinin kuyucuklarından NA yapılan ekim yapılmıştır ve petriler 37^{o}C de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda bakteri üremesinin görülmediği kuyucuklar minimum bakterisidal konsantrasyon olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar çizelge 4.7'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre, L31 bileşiğinin 75 mg/mL dozunda, L90 bileşiğinin 18,75mg/mL dozunda, L93 bileşiğinin 9,37mg/mL dozunda MİK düzeylerine sahip olduğu belirlenmıştır. MRSA bakterilerine karşı tüm kompleksler içerisinde en düşük MBK değeri sırasıyla L93, L90 ve L31 olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar MİK sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.

Çizelge 4.7 Komplekslerin broth mikrodilüsyon yöntemine göre minimum bakterisidal konsantrasyon değerleri (MBK)

S.No	MRSA İzolatları	Kimyasal Maddeler		
		L31(mg/mL)	L90(mg/mL)	L93(mg/mL)
1.	S1	75	18,75	9,37
2.	S6	75	18,75	9,37
3.	S16	75	18,75	9,37

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) hastane yanık ve cerrahi üniteleri için önemli bir sorundur ve ortaya çıkmaması için önemli çabalar sarf edilmektedir. MRSA insidansı ülkeden ülkeye ve hastaneden hastaneye değişmekle birlikte, son on yılda dünya çapında istikrarlı bir şekilde artmaktadır. Çoklu antibiyotik direncinin artması ve flora üyesi olmaları sebebiyle MRSA enfeksiyonlarının tedavisi diğer bakteriyel enfeksiyonlara göre zordur (Boyce *et al.* 2005).

Ankarada bulunan farklı hastanelerinden özel bir laboratuvara gelen 100 sürüntü numunesinde yapılan izolasyon ve identifikasyon çalışmaları sonucunda, 45 adet (%45) *S.aureus* izole edilmiştır. Bu 45 *S.aureus* izolatın 22'si (% 48,8) yanık, 11'i (% 24,4) yara, 7'si (%25,5) burun, 2'si (% 4,4) kulak ve 3'ü (%6,6) apse sürüntü örneklerinden izole edilmiştir. Klink örneklere göre ise, 37 yanık sürüntü örneğinin 22'si (% 59,4), 26 yara sürüntüsü örneğinin 11'i (% 42,3), 22 burun sürüntüsü örneğinin 7'si (%31,8), 8 kulak sürüntü örneğinin 2'si (% 25) ve 7 apse sürüntü örneğinin 3'ü (%42,8) *S.aureus* olarak izole edilmiştır.

Bu tezde klinik örneklere göre en fazla *S.aureus* izolat oranı %59,4 ile yanık hastalarından izole edilmiştır. Benzer bir çalışmada Amissah vd. (2017) yanık hastalarında *S.aureus* enfeksiyonu prevalansının %59,6 olduğunu göstermiştir. Buna karşılık, Co vd. (2011) yanık hastalarında *S.aureus* prevalansını %46,1 olduğunu bildirmişlerdir. Bu tezde yara örneklerinde *S.aureus* oranı %42,3 olarak belirlenmiştir. Benzer bir çalışmada Pereira-Franchi vd. (2017) yara hastalarında *S. aureus* enfeksiyonu prevalansını % 51,5 olduğunu göstermiştir. Ancak, İran'da Sedighi vd. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada yara hastalarında *S.aureus* oranını % 29,6 olarak göstermiştir. Ayrıca, Gardella vd. (2011) ve Blumental vd. (2013) tarafından yapılan bir çalışmalarda Arjantin'de *S.aureus* oranının %31, Brüksel'de *S.aureus* oranının %34 olduğunu göstermiştir

*S.aureus'*un dağılımındaki varyasyonun nedeni, incelenen topluluğun ortamındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır. Ülkeler arasında ve hatta aynı ülke içinde gözlemlenen *S. aureus* kolonizasyonu prevalansındaki farklılıklar, her bölgedeki farklı sosyal ve demografik koşullara, zaman, nüfus ve coğrafi konumun hijyenik uygulamalarındaki farklılıklarla ilişkilendirilebilir. Co vd. (2011) tarafından Bağdat'taki İbn Sina Hastanesinde yapılan bir çalışmada, *S.aureus*'un prevalansının %46.1'den daha fazla olduğu rapor edilmiştir.

Bu tezde burunda *S. aureus* izolat sayısının, kulak ve irin örneklerinden daha fazla olduğunu bulunmuştur. Bu sonuç, *S. aureus*'un kolonizasyonunda nazal yolun önemli olduğunu gösteren birçok çalışma ile tutarlıdır. Bu bakterinin burunda kolonizasyonunu durdurmak, farklı vücut bölgelerinin enfeksiyonunu sınırlamada yardımcı olur (Choi *et al.* 2006). Benzer bir çalışmada Lin vd. (2018) gibi diğer çalışmalar da hastanelerde burunda *S.aureus* oranını % 25,8 olarak göstermiştir. Bu tezde ise burun örneklerinde *S.aureus* oranı %31,8 olarak belirlenmiştir. Kulakta *S.aureus* enfeksiyonunun yaygın nedeni kulakta su bulunması (yüzme, terleme vb.), deri ve burun gibi *S.aureus* bulunma oranı yüksek vücut bölgelerinden veya başka kaynaklardan bulaşmadır (Serban *et al.* 2020).

Bu tezde 100 sürüntü numunesinde yapılan izolasyon ve identifikasyon çalışmaları sonucunda, 22 adet (% 22) MRSA izole edilmiştır. Bu 22 MRSA izolatının 14'ü (%63,7 yanık), 6'sı (%27,3) yara ve 2'si (%9) nazal sürüntülerinden izole edil edilmişti. Mater vd (2020), Suudi Arabistan hastanesinde MRSA izolat oranının %36,4 olduğunu göstermiştir. Bu sonuç tezde elde edilen sonuçtan daha yüksek bir orandır. Bu tezde yanık örneklerinde MRSA oranı %37,8, yara örneklerinde %23, burun örneklerinde %9 olarak belirlenmiştir. Kulak ve apse örneklerinde MRSA izole edilmemiştir. Gündem ve Çıkman (2012) tarafından yapılan bir çalışmada izolatların en yüksek oranının (%32,4) yaralardan olduğunu gösterilmiştir. Bu tezde ise yaralardan %42,3 oranında daha yüksek bir sonuç saptanmıştır.

Mengeloğlu vd. (2013) Türkiye'de Bolu (23), Samsun(90), Rize(48), Tekirdağ(7), Sakarya(16), Amasya(3), Osmaniye(5) dahil toplam 7 ilden 192 MRSA izolatının elde

edildiğini bildirmiştir. Klinik örneklere göre yarlardan 89, kan kültüürnden 38, solunum yolundan 36, idrar/vücut sıvısı/katater örneklerinden 29 izolat elde etmişlerdir. Buna karşılık, Lee vd. (2011) ve Rodriguez vd. (2014) Kore'de ve Kolombiya'nın Medellin kentinde MRSA prevalansını sırasıyla %3,5 ve %9,3 olarak bildirmişlerdir.

MRSA izolatlarının çoklu ilaç direncini (MDR) belirlemek için yapılan çalışmalarda, 22 MRSA izolatının penisiline %100, siprofloksasine %90,9 gentamisine %86,3 eritromisine %77,2 sefazoline ve klindamisine %45,4 imipeneme %36,3 rifampisine %22,7 oranında dirençli olduğu saptanmıştır. Emilda vd. (2016) ile Ciraj vd. (2009), yaptıkları araştırmada MRSA izolatlarının penisiline (%100) dirençli olduğunu, Ong vd. (2013) MRSA izolatlarının eritromisine %77,5 dirençli olduğunu, Cha vd. (2005) MRSA izolatlarının gentamisie %92, siprofloksasine %89, eritromisin %90 ve rifampine %94 dirençli olduğunu, Kot vd. (2020) MRSA izolatlarının eritromisine %77,7 ve gentamisine %8,0 Abimanyu vd. (2012) MRSA izolatlarının rifampine %34 oranında dirençli olduğunu bildirmiştir. Yapılan çalışmaların birçoğu ile uyumlu sonuçlar bulunurken bazı çalışma sonuçları farklılık göstermiştir. Bu farklılıklar çalışma yılı, bölgesi, toplum ve laboratuvar koşullarına bağlı olarak değişebilmektedir.

Bu tezde 22 MRSA izolatınının tamamının (%100) MDR olduğu belirlenmiştir. MRSA'nın antibiyotiklere direncinin nedeni, β-laktamaz enzimleri gibi antibiyotiklerin penetrasyonunu engelleyen virülans faktörlerine sahip olmasıdır (Cheung *et al.* 2011).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) analizleri sonucunda 22 izolatın tamamının 236bp uzunluğundaki *mec*A genini taşıdığı belirlenmiştir. Böylece konvansiyonel yöntemlerle belirlenen metisilin direnci genetik olarak doğrulanmıştır. Pillai vd. (2012) MRSA izolatlarının tamamında PZR kullanarak *mec*A genini belirlemiştir. Ancak, Purnomo vd. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada 3 MRSA izolatının *mec*A genine sahip olmadığını bildirmiş bu durumu 3 izolatta muhtemelen uzun süreli depolamanın etkisinden veya mutasyonlardan *mec*A geninin kaybına neden olduğu belirtilerek açıklanmıştır.

Benzoil tiyoüre bileşiklerinin antibakteriyel aktivitesi ile ilgili yapılan disk difüzyon, MİK ve MBK, çalışmaları sonucunda L93 kimyasalanının en büyük inhibisyon zon çapına ve en düşük MİK ve MBK değerine sahip kimyasal olarak belirlenmiştir. Disk difüzyon sonuçlarına göre 10 farklı izolat üzerinde L93 (4,5mg/disk) 11-14mm aralığında inhibisyon zon alanı oluştururken, L31 (4,5mg/disk) ve L90 (4,5mg/disk) kimyasalları etkisiz belirlenmiştir.

Elde edilen bu sonuçları doğrulamak ve MİK ile MBK değerlerini belirlemek için yapılan testler sonucunda sırasıyla; L93 çalışılan 3izolatın tamamında 2,34mg/mL dozunda MİK, 9,37mg/mL dozunda MBK, L90 S6 ve S16 izolatları üzerine 4,68 mg/mL, S1 izolatı üzerine 9,37 mg/mL dozunda MİK değerine, 3 izolat üzerinde 18,75mg/mL dozunda MBK değerine sahip olduğu belirlenmiştir. L31, S16 izolatı üzerine 18,75 mg/mL, S1 ve S6 izolatı üzerine 37,5 mg/mL dozunda MİK değerine, tüm izolatlar üzerinde 75mg/mL dozunda MBK değerine sahip olduğu saptanmıştır. Disk difüzyon ve mikrobroth yönteminde elde edilen sonuçlar uyumlu bulunmuştur.

Emen vd. (2005) 2 farklı benzoiltiyoüre bileşiği ve bunların bazı metal kompleklserinin antibakteriyel etkiye sahip olduğunu bildirirken, Patrick-Armand vd. (2021) sentezledikleri benziltiyo bileşiklerinden bazılarının 1mg/mL dozunda *S.aureus* üzerine antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu bildirken, Ablo vd. (2022) sentezledikleri tiyobenzil bileşiklerinden 1mg/mL dozunda *P.aeuroginosa* üzerine etkili olduğunu fakat *S.aureus* üzerine etkisiz olduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda genel olarak benzoiltiyoüre bileşiklerinin antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu ortaya konulmuştur. Yapılan çalışmalarda kullanılan kimyasalların çok fazla alt bileşiğinin olması, kullanılan dozların farklı olması da sonuçları etkilemektedir. Bakterilerde mevcut antibakteriyel maddelere direncin artmasına bağlı olarak yeni antibakteriyel madde arayışının önemi, önümüzdeki yıllarda daha fazla kimyasalın araştırıldığı birçok yeni araştırmalara neden olacaktır.

Sonuç olarak bu tez çalışmasıyla çeşitli sürüntü örneklerinde *S.aureus* ve MRSA prevalansı, MRSA izolatlarının *mec*A gen taşıyıcılığı, 8 farklı antibiyotiğe karşı çoklu

ilaç direnç durumu ve 3 yeni benzoil tiyoüre bileşiğinin MRSA hastane izolatları üzerine antibakteriyel etkinliği araştırılmıştır.

Sürüntü örneklerinde %45 oranında *S.aureus*, %22 oranında MRSA belirlenmiştir. Bu MRSA izolatlarında penisilin, siprofloksasin, gentamisin ve eritromisine antibiyotiklerine karşı yüksek direnç oranı tespit edilmiştir. Faklı klinik örnekler içerisinde yanık ve yara sürüntülerinde MRSA oranının yüksek olduğu saptanmıştır. MRSA izolatlarının tamamı çoklu ilaç dirençli belirlenirken, S6 ve S16 izolatları 7 farklı antibiyotiğe karşı en fazla çoklu ilaç direnci gösteren izolatlar olmuştur. Kullanılan antibiyotikler içerisinde az direnç rifampisin antibiyotik diskinde elde edilmiştir. Kullanılan 3 yeni benzoiltiyoüre bileşiğinin çoklu ilaç dirençli MRSA izolatları üzerine etkinliği sırasıyla L93, L90, L31 olarak belirlenmiştir. Elde edilen invitro antibakteriyel etkinlik sonuçlarının sitotoksisite ve in vivo çalışmalarla desteklenerek sağlık, kozmetik, endüstriyel vb. çeşitli sektörlerde kullanılabilirliği yeni çalışmalarla desteklenmelidir.

KAYNAKLAR

Abimanyu, N., Murugesan, S., and Krishnan, P. 2012. Emergence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus ST239 with high-level mupirocin and inducible clindamycin resistance in a tertiary care center in Chennai, South India. Journal of clinical microbiology, 50(10), 3412-3413.

Ablo, E., Coulibali, S., Touré, D., Coulibaly, S., Kablan, A.L.C., Konan Kouadio, et al. 2022. Synthesis and antibacterial activity in vitro of 2-benzylthioimidazo [1, 2-a] pyridine derivatives against pathogenic bacterial. Synthetic Communications, 52(3), 462-469.

Amissah, N. A., van Dam, L., Ablordey, A., Ampomah, O. W., Prah, I., Tetteh, C. S., and Stienstra, Y. 2017. Epidemiology of Staphylococcus aureus in a burn unit of a tertiary care center in Ghana. PloS one, 12(7), e0181072.

Alen S., Koneman E., Janda W., Schreckenberger P., Winn W., Woods G., Procop G. 2006. The grampositive cocci: Part 1: Staphylococci and related organism. In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th Ed, Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins.

Baron, E.J., Chang, R.S., Howard, D.H., Miller, J.N and Turner, J.A. 1994a. Medical Microbiology: Short course. A John Wiley and Sons, Inc., New York. pp: 1057

Bayer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., and Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am J clin pathol, 45(4), 493-496.

Bassetti, M., Nicco, E., and Mikulska, M. 2009. Why is community-associated MRSA spreading across the world and how will it change clinical practice? International journal of antimicrobial agents, 34, 15-19.

Becker, K., Skov, R. L., and von Eiff, C. 2015. Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci. *Manual of clinical microbiology*, 354-382.

Bitrus, A.A., Peter, O.M., Abbas, M.A., and Goni, M.D. 2018. Staphylococcus aureus: A Review of Antimicrobial Resistance Mechanisms. Veterinary Sciences: Research and Reviews, 4(2), 43-45.

Blumental, S., Deplano, A., Jourdain, S., De Mendonça, R., Hallin, M., Nonhoff, et al. 2013. Dynamic pattern and genotypic diversity of Staphylococcus aureus

nasopharyngeal carriage in healthy pre-school children. Journal of antimicrobial chemotherapy, 68(7), 1517-1523.

Boyce, J. M., Cookson, B., Christiansen, K., Hori, S., Vuopio-Varkila, J., Kocagöz, S., et al. 2005. Meticillin-resistant Staphylococcus aureus. The Lancet infectious diseases, 5(10), 653-663.

Bremer, P.J., Fletcher, G.C., Osborne, C. 2004. Staphylococcus aureus. New Zealand Institute for crop and Food Research limited. Christchurch, New Zealand.

Al-Kobaisi, M. F. 2007. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology 24th Edition. *Sultan Qaboos University Medical Journal [SQUMJ]*, *7*(3), 273-275.

Bloemendaal, A. L., Brouwer, E. C., and Fluit, A. C. 2010. Methicillin resistance transfer from Staphylocccus epidermidis to methicillin-susceptible Staphylococcus aureus in a patient during antibiotic therapy. *PloS one*, *5*(7), e11841.

Bien, J., Sokolova, O., and Bozko, P. 2011. Characterization of virulence factors of Staphylococcus aureus: novel function of known virulence factors that are implicated in activation of airway epithelial proinflammatory response. Journal of pathogens, 2011:601905, 1-13.

Cappuccino, J.G. and Sherman, N. 1996. Microbiology: A laboratory manual. 4th ed. The Binjamin/Cummings Publishing Company. California. pp: 477.

Cha, H.Y., Moon, D.C., Choi, C.H., Oh, J.Y., Jeong, Y.S., Lee, Y.C., et al. 2005. Prevalence of the ST239 clone of methicillin-resistant Staphylococcus aureus and differences in antimicrobial susceptibilities of ST239 and ST5 clones identified in a Korean hospital. Journal of clinical microbiology, 43(8), 3610-3614.

Cheng, A. G., McAdow, M., Kim, H. K., Bae, T., Missiakas, D. M., and Schneewind, O. 2010. Contribution of coagulases towards Staphylococcus aureus disease and protective immunity. PLoS pathogens, 6(8), e1001036.

Cheung, G. Y., Wang, R., Khan, B. A., Sturdevant, D. E., and Otto, M. 2011. Role of the accessory gene regulator agr in community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus pathogenesis. Infection and immunity, 79(5), 1927-1935.

Choi, C. S., Yin, C. S., Bakar, A. A., Sakewi, Z., Naing, N. N., Jamal, F., and Othman, N. 2006. Nasal carriage of Staphylococcus aureus among healthy adults. Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 39(6), 458-464.

Ciraj, A. M., Vinod, P., Sreejith, G., and Rajani, K. 2009. Inducible clindamycin resistance among clinical isolates of staphylococci. Indian Journal of Pathology and Microbiology, 52(1), 49.

CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012a. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard—Ninth Ed. CLSI document M07-A9; Wayne, PA.

CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012b. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved Standard—Eleventh Edition.

CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, CLSI Supplement M100S. 27th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.

Co, E.M., Keen, E.F., and Aldous, W.K. 2011. Prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in a combat support hospital in Iraq. Military medicine, 176(1), 89-93.

Collee, J.G., Miles, R.S. and Watt, B. 1996. Test for the identification of bacteria.In, Collee, J.G., Fraser, A.G., Marmion, B.P. and Simmons A. (eds.). Mackie and McCarteny practical medical microbiology. 14th.ed. Churchill Livingstone, New York.

David, M.Z., and Daum, R.S. 2010. Community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. Clinical microbiology reviews, 23(3), 616-687.

Dumyati, G., Stone, N. D., Nace, D. A., Crnich, C. J., and Jump, R. L. 2017. Challenges and strategies for prevention of multidrug-resistant organism transmission in nursing homes. Current infectious disease reports, 19(4), 1-9.

Edwards-Jones, V., Buck, R., Shawcross, S. G., Dawson, M. M., and Dunn, K. 2004. The effect of essential oils on methicillin-resistant Staphylococcus aureus using a dressing model. Burns, 30(8), 772-777.

Emen, M., Arslan, H., Külcü, N., Flörke, U., and Duran, N. 2005. Synthesis, characterization and antimicrobial activities of some metal complexes with N'-(2-chloro-benzoyl) thiourea ligands: The crystal structure of fac-[CoL3] and cis-[PdL2]. Polish Journal of Chemistry, 79(10), 1615-1626.

Emilda, J.V., Kumari, J., Shenoy, M. S., Vidyalakshmi, K., and Bhat, K. G. 2016. Comparison of Community-associated methicillin resistant staphylococcus aureus (CA-MRSA) and healthcare-associated MRSA (HA-MRSA) infections in Mangalore, South India. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, 7(4).

Essawi, T., and Srour, M. 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. Journal of ethnopharmacology, 70(3), 343-349.

Ficalora, R.D. and Mueller, P.S. eds. 2013. Mayo clinic internal medicine board review. Oxford University Press.

Foster, T. J., and Geoghegan, J. A. 2014. Staphylococcus aureus. In Molecular Medical Microbiology: 2th ed. V: 2–3, Elsevier Ltd.

Foster, T. J. 2002. Staphylococcus aureus. Molecular Medical Microbiology, 839-888.

Fung-Tomc, J. C., Clark, J., Minassian, B., Pucci, M., Tsai, Y. H., Gradelski, E., ... & Bonner, D. P. 2002. In vitro and in vivo activities of a novel cephalosporin, BMS-247243, against methicillin-resistant and-susceptible staphylococci. Antimicrobial agents and chemotherapy, 46(4), 971-976.

Gardella, N., Murzicato, S., Di Gregorio, S., Cuirolo, A., Desse, J., Crudo, F., ... & Mollerach, M. 2011. Prevalence and characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus among healthy children in a city of Argentina. Infection, Genetics and Evolution, 11(5), 1066-1071.

Gill, S.R., Fouts, D.E., Archer, G.L., Mongodin, E.F., DeBoy, R.T., Ravel, J., Paulsen, I.T., Kolonay, J.F., Brinkac, L., Beanan, M. and Dodson, R.J. 2005. Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin-resistant Staphylococcus aureus strain and a biofilm-producing methicillin-resistant Staphylococcus epidermidis strain. Journal of bacteriology, 187(7), 2426-2438.

Gladwin, M., Trattler, W., and Mahan, C. S. 2014. Clinical Microbiology Made Ridiculously Simple (Ed. 6) (Medmaster Ridiculously Simple) (6th Edition).

Gopal, S. and Divya, K.C. 2017. Can methicillin-resistant Staphylococcus aureus prevalence from dairy cows in India act as potential risk for community-associated infections? a review. Veterinary World, 10(3), 311.

Götz, F. 2002. Staphylococcus and biofilms. Molecular microbiology, 43(6),1367-1378.

Gurusamy, K.S., Koti, R., Toon, C.D., Wilson, P. and Davidson, B.R. 2013. Antibiotic therapy for the treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) infections in surgical wounds. Cochrane Database of Systematic Reviews, (8).

Gündem, N.S. and Çıkman, A. 2012. Yara Kültürlerinden İzole Edilen Mikroorganizmalar ve Antibiyotik Duyarlılıkları. Ankem Derg, 26(4), 165-170.

Harley, J.P. and L.M. Prescott. 2002. Laboratory Exercises in Microbiology. 5th.ed. The McGraw-Hill Companies, Inc., New York.

Holden, M.T., Feil, E.J., Lindsay, J.A., Peacock, S.J., Day, N.P., Enright, M.C., Foster, T.J., Moore, C.E., Hurst, L., Atkin, R. and Barron, A. 2004. Complete genomes of two clinical Staphylococcus aureus strains: evidence for the rapid evolution of virulence and drug resistance. Proceedings of the National Academy of Sciences, 101(26), 9786-9791.

Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Stanley, J. T., and Williams, S. T. 1994. Bergeys Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed., Wiliams and Wilkins, Baltimore, USA.

Hussein, A.R., Khalaf, Z.Z., Samir, Z. and Samir, R. 2018. The Antibacterial activity of crud Bacteriocin-like substance against food borne bacterial pathogens. Iraqi journal of Science, 16-24.

Karch, H., Rüssmann, H., Schmidt, H., Schwarzkopf, A. and Heesemann, J. 1995. Long-term shedding and clonal turnover of enterohemorrhagic Escherichia coli O157 in diarrheal diseases. Journal of Clinical Microbiology, 33(6), 1602-1605.

Kaymakçıoğlu, B.K., Rollas, S., Körceğez, E. and Arıcıoğlu, F. 2005. Synthesis and biological evaluation of new N-substituted-N′-(3, 5-di/1, 3, 5-trimethylpyrazole-4-yl) thiourea/urea derivatives. European journal of pharmaceutical sciences, 26(1), 97-103.

Kluytmans, J.A.N., Van Belkum, A. and Verbrugh, H. 1997. Nasal carriage of Staphylococcus aureus: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clinical microbiology reviews, 10(3), 505-520.

Kot, B., Wierzchowska, K., Piechota, M. and Grużewska, A. 2020. Antimicrobial resistance patterns in methicillin-resistant Staphylococcus aureus from patients hospitalized during 2015–2017 in hospitals in Poland. Medical Principles and Practice, 29(1), 61-68.

Küçükgüzel, I., Tatar, E., Küçükgüzel, Ş.G., Rollas, S. and De Clercq, E. 2008. Synthesis of some novel thiourea derivatives obtained from 5-[(4-aminophenoxy) methyl]-4-alkyl/aryl-2, 4-dihydro-3H-1, 2, 4-triazole-3-thiones and evaluation as antiviral/anti-HIV and anti-tuberculosis agents. European journal of medicinal chemistry, 43(2), 381-392.

Larson, E.L., Quiros, D. and Lin, S.X. 2007. Dissemination of the CDC's Hand Hygiene Guideline and impact on infection rates. American journal of infection control, 35(10), 666-675.

Lee, B.Y., McGlone, S.M., Wong, K.F., Yilmaz, S.L., Avery, T.R., Song, Y., Christie, R., Eubank, S., Brown, S.T., Epstein, J.M. and Parker, J.I. 2011. Modeling the spread of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) outbreaks throughout the hospitals in Orange County, California. Infection Control and Hospital Epidemiology, 32(6), 562-572.

Lewis, S.S., Walker, V.J., Lee, M.S., Chen, L., Moehring, R.W., Cox, C.E., Sexton, D.J. and Anderson, D.J. 2014. Epidemiology of methicillin-resistant Staphylococcus aureus pneumonia in community hospitals. Infection Control & Hospital Epidemiology, 35(12), 1452-1457.

Lim, Y., Jana, M., Luong, T.T. and Lee, C.Y. 2004. Control of glucose-and NaCl-induced biofilm formation by rbf in Staphylococcus aureus. Journal of bacteriology, 186(3), 722-729.

Lin, L., Mao, X., Sun, Y. and Cui, H. 2018. Antibacterial mechanism of artemisinin/beta-cyclodextrins against methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Microbial pathogenesis, 118, 66-73.

Lipsky, B.A., Tabak, Y.P., Johannes, R.S., Vo, L., Hyde, L. and Weigelt, J.A. 2010. Skin and soft tissue infections in hospitalised patients with diabetes: culture isolates and risk factors associated with mortality, length of stay and cost. Diabetologia, 53(5), 914-923.

Long, S. S., Prober, C. G., and Fischer, M. 2017. Principles and practice of pediatric infectious diseases E-Book. Elsevier Health Sciences.

Lowy, F.D. 2003. Antimicrobial resistance: the example of Staphylococcus aureus. The Journal of clinical investigation, 111(9), 1265-1273.

Mackay, I.M., Arden, K.E., Nissen, M.D. and Sloots, T.P., 2007. Challenges facing real-time PCR characterization of acute respiratory tract infections. Real-time PCR in microbiology: from diagnosis to characterization, 269-317.

Mathur, T., Singhal, S., Khan, S., Upadhyay, D.J., Fatma, T. and Rattan, A. 2006. Detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: an evaluation of three different screening methods. Indian journal of medical microbiology, 24(1), 25-29.

Mengeloğlu, F.Z., Taş, T., Koçoğlu, E., Yanık, K., Güneş, H., Ciftci, I.H., Durmaz, S., Bucak, O., Güçkan, R., Terzi, H.A. and Yavuz, M.Z. 2013. In vitro activity of ceftaroline to MRSA isolates: a multicenter study. Mikrobiyoloji Bulteni, 47(4), 677-683.

SSI (Statens Serum Institut), 2020.Web adresi. https://en.ssi.dk/surveillance-and-preparedness/surveillance-in-denmark/annual-reports-on-disease-incidence/mrsa---disease-prevalence-report-2020, Erişim Tarihi. 01.05.2021.

Munckhof, W.J., Nimmo, G.R., Schooneveldt, J.M., Schlebusch, S., Stephens, A.J., Williams, G., Huygens, F. and Giffard, P. 2009. Nasal carriage of Staphylococcus aureus, including community-associated methicillin-resistant strains, in Queensland adults. Clinical Microbiology and Infection, 15(2), 149-155.

Murray, R.J., Lim, T.T., Pearson, J.C., Grubb, W.B. and Lum, G.D. 2004. Community-onset methicillin-resistant S. aureus bacteremia in Northern Australia. International journal of infectious diseases, 8(5), 275-283.

Müller, J., Limban, C., Stadelmann, B., Missir, A.V., Chirita, I.C., Chifiriuc, M.C., Nitulescu, G.M. and Hemphill, A. 2009. Thioureides of 2-(phenoxymethyl) benzoic acid 4-R substituted: a novel class of anti-parasitic compounds. Parasitology international, 58(2), 128-135.

Nair, S.P., Williams, R.J. and Henderson, B., 2000. Advances in our understanding of the bone and joint pathology caused by Staphylococcus aureus infection. Rheumatology, 39(8), 821-834.

Ngaini, Z., Mohd Arif, M.A., Hussain, H., Mei, E.S., Tang, D. and Kamaluddin, D.H.A., 2012. Synthesis and antibacterial activity of acetoxybenzoyl thioureas with aryl and amino acid side Chains. Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, 187(1), 1-7.

Ogston, A. 1984. Classics in infectious diseases.“On abscesses”. Rev Infect Dis, 6(1), 122-128.

Ong, P. Y. 2014. Recurrent MRSA skin infections in atopic dermatitis. The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice, 2(4), 396-399.

Okwu, M.U., Olley, M., Akpoka, A.O. and Izevbuwa, O.E. 2019. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and anti-MRSA activities of extracts of some medicinal plants: A brief review. AIMS microbiology, 5(2), 117.

Otter, J.A. and French, G.L. 2011. Community-associated meticillin-resistant Staphylococcus aureus strains as a cause of healthcare-associated infection. Journal of Hospital Infection, 79(3), 189-193.

Palavecino, E. 2007. Clinical, epidemiological, and laboratory aspects of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) infections. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Protocols, 1-19.

Patrick-Armand, A., Siomenan, C., Doumade, Z., Adéyolé, T., Eric, B., Daouda, T., Drissa, S. and Ané, A. 2021. Synthesis and Antibacterial Activities of New 2-(Benzylthio) pyrimidines and 2-(Benzimidazolylmethylthio) pyrimidines Derivatives. Open Journal of Medicinal Chemistry, 11(3), 27-39.

Pereira-Franchi, E.P.L., Barreira, M.R.N., Costa, N.D.S.L.M.D., Fortaleza, C.M.C.B. and Cunha, M.D.L.R.D.S.D. 2017. Prevalence of and risk factors associated with the presence of Staphylococcus aureus in the chronic wounds of patients treated in primary health care settings in Brazil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 50, 833-838.

Pillai, M.M., Latha, R. and Sarkar, G. 2012. Detection of methicillin resistance in Staphylococcus aureus by polymerase chain reaction and conventional methods: a comparative study. Journal of laboratory physicians, 4(02), 083-088.

Purnomo, H. and Suprayitno, E. 2013. Physicochemical characteristics, sensory acceptability and microbial quality of Wadi Betok a traditional fermented fish from South Kalimantan, Indonesia. International Food Research Journal, 20(2).

Rammelkamp, C.H. and Maxon, T. 1942. Resistance of Staphylococcus aureus to the Action of Penicillin. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 51(3), 386-389.

Ray, C.G. and Ryan, K.J. 2004. Sherris medical microbiology: an introduction to infectious diseases. McGraw-Hill, NY.

Rodriguez, E.A., Correa, M.M., Ospina, S., Atehortúa, S.L. and Jiménez, J.N. 2014. Differences in epidemiological and molecular characteristics of nasal colonization with Staphylococcus aureus (MSSA-MRSA) in children from a university hospital and day care centers. PLoS One, 9(7).

Rosenbach, A.J.F. 1884. Mikro-organismen bei den Wund-infections-krankheiten des Menschen. JF Bergmann, Wiesbaden, Germany.

Saeed, S., Rashid, N., Jones, P. G., Hussain, R., and Bhatti, M. H. 2010. Synthesis, spectroscopic characterization, crystal structure and antifungal activity of thiourea derivatives containing a thiazole moiety. Central European Journal of Chemistry, 8(3), 550-558.

Safdar, N.; B.C. Fox, and McKinley, L.M. 2007. Epidemiology of MRSA. P.11-30. In: J.A. Weigelt (ed.). MRSA. Informa Healthcare, New York.

Saturnino, C., D'Auria, M., Paesano, N., Saponiero, D., Cioffi, G., Buonerba, M. and De Martino, G. 2003. Antioxidant activity of thioureidic derivatives I. Il Farmaco, 58(9), 823-828.

Savini, V. (Ed.). 2018. Pet-to-man travelling staphylococci: A world in progress. Academic Press. 105-258.

Sedighi, I., Moez, H. and Alikhani, M. 2011. Nasal carriage of methicillin resistant Staphylococcus aureus and their antibiotic susceptibility patterns in children attending day-care centers. Acta microbiologica et immunologica Hungarica, 58(3), 227-234.

Serban, B.A., Shi, K., Alverson, J.B., Hoody, J., Priestley, N.D., Park, A.H. and Serban, M.A. 2020. Single Application Cold-Chain Independent Drug Delivery System for Outer Ear Infections. ACS biomaterials science & engineering, 6(10), 5969-5978.

Shalaby, M.A.W., Dokla, E.M., Serya, R.A. and Abouzid, K.A. 2020. Penicillin binding protein 2a: An overview and a medicinal chemistry perspective. European Journal of Medicinal Chemistry, 199, 112312.

Shinefield, H.R. and Ruff, N.L. 2009. Staphylococcal infections: a historical perspective. Infectious disease clinics of North America, 23(1), 1-15.

Shing, J.C., Choi, J.W., Chapman, R., Schroeder, M.A., Sarkaria, J.N., Fauq, A. and Bram, R.J. 2014. A novel synthetic 1, 3-phenyl bis-thiourea compound targets microtubule polymerization to cause cancer cell death. Cancer biology and therapy, 15(7), 895-905.

Stapleton, P.D. and Taylor, P.W. 2002. Methicillin resistance in Staphylococcus aureus: mechanisms and modulation. Science progress, 85(1), 57-72.

Stevens, D. 2007. Genetics of MRSA: The united states and worldwide. MRSA, CRC Press.USA.

Teppo, S. 2012. Two-Photon Excited Fluorescence Detection Technology in Screening for Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. Ph.D. Thesis, University of Turku, Finland.

Todar, K. 2008. The normal bacterial flora of humans. Todar's online textbook of bacteriology.

Tu Quoc, P.H., Genevaux, P., Pajunen, M., Savilahti, H., Georgopoulos, C., Schrenzel, J. and Kelley, W.L. 2007. Isolation and characterization of biofilm formation-defective mutants of Staphylococcus aureus. Infection and immunity, 75(3), 1079-1088.

Turner, N.A., Sharma-Kuinkel, B.K., Maskarinec, S.A., Eichenberger, E.M., Shah, P.P., Carugati, M., Holland, T.L. and Fowler, V.G. 2019. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: an overview of basic and clinical research. Nature Reviews Microbiology, 17(4), 203-218.

Uhlemann, A.C., Otto, M., Lowy, F.D. and DeLeo, F.R. 2014. Evolution of community- and healthcare-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Infection, genetics and evolution, 21, 563-574.

Urushibara, N., Aung, M.S., Kawaguchiya, M. and Kobayashi, N. 2020. Novel staphylococcal cassette chromosome mec (SCC mec) type XIV (5A) and a truncated SCC mec element in SCC composite islands carrying speG in ST5 MRSA in Japan. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 75(1), 46-50.

Ünal, N.2007. İnsan ve hayvan kökenli Staphylococcus aureus izolatlarının fenotipik ve genotipik özellikleri üzerine çalışmalar. Doktora tezi, Kırıkkale Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji (Veterinerlik) Ana Bilim Dalı, Kırıkkale.

Ünal, N., Aşkar, Ş., Macun, H.C., Sakarya, F., Altun, B. and Yıldırım, M. 2012. Panton–Valentine leukocidin and some exotoxins of Staphylococcus aureus and antimicrobial susceptibility profiles of staphylococci isolated from milks of small ruminants. Tropical animal health and production, 44(3), 573-579.

Wertheim, H.F., Melles, D.C., Vos, M.C., van Leeuwen, W., van Belkum, A., Verbrugh, H.A. and Nouwen, J.L. 2005. The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections. The Lancet infectious diseases, 5(12), 751-762.

Williams, R.E.O. 1958. Investigations of staphylococcal infection acquired in Great Britain's hospitals. Public Health Reports, 73(11), 961.

Williams, R.E.O., 1963. Healthy carriage of Staphylococcus aureus: its prevalence and importance. Bacteriological reviews, 27(1), 56-71.

Winn, W. 2006. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Philadelphia: Lippincott.

Wise, R.I., Ossman, E.A. and Littlefield, D.R. 1989. Personal reflections on nosocomial staphylococcal infections and the development of hospital surveillance. Reviews of infectious diseases, 11(6), 1005-1019.

Wisplinghoff, H., Wiegel, P., Steinmetz, M., Hofmann, H., Arnemann, J. and Plum, G. 2009. Evaluation of a novel rapid PCR-method to detect vancomycin-resistant enterococci (VRE) from clinical samples. 49th Intersc. Conf. Antimicrob. Agents Chemother, 12, 15.

Zinderman, C.E., Conner, B., Malakooti, M.A., LaMar, J.E., Armstrong, A. and Bohnker, B.K. 2004. Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus among military recruits. Emerging infectious diseases, 10(5), 941.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Sarah ALHADEETHİ

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2019-Halen
Lisans	Bağdat Üniversitesi Fen Fakültesi, Genetik Mühendisliği Bölümü	2012-2017

İş Deneyimi

Yıl	**Kurum**	**Görev**
2018-Halen	Julphar İlaç A.Ş./IRAK	Depo Görevlisi
2017-2019	Tıp Şehri Gazi Hastanesinde/IRAK	Kan alma Görevlisi
2020-2021	Sağlık Çözümleri ve Laboratuvar Reaktifleri Firması. ANKARA	Satış Görevlisi
2021-Halen	Evodak/ Sağlık Turizm. ANKARA	Tıbbi Temsilci

Akademik Aktiviteler

1. Alhadeethi. S., Öcal, Ç.İ. 2021. Bakteri ve kanser. Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Ünsititüsü Biyoloji Anabilim Dalı. Yüksek lisans semineri. Çankırı/Türkiye.

2. Alhadeethi. S., Al-Kazzaz, A. 2017. Böbrek Yetmezliği. Bağdat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüs Biyoteknoloji Anabilim Dalı/ Genetik Mühendisliği. Lisans tezi. Bağdat/Irak