ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

IRAK SALAH ELDİN HASTANESİNDE FARKLI KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN *STAPHYLOCOCCUS* SPP. DİRENÇ GENLERİNİN GENOTİPLENDİRİLMESİ VE TESPİTİ

Alhamzah Qahtan NAJI NAJI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2022

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Alhamzah Qahtan NAJI NAJI tarafından hazırlanan **"Irak Salah Eldin Hastanesinde Farklı Kaynaklardan İzole Edilen *Staphylococcus* Spp. Direnç Genlerinin Genotiplendirilmesi ve Tespiti"** adlı tez çalışması 05/12/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN

Eş Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Rafea Zaidan Mukhilf ALSUGMAINY

Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. Mine TÜRKTAŞ
Biyoloji
Gazi Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Biyoloji
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ebru Gül
Biyoloji
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 "**Irak Salah Eldin Hastanesinde Farklı Kaynaklardan İzole Edilen *Staphylococcus* Spp. Direnç Genlerinin Genotiplendirilmesi ve Tespiti**" 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 (05/12/2022).

Alhamzah Qahtan NAJI NAJI

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

IRAK SALAH ELDİN HASTANESİNDE FARKLI KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN *STAPHYLOCOCCUS* SPP. DİRENÇ GENLERİNİN GENOTİPLENDİRİLMESİ VE TESPİTİ

Alhamzah Qahtan NAJI NAJI

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Rafea Zaidan Mukhilf ALSUGMAINY

Çalışma için gerekli olan örnekler 2022 yılının Mart-Temmuz ayları arasında Salahuddin Hastanesin'den alınmıştır. Toplamda farklı yaş ve cinsiyet grubunda olan 130 kişiden örnekleme yapılmıştır. Örnekler ; orta kulak iltihabı, burun ve boğaz, idrar yolu iltihabı, yanıklar, yaralardan alınmıştır. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, bakteri kültüründe 93 örneğin (%71,53) pozitif olduğu buna karşılık, 37 örneğin (%28,47) negatif olduğu tespit edilmiştir. En yüksek enfeksiyon oranı %45,16 ile yara enfeksiyonlarında tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla, %19,35 ile idrar yolu enfeksiyonları,%13,97 ile yanık, %11,82 ile orta kulak enfeksiyonları ve son olarak %9,67 ile burun ve boğaz enfeksiyonları takip etmiştir. İzole edilen bakteri izolatlarının antibiyotik duyarlılık testi sonuçları yüksek antibiyotik direnci göstermiştir. İzolatların amoksisiline karşı direnci %96,77, azitromisine %64,52, siprofloksasin %56,99, seftaksim %88,17, amikasin %88,17, gentamisin %75,27, trimetoprim %66,67 meropenem %72,04 ve vankomisin %73,12 olarak tespit edimiştir. *Staphylococcus aureus* bakterilerinin virülans faktörü bakımından incelendiğinde COA geni tüm numuneler için %100 oranda, SPA ve HLY genleri ise %80 oranında tespit edilmiştir. Genetik dizileme tekniğini kullanarak yapılan moleküler teşhis sonuçlarında ise seçilen tüm numunelerin %100 oranında 16S rRNA genine sahip olduğu ortaya çıkmıştır.

2022, 70 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: *Staphylococcus aureus*, Enfeksiyon, COA, SPA, HLY

ABSTRACT

Master of Science Thesis

GENOTYPING AND DETECTION OF *STAPHYLOCOCCUS* SPP. RESISTANCE GENES ISOLATED FROM DIFFERENT SOURCES AT SALAH ELDIN HOSPITAL–IRAQ

Alhamzah Qahtan NAJI NAJI

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

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Melda DÖLARSLAN
Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Rafea Zaidan Mukhilf ALSUGMAINY

The samples required for the study were taken from Salahuddin Hospital between March and July 2022. A total of 130 people from different age and gender groups were sampled. Examples; It has been taken from otitis media, nose and throat, urinary tract inflammation, burns, wounds. When the results obtained were examined, it was determined that 93 samples (71.53%) were positive in bacterial culture, whereas 37 samples (28.47%) were negative. The highest infection rate was detected in wound infections with 45.16%. This was followed by urinary tract infections with 19.35%, burns with 13.97%, middle ear infections with 11.82% and finally nose and throat infections with 9.67%. Antibiotic susceptibility test results of isolated bacterial isolates showed high antibiotic resistance. The resistance of the isolates against amoxicillin was 96.77%, azithromycin 64.52%, ciprofloxacin 56.99%, ceftaxime 88.17%, amikacin 88.17%, gentamicin 75.27%, trimethoprim 66.67%, meropenem 72.04% and vancomycin 73.12%. When the *Staphylococcus aureus* bacteria were examined in terms of virulence factor, the COA gene was found to be 100% for all samples, while the SPA and HLY genes were found to be 80%. Molecular diagnostic results using the genetic sequencing technique revealed that all the selected samples had the 16S rRNA gene at 100%.

2022, 70 pages

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Infections, COA, SPA, HLY

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN'a sabrı, rehberliği ve anlayışı için teşekkür ederim.

Alhamzah Qahtan NAJI NAJI
Çankırı, Aralık 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vii**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **viii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ix**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **x**
1. GİRİŞ **1**
2. LİTERATÜR ÖZETİ **4**
2.1 *Staphylococcus* **4**
2.2 *Staphylococcus* Cinsinin Sınıflandırması **5**
2.3 Patojenite **6**
2.4 *Staphylococcus Aureus*'un Bilimsel Sınıflandırılması **7**
2.5 *Staphylococcus Aureus* **7**
2.6 Diğer Türler **7**
2.7 *Staphylococcus Aureus*'un Patogenezi ve Epidemiyolojisi **8**
2.8 *Staphylococcus Aureus*'un Tedavisi ve Antibiyotik Direnci **9**
2.9 Antibiyotik Direnci **10**
2.10 *Staphylococcus Aureus*'un Virülans Faktörleri **12**
2.10.1 *Staphylococcus aureus* duvarındaki virülans faktörleri **12**
2.10.2 *Staphylococcus aureus* enzimleri **13**
2.10.3 *Staphylococcus aureus*'un toksinleri **14**
2.11 Modern Moleküler Teknikleri **15**
2.12 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) **15**
2.13 DNA Dizilimi **16**
2.14 16S rRNA için Gen Kodlaması **17**
2.15 *Staphylococcus Aureus* 'un Bazı Virülans Faktörlerinden Sorumlu Genler **18**
2.15.1 SPA geni **18**
2.15.2 *Staphylococcus aureus*'ta koagülaz enzimini kodlayan gen **18**

2.15.3 Hly-hemolizin faktör geni 18
3. MATERYAL VE METOT 19
3.1 Materyal 19
3.1.1 Bakteri örneklerinin toplanması 19
3.1.2 Kültür 19
3.1.3 Çalışmada kullanılan araç ve gereçler 20
3.1.4 Kimyasal ve biyolojik bileşikler 21
3.1.5 Kültür ortamı 22
3.1.6 Antibiyotikler 22
3.1.7 Primer dizileri 23
3.2 Yöntemler 23
3.2.1 Kültür ortamı ve çözeltilerin sterilizasyonu 23
3.2.2 Kültür ortamının hazırlanması 24
3.2.3 Çözeltilerin ve reaktiflerin hazırlanması 25
3.3 Teşhis 26
3.3.1 Morfolojik özellikler ve mikroskobik inceleme 26
3.3.2 Biyokimyasal testler 27
3.4 Vitek2 Kompakt Sistemi Kullanarak Bakteri Teşhisi 28
3.5 Bakteriyel İzolatların Korunması 29
3.5.1 Kısa süreli koruma 29
3.5.2 Uzun süreli koruma 29
3.6 Antibiyotik Duyarlılık Testi 30
3.7 Bakteri İzolatlarının Genetik İçeriğinin İncelenmesi 30
3.7.1 Genomik DNA ekstraksiyonu 30
3.7.2 Bakteri DNA konsantrasyonunun belirlenmesi 31
3.7.3 Agaroz jelin hazırlanması ve elektroforez işlemi 32
3.7.4 16S rRNA genine dayalı bakteriyel izolatların moleküler teşhisi 33
3.7.5 Polimerizasyon reaksiyonu bileşenleri 33
3.7.6 Polimerizasyon programları 34
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 36
4.1 Örnek Toplama 36
4.2 Bakteri İzolasyonu ve Sonuçları 38

4.2.1 Katı kültür ortamlarında *S. aureus* sporlarının koloni şekli 38
4.2.2 Gram boyama kullanılarak mikroskopi 38
4.2.3 Biyokimyasal testler 39
4.3 Enfeksiyon Bölgelerine Göre Pozitif Örneklerin Sayısı ve Yüzdeleri 39
4.4 Antibiyotik Duyarlılığı 42
4.5 *Staphylococcus Aureus* Bakterisine Ait Bazı Genleri Tespit Etmek için PCR Reaksiyonunun Ürünleri 44
4.6 Bakteriyel İzolatların 16S rRNA Genine Dayalı Moleküler Teşhisi 49
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 55
KAYNAKLAR 56
ÖZGEÇMİŞ 70

SİMGELER DİZİNİ

-	Negatif
%	Yüzde
+	Pozitif
µL	Mikrolitre
℃	Santigrat derece
g	Gram
L	Litre
mL	Mililitre

KISALTMALAR DİZİNİ

DNA	Deoksiribo nükleik asit
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
ET	Eksfolyatif toksinler
İYE	İdrar yolu enfeksiyonu
KNS	Koagülaz negatif stafilokoklar
KPS	Koagülaz pozitif stafilokoklar
mRNA	Mesajcı RNA
MRSA	Metisiline dirençli *S. aureus*
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RNA	Ribonükleik asid
rRNA	Ribozomal RNA
SAg	Süperantijenler
SCC	Stafilokokal kaset kromozomu
TSS	Toksik şok sendromu
YYBÜ	Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 *S. aureus*'un mikroskop altında ve büyüme ortamındaki görüntüsü 4
Şekil 3.1 Vitek2 kompakt sistemi 28
Şekil 3.2 Bakterilerden ekstrakte edilen DNA'nın elektroforez görüntüsü 33
Şekil 4.1 İzole edilmiş pozitif ve negatif örneklerin yüzdesi 37
Şekil 4.2 Mannitol tuzu agar üzerinde *Staphylococcus aureus* izolatları tarafından mannitol şekerinin fermantasyonu 38
Şekil 4.3 Enfeksiyon kaynağına göre pozitif bakteri izolatlarının oranları 40
Şekil 4.4 *Staphylococcus aureus*'un antibiyotiklere karşı direnç ve duyarlılık oranları 43
Şekil 4.5 Çalışmada kullanılan virülans genler 45
Şekil 4.6 *Staphylococcus aureus*'un COA geninin varlığını gösteren jel elektroforezi 45
Şekil 4.7 *Staphylococcus aureus*'un SPA geninin varlığını gösteren jel elektroforezi . 46
Şekil 4.8 *Staphylococcus aureus*'un HLY geninin varlığını gösteren jel elektroforezi 48
Şekil 4.9 *Staphylococcus aureus*'un agaroz jel üzerinde ekstrakte edilen genomik DNA'nın bant görünümü 49
Şekil 4.10 *Staphylococcus aureus*'un 16S ribozomal RNA'sının PCR ürünlerinin dizisi (SauR3) 51
Şekil 4.11 *Staphylococcus aureus*'un 16S ribozomal RNA'sının PCR ürünlerinin dizisi (Wesam-43) 52
Şekil 4.12 *Staphylococcus aureus*'un 16S ribozomal RNA'sının PCR ürünlerinin dizisi (MRSA01) 53
Şekil 4.13 *Staphylococcus aureus*'un 16S ribozomal RNA'sının PCR ürünlerinin dizisi (B3A22) 54

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Koagülaz enzimi üretme kapasitelerine göre sınıflandırılan *Staphylococcus* türleri (Becker *et al.* 2014) 5
Çizelge 2.2 *Staphylococcus* türleri 6
Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan alet ve ekipmanlar 20
Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kimyasallar 21
Çizelge 3.3 Deneylerde kullanılan kültür ortamı, üretici ve menşe ülke 22
Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan antibiyotikler 23
Çizelge 3.5 Çalışmada kulalanılan primerler 23
Çizelge 3.6 16S RNA gen amplifikasyonu için PCR reaksiyon programı 33
Çizelge 3.7 Polimeraz zincir reaksiyonunun bileşenleri 34
Çizelge 3.8 SPA geni polimerizasyon programı 34
Çizelge 3.9 COA geni polimerizasyon programı 34
Çizelge 3.10 HLY geni polimerizasyon programı 35
Çizelge 4.1 İzole edilmiş örneklerin sayısı ve yüzdesi 36
Çizelge 4.2 *S.aureus* için uygulanan biyokimyasal testler 39
Çizelge 4.3 Enfeksiyon kaynağına göre bakteri izolatlarının oranları 40
Çizelge 4.4 *Staphylococcus aureus*'un antibiyotiklere karşı direnç ve duyarlılık oranları 42
Çizelge 4.5 Çalışmada kullanılan virülans genleri 44
Çizelge 4.6 COA geninin varlığını belirlemek için PCR ürünleri 45
Çizelge 4.7 SPA geninin varlığını belirlemek için PCR ürünleri 47
Çizelge 4.8 HLY geninin varlığını belirlemek için PCR ürünleri 48

1. GİRİŞ

Staphylococcus aureus, Staphylococcus cinsinin tıbbi açıdan en önemli türüdür. Gram pozitiftir ve insanlarda hava, toprak, mukoza zarları, deri, üst solunum yolu ve beslenme kanalında bulunduğu için doğada yaygın olması ile karakterizedir (Mahon *et al.* 2020).

Staphylococcus aureus normal floranın bir parçası olmasına rağmen, basit cilt enfeksiyonlarından hayatı tehdit eden sistemik hastalıklara kadar çeşitli enfeksiyonlara neden olma kabiliyeti ile ayırt edilir ve koagülaz enzimi de dahil olmak üzere birçok virülans faktörüne sahiptir. β-laktamaz enzimi, hemolizin toksini, enterotoksin enfeksiyonları önemli ölçüde etkiler (Mohammed and Shehab 2019).

Staphylococcus aureus; çıban, apse, selülit, yara enfeksiyonu, toksik şok sendromu, zatürre ve gıda zehirlenmesi gibi birçok hastalığa neden olur. Antibiyotiğe dirençli suşların ortaya çıkması bu bakteriyi önemli kılar, bu nedenle dünya çapında yüksek oranlarda hastane enfeksiyonlarının ana nedenlerinden biri haline gelmiştir (Hawley *et al.* 2014).

Stafilokokların, özellikle β-laktam grubu antibiyotiğe direncinin nedeni, β-laktamaz enzimini üretme kabiliyetinin yanı sıra Penisilin bağlayıcı proteini modüle eden Meca genine sahip olması yoluyla iç direnç üretme kabiliyetinden kaynaklanmaktadır. Bu protein, anti-beta-laktamlara bağlanma için düşük bir afiniteye sahiptir (Al-Qaisi and Al-Salmani 2016).

Bakteriyel patojenitenin şiddeti, konakçının bağışıklık savunmasına direnerek ve toksinler salgılayarak, lokal enfeksiyonlara veya sistemik enfeksiyonlara neden olarak bakteriyel enfeksiyonu kolonize etmeye ve teşvik etmeye çalışan virülans faktörleri olarak bilinen spesifik faktörlerle ilişkilidir (De Nies *et al.* 2021).

Mikrobiyoloji ve genetik mühendisliği tekniklerindeki önemli gelişmelerin bir sonucu olarak modern tekniklerin kullanılması, virülans faktörlerinin veya antibiyotik direncinin

genlerinin yanı sıra antibiyotik duyarlılık testine, izolasyonuna ve teşhisine başvurmadan patogenezle ilgili kalıtsal unsurların tespit edilmesine olanak sağlamıştır (Landecker 2016).

Genler, canlı organizmalarda kalıtımın temel birimleridir. Genler aracılığıyla, organizmaların temel parçalarını ve hayati organik işlevlerini oluşturmak için önemli bilgiler kodlanır. Bazı nadir durumlarda, genler genellikle organizmanın DNA veya RNA tarafından temsil edilen genetik materyalinde bulunur (Brown and Smith 2014).

Teknolojinin ilerlemesi ile modern moleküler biyoloji teknikleri ortaya çıkmıştır. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) gibi yöntemlerle patojen bakterileri tanımlamak ve teşhis etmek mümkündür. Burada, 16S rRNA adı verilen spesifik bir gen amplifiye edilir, çünkü bu gen tüm bakteri türlerinde mevcut olup farklı azotlu baz dizileri ile karakterize edilir. Her tip için, bir PCR reaksiyonu ile yapılabileceği gibi, enfeksiyonun patojenik virülansından doğrudan sorumlu olan bakteriler için virülans faktörlerinin varlığını, coa, spa, hly'nin amplifikasyonu dahil olmak üzere bunları kodlayan genleri güçlendirerek araştırır (Franchetti *et al.* 2020, Costa *et al.* 2010, Vita *et al.* 2020, Higgins *et al.* 2018, Javid *et al.* 2018).

Birinci nesil dizileme tekniklerinin ortaya çıkışı, Sanger dizileme yöntemi, asit DNA'da amplifiye edilen genlerin azotlu bazlarının dizisinin belirlenmesine baz verilere yerleştirilen dizilerle bir karşılaştırma işlemi gerçekleştirme olasılığına yardımcı olmuştur (Kosecka-Strojek *et al.* 2019).

Bu çalışmada, yara, yanık, orta kulak iltihabı, burun ve yutak enfeksiyonları ile enfekte olanlardan örnek toplanması, alınan örneklerden *Staphylococcus* cinsi türlerinin izolasyonu ve tanımlanması ile *Staphylococcus aureus* cinsinin belirlenmesi, teşhis edilen izolatların farklı antibiyotik türlerine karşı direncinin değerlendirilmesi, izole edilen bakteri türlerinin farklı antibiyotiklere karşı duyarlılık testlerinin yapılması, Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testi yapılarak primerler aracılığıyla bazı virülans faktörlerin (Spa, Coa, Hly) tanımlanması, spesifik primerler ve incelenen bakteriler arasındaki virülans faktörlerin tespit edilmesi, izole bakteri türleri için virülans faktörlerinin

varlığının moleküler olarak araştırılması ve genomunun veritabanında (Temel Yerel Hizalama Arama Aracı (BLAST)) ve web sitesinde (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi web sitesi (NCBI)) kurulu standart izolatların gen dizisiyle karşılaştırması amaçlanmaktadır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 *Staphylococcus*

Staphylococcus, Micrococcaceae familyasına ait Gram pozitif bir bakteri cinsidir. Fakültatif olarak anaerobiktirler ve spor üretmezler. Mikroskop altında küresel (kok) ve hareketsiz görünürler ve üzüm benzeri kümeler oluştururlar. *Staphylococcus* cinsi ilk olarak 1880'de İskoç cerrah Sir Alexander Ogston dizindeki pürülan bir apsede üzüm benzeri kok gruplarını keşfetmesiyle tepit edilmiştir. *Staphylococcus* adı, Yunanca Stafilin (üzüm salkımından) ve Kokko (tane) kelimelerinden türemiş ve şekillerine göre Streptokoklardan ayırt edilmeleri için verilmiştir. *S. aureus* (Latince'den aurum, altın) ve *S. albus* (Latince'den albus, beyaz), bugün insan derisinde oluşması nedeniyle, *S. epidermidis* türünden 1884'te Doktor Friedrich tarafından ayrılmıştır (Şekil 2.1) (Al-Kazaz 2014).



Şekil 2.1 *S. aureus*'un mikroskop altında ve büyüme ortamındaki görüntüsü

Staphylococcus cinsi, mikroskop altında, küresel, Gram pozitif bakteriler, tekli, çiftli veya üzüm benzeri kümeleri olarak görünür. Hem aerobik hem de aerofilik inkübasyon ortamlarında, bakteriler katalaz pozitiftir, hareketsizdir ve 30-37°C'de optimal büyüme ile spor oluşturmaz. Agar üzerinde sarıdan beyaza değişen renklerde küresel, pürüzsüz koloniler oluştururlar (Zangerl and Asperger 2003, Smyth and Kahlmeter 2005, Davis *et al.* 2006). 0,5–1,5 mm çapında, tek tek, çiftler halinde, dörtlüler halinde, kısa zincirler

halinde (3-4 hücre) bulunur ve düzensiz üzüm benzeri kümeler oluşturur. Peptidoglikan ve teikoik asit Gram pozitif, hareketsiz, kamçılı olmayan, spor oluşturmayan bakteri hücre duvarlarında bulunur. Kapsül oluşumu açısından genellikle kapsüllenmemiş veya sınırlandırılmıştır. *Staphylococcacea*, %10 NaCl içeren bir ortamda iyi, ancak %15 NaCl içeren bir ortamda zayıf şekilde büyüyen aerobik veya fakültatif bir anaerobdur. Gram boyama ile karakterize edilen kültür ortamında *Staphylococcus epidermis* beyaz, *Staphylococcus saprophytic* açık sarıdan turuncuya, *Staphylococcus aureus* koyu altın sarısı rengine kadar değişiklik gösterir. Çoğu çocuk burun boşluklarında bu bakteriyi taşırken, yetişkinlerin %30'unda birkaç enfeksiyona neden olmaktadır. Bu sebeple bu bakteri, hastalıkların en yaygın nedenlerinden biri olarak kabul edilir (Brooks *et al.* 2007).

2.2 *Staphylococcus* Cinsinin Sınıflandırması

Staphylococcus cinsinin 51 türü ve 28 alt türü vardır ve bunlar koagülaz pozitif stafilokoklar (KPS) ve koagülaz negatif stafilokoklar olarak (KNS) iki gruba ayrılır (Al-Kazaz 2014).

Staphylococcus türleri, fibrinojeni fibrine dönüştüren ve kan pıhtılaşmasından sorumlu olan koagülaz enzimini üretme yeteneklerine göre sınıflandırılırlar (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1 Koagülaz enzimi üretme kapasitelerine göre sınıflandırılan *Staphylococcus* türleri (Becker *et al.* 2014)

Coagulase-positive *Staphylococcus*	**Coagulase-negative *Staphylococcus***			
S. argenteus	*S. agnetis*	*S. edaphicus*	*S. lentus*	*S. saccharolyticus*
S. aureus	*S. argensis*	*S. epidermidis*	*S. lugdunensis*	*S. saprophyticus*
S. delphini	*S. arlettae*	*S. equorum*	*S. massilensis*	*S. schleiferi*
S. intermedius	*S. auricularis*	*S. felis*	*S. microti*	*S. sciuri*
S. lutrae	*S. capitis*	*S. fleuretti*	*S. muscae*	*S. simiae*
S. pseudintermedius	*S. caprae*	*S. gallinarum*	*S. nepalensis*	*S. simulans*
S. schweitzeri	*S. carnosus*	*S. haemolyticus*	*S. pasteuri*	*S. stepanovicii*
	S. chromogenes	*S. hominis*	*S. petrasi*	*S. succinus*
	S. cohnii	*S hyicus*	*S. pettenkoferi*	*S. vitulinus*
	S. condiment	*S. jettensis*	*S. piscifermentans*	*S. warneri*
	S. devriesei	*S. kloosii*	*S. rostri*	*S. xylosus*

2.3 Patojenite

Stafilokok türleri, insan derisinin ve mukoza zarlarının ve çoğu memelinin ve kuşların deri ve mukoza zarlarının doğal mikrobiyotasında bulunur (Çizelge 2.2). Bununla birlikte, bazı türler insanlarda ve hayvanlarda fırsatçı enfeksiyonlara neden olan patojenler olarak tanımlanmıştır ve en yaygın olanı *S. aureus*'tur (Foster 1996, Otto 2013).

Çizelge 2.2 *Staphylococcus* türleri

Türler	**Doğal alanı**	**Türler**	**Doğal alanı**
S. aureus	Memeliler, kümes hayvanları	S. *lentus*	Keçi, koyun, domuz, at, vizon,
S. arlattae	Kümes hayvanları, keçi, koyun, inek, domuz	*S. lugdunensis*	İnsan, keçi, kedi, köpek, çinçilla, kobay
S. auricularis	İnsan	S. xylosus	İnsan, kemirgen, kümes hayvanları, kedi, istiridye, koyun, primat
S. kapitis	İnsan, kedi, köpek, at	*S. massiliensis*	İnsan
S. kapra	İnsan, keçi	*S. microti*	Fare
S. karnosus	İnek	*S. muscae*	Sinek
S. chromogenes	Köpek, İnek, keçi, at, domuz, koyun, İnsan, primat, kümes hayvanlar	*S. nepalensis*	Keçi, domuz, sincap, maymun
S. cohnii	Keçi, at, istiridye	*S. pastöri*	Domuz
S. delphini	Yunus, at, kümes hayvanları	*S. petrasii*	İnsan
S. devriesi	İnek	*S. pettencoferi*	İnsan
S. epidermidis	İnsan, kedi, köpek, sığır,	*S. psödintermedius*	Köpek
S. ecorum	At, sığır, küçükbaş	*S. rostri*	Domuz, kümes hayvanları, bufalo
S. felis	Kedi, at	*S. saccharolyticus*	İnsan, goril
S. fleurettii	Keçi, domuz, küçükbaş memeliler	*S. saprophyticus*	İnsan, sığır, koyun, kedi
S. gallinarum	Kümes hayvanları	*S. schleiferi*	İnsan, köpek, kedi
S. hemolitikus	İnsan, köpek, kedi, sığır, koyun, domuz, at	*S. sciuri*	İnsan inek, keçi, köpek, kedi, yunus, at,
S. hominis	İnsan, köpek, kedi, keçi, koyun, domuz	*S. simiae*	Primat
S. hyicus	Domuz, at	*S. simulans*	İnsan, inek, koyun, at
S.*intermedius*	Kümes hayvanları, at, köpek, kedi, vizon	*S. stepanovicii*	Kemirgen, böcek
S. *kloosii*	Keçi	*S. succinus*	Böcek, kümes hayvanları
S. *vitulinus*	At, kümes hayvanları İnsan, primat, köpek	S. warneri	Kedi, koyun, at, domuz, kemirgen

2.4 *Staphylococcus Aureus*'un Bilimsel Sınıflandırılması

- Alem: *Bacteria*
- Filum: *Bacillota*
- Sınıf: *Bacilli*
- Alt sınıf: *Bacillales*
- Aile: *Staphylococcaceae*
- Cins: *Staphylococcus*
- Tür: *S. aureus*

2.5 *Staphylococcus Aureus*

Staphylococcus aureus hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyonlarda sıklıkla karşılaşılan bir patojendir ve minör deri, yumuşak doku enfeksiyonlarını, enfektif endokardit, osteomiyelit bakteriyemi ve ölümcül pnömoni gibi çeşitli hastalıklara neden olabilir (Rosenbach 1884). *S. aureus* ilk olarak 1880'de cerrah Alexander Ogston tarafından tespit edilmiştir. *Staphylococcus aureus* Gram pozitiftir, mikroskop altında 0,8 m çapında bir "üzüm dizisi" şeklinde görülür, aerobik veya anaerobiktir ve en iyi 37°C'de ve pH 7,4'te büyüme gösterir (MacFaddin 2003). Tıbbi cihazlara yapışması ve biyofilm oluşturma eğilimleri sayesinde bakteriyemi, cilt bulaşmaları, menenjit, protez eklem bulaşmaları ve endokardit sayılabilecek çeşitli hastalıklara neden olabilen fırsatçı bir patojendir. Proteazlar ve hemolizinlerin yanı sıra sitotoksik aktiviteleri nedeniyle patogenezi yüksek olan bir türdür (Forbes *et al.* 2007).

2.6 Diğer Türler

S. pseudintermedius (Perreten *et al.* 2010, Paul *et al.* 2012, Gómez-Sanz *et al.* 2013, Stull *et al.* 2014) evcil hayvanları kolonize eden bir diğer önemli CoPS türüdür (Perreten *et al.* 2010, Paul *et al.* 2012, Gomez-Sanz *et al.* 2013).

Evcil hayvanlarda, deri ve idrar enfeksiyonları ile ameliyat sonrası oluşan lezyonların tümüne *S. pseudintermedius* neden olur (Börjesson *et al.* 2015, Grönthal *et al.* 2015, Somayaji *et al.* 2016, Lozano *et al.* 2017). 2005 yılına kadar yaklaşık olarak 30 yıldan fazla bir süredir *S. intermedius* olarak yanlış teşhis edilmekteydi ancak yakın zamanda *S. pseudintermedius* olarak teşhis edilmeye başlandı (Börjesson *et al.* 2015).

CoNS, CoPS'den daha az zararlıdır, ancak yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde (YYBÜ) en yaygın hastane enfeksiyonlarından biridir ve vücuda implante edilen yabancı cisimleri kolonize edebilir (Becker *et al.* 2014, Patel and Saiman 2010, Osman *et al.* 2016).

S. epidermidis ve *S. haemolyticus* türleri de yaygın olarak görülen bakterilerdir. Ayrıca, bazı türler (*S. saprophyticus* ve *S. lugdunensis*) insanlarda genitoüriner sistem enfeksiyonları ve endokardit ile hayvanlarda sığır mastitisine (*S. chromogene, S. epidermidis* veya *S. simulans*) neden olur (Pyörälä and Taponen 2009, Becker *et al.* 2014).

2.7 *Staphylococcus Aureus'*un Patogenezi ve Epidemiyolojisi

Bakteriler zaman zaman veya kalıcı olarak insanların %30'una kadar kolonize olur ve doğal olarak insan burnunda bulunur. enfeksiyon oluşturabilmesi için konakçının savunma mekanizmalarını aşması gerekir. Bazı konakçı özellikleri ve çevresel faktörler, yaralanmaya yardımcı olabilir (Sakr *et al.* 2018).

S. aureus bakterileri, plöropulmoner enfeksiyonlar ve Osteoartiküler enfeksiyonlar dahil olmak üzere çok çeşitli fırsatçı hastalıklardan sorumludur. Deri enfeksiyonlarına ek olarak, *S. aureus*, kan dolaşımı enfeksiyonunun ana nedenlerinden biridir (Pomorska *et al.* 2021).

S. aureus, influenza virüsü enfeksiyonundan sonra pnömoni enfeksiyonuna neden olur ve yıkıcı solunum komplikasyonlarının ortaya çıkmasından sorumludur ve konakçı için ciddi bir sorundur. Kistik fibroz hastaları tarafından enfekte olduğunda, fibrozis kanal sekresyonlarının uzaklaştırmaya çalışır. Fibrozun ilk ve tek ölüm nedenidir *S. aureus*'tur.

2006 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde Üniversite Hastanesi'nin cerrahi merkezi bakım ünitesinde, Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) salgını meydana gelmiştir. Salgın, bu suşun taşıyıcısı olan Üst Solunum Sistemi cihazından kaynaklanmıştır. Yapılan incelemelerde enfeksiyonun depolanması ve yayılmasında sağlık çalışanlarının iyi bir depo görevi yaptığı ortaya çıkmıştır (Sakr *et al.* 2018, Chang *et al.* 2017).

2.8 *Staphylococcus Aureus*'un Tedavisi ve Antibiyotik Direnci

β-laktam antibiyotikler, *S. aureus* enfeksiyonu için tercih edilen tedavi yöntemidir, özellikle Penisilin, peptidoglikan bağlarının oluşumunu bloke ederek çalışan bir antibiyotiktir. Peptidoglikan, bakteri hücresinin ölümüne yol açar. *S. aureus*, Penisilin'e karşı önemli bir direnç kaydetmiştir, bu nedenle Penisilin ile aynı etki mekanizmasına sahip olan Oksasilin ve Flucloxacillin diğer hayati öneme sahip tedavilere sebep olmuştur. Metisiline dirençli suşlar (MRSA) bir antikorla tedavi edilirken Vankomisin biyolojik olarak mevcuttur, ancak bu antagonistin böbreklerin fonksiyonlarını etkilemek için çalıştığı konakçı üzerinde olumsuz yan etkileri olduğu gösterilmiştir. Antagonist, böbrek fonksiyon bozukluğunun ilk belirtileri ortaya çıkar çıkmaz ve bu zayıflıklara rağmen, bir antagonist olarak kalır. Vankomisin biyosentezi, metisiline dirençli suş enfeksiyonunun (MRSA) tedavisi için ilk standarttır (John 2020, Kuehnert *et al.* 2005).

Antibiyotiklerin çokluğu, *S. aureus* enfeksiyonuna karşı artan direnç oranları ve ilaca dirençli suşların yayılmasındaki artış antibiyotiğin *S. aureus*'un klinik tedavisini daha zor hale getirmiştir. Endojen direnç dahil olmak üzere antibiyotiklere karşı çeşitli direnç mekanizmaları üç temele dayanmaktadır (Guo *et al.* 2020). Bunlar:

1-Dış zar geçirgenliği

Bakterinin dış zarının geçirgenliği azaldığında ilacın emilimi azalarak enfeksiyona karşı kullanılan tedavinin başarısını etkiler (Al-Tikriti 2021).

2-Eflux sistemi

Bu sistemler, ilaç akışını önemli ölçüde yönlendiren, dirence yol açan ve onları kodlayan genlerin etkinleştirilmesiyle üretilir (Al-Tikriti 2021).

3-Beta-laktam enzimlerinin aşırı üretimi

Bu enzimler, antioksidanlarda bulunan beta-laktam halkasının imid bağını kırmak için çalışır. Beta-laktamlar, antibiyotikleri parçalayan inaktif bileşiklere dönüştürülür; buna, inaktif bileşiği oluşturmak için penisilin antagonistleri (kalemonik asit) dahildir (Al-Tikriti 2021).

2.9 Antibiyotik Direnci

Bakterilerin antibiyotiklere direnme yeteneği, araştırmacıları yeni antibiyotikler keşfetmeye motive eden ana nedendir. Aşırı ve düzensiz antibiyotik kullanımı, bakterilere antibiyotiklere karşı direnmek için birçok yol sunar (Brown and Smith 2014).

En tehlikeli enfeksiyonlar, önemli bir sağlık riski oluşturan çoklu ilaca dirençli suşların neden olduğu enfeksiyonlardır (Fricke *et al.* 2016). *Staphylococcus*'un direnme yeteneği, 1940 yılı başında tedavi olarak kullanılan anti-penisilin'e olan direncinden sonra ortaya çıktı ve bu direnç, bu bakterinin β-laktamaz enzimini üretme yeteneğinden kaynaklanmaktadır. Anti-penisilin'de bulunan β-laktam halkası inaktif birimlere dönüşür. Penisilloik asit ortaya çıkar bu nedenle antagonist etki etme yeteneğini kaybeder (Madi *et al.* 2010).

Penisilin antibiyotiklerinden sonra bu mikroplardan kurtuldukları tespit edildiğinden trimetoprim antibiyotikleri kullanılmıştır (Al-Marjani 2014).

Penisilin, *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarını azaltmak için en yaygın kullanılan antibiyotiklerden biriydi. Ancak dirençli *Staphylococcus aureus* suşunun hızla ortaya

çıkması ve yayılması bu antibiyotiğin kullanımını ciddi şekilde sınırlandırmıştır. İlk yarı sentetik Penisilin olan metisilin, penisiline dirençli *S.aureus* bakterilerinin neden olduğu enfeksiyonları tedavi etmek için 1959'da piyasaya sürüldü. İlk olarak 1961'de Birleşik Krallık'ta, MRSA'ya karşı direnç kazanan *Staphylococcus aureus'*un belirlenmesinden kısa süre sonra diğer Avrupa ülkelerinden ve daha sonra Japonya, Avustralya ve Amerika Birleşik Devletleri'ne yayıldığına dair raporlar bulunmaktadır (Lee *et al.* 2013).

Daha sonra, Amoxicillin, Ciprofloxacin, Ampicillin ve Doxycyclin gibi diğer antibiyotikler ortaya çıkmışyır ancak bu antibiyotikler kısa sürede bunlara karşı direnç geliştirmiştir. Bu direncin birkaç nedeni olabilir; ribozomal proteinleri kodlayan genlerdeki bir mutasyona bağlı olabilir ve bu da protein reseptörünün ribozoma bağlanmasında değişikliğe yol açar veya bakteriler ribozom üzerindeki hedef bölgeyi (30S) değiştirme yeteneğine sahip olabilir (Khorshid 2016).

Bu dirençli mikropları taşıyan veya bunlarla enfekte olmuş sağlık çalışanları, hastane yataklarında bulunan bakteriyi taşıyan hastane personeli, sağlık personelinin eliyle bir hastadan diğerine dirençli mikropları yayması ve enfekte hastanelerdeki kontamine gıdalar bakterinin yatan hastalara yayılmasına katkıda bulunabilir (Bhat 2013, Friães *et al.* 2015).

Yapılan bir araştırmada, sağlık personelinin burun deliklerinde MRSA yaygınlık oranının %64,2, hastalarda (%40,82) ve restoranlarda yemek hazırlayan işçilerde %83,3 olduğu tespit edilmiştir (Watkins *et al.* 2012).

Amerika Birleşik Devletleri'nde MRSA ile enfekte olan taşıyıcıların ve kişilerin yüzdesi 1990'lardan bu yana önemli ölçüde artmıştır (Arora *et al.* 2010). 1980 yılında %5 iken 1990 yılında %20'ye çıkmış, 1995 yılında %28'e, 1999 yılında ise %40'a ulaşmıştır (Barros *et al.* 2012). Son araştırmalar, Amerika Birleşik Devletleri'nde yatan hastaların yaklaşık %49,9-%63'ünün MRSA ile enfekte olduğunu göstermektedir (Khudaier *et al.* 2013, Savini *et al.* 2010).

2.10 *Staphylococcus Aureus*'un Virülans Faktörleri

Staphylococcus aureus, basit cilt enfeksiyonlarından ölümcül bakteriyemiye kadar çeşitli hastalıklara neden olan virülans faktörleri nedeniyle dünya çapında en yaygın morbidite ve mortalitenin nedenlerinden biridir (Cheung *et al.* 2021).

2.10.1 *Staphylococcus aureus* duvarındaki virülans faktörleri

1. Protein A

Staphylococcus aureus duvarının en önemli bileşenlerinden biridir, çünkü IgG antikorunun FC bölgesine bağlanarak fagositoz sürecini önlemeye çalışır ve böylece efektör fonksiyonun ortadan kaldırılmasına yol açar (Varshney *et al.* 2018).

SpA geni, *Staphylococcus aureus* bakteri suşlarının %90'ından fazlasının hücre duvarlarında bulunan Protein A'yı kodlamaktan sorumludur, bu nedenle protein A yakın zamanda *S. aureus* için bir aşı antijeni olarak önerilmiştir (Brignoli *et al.* 2019).

2. Kapsül

Staphylococcus aureus, hücresel fagositoza dirençle artan ilişkileri yoluyla stafilokok enfeksiyonunda önemli bir patojenetik faktör olan kapsüler polisakkarit katmanları (CP8) ile çevrilidir (Visansirikul *et al.* 2020).

3. Fibronektin bağlayıcı protein (FnBP)

Adezyon, bakterileri konakçının bağışıklık sisteminden koruyan ve kronik enfeksiyonu kolaylaştıran biyofilm oluşumunda veya konakçı hücrelerin istilasında ilk adımdır. *Staphylococcus*'ta yapışma, Fibronektin bağlayıcı proteinler adı verilen yüzey proteinlerine bağlıdır (Josse *et al.* 2017).

4. Topaklanma faktörü

Staphylococcus aureus yüzey proteini-aglomerasyon faktörü, iyi anlaşılmamış moleküler etkileşimler yoluyla kan plazma proteini fibrinojene (Fg) bağlanır ve bakteriyel düzeneği destekler (Herman-Bausier *et al.* 2018).

2.10.2 *Staphylococcus aureus* enzimleri

Staphylococcus aureus, bakterilerin virülansı ile ilişkili ve patojeniteye neden olan (koagülaz, katalaz, üreaz, proteaz, lesitinaz) çeşitli enzimler üretir ve bunlar sıklıkla çoklu ilaca dirençli ve metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarında salgılanır (Khatuna and Shorena 2020).

1. Koagülaz

Staphylococcus aureus'un aracılık ettiği pıhtılaşma üretiminden sorumlu enzimler, bakterilerin etrafında koruyucu fibrin tabakaları olarak hareket ederek onları antimikrobiyallerden ve konakçı bağışıklık faktörlerinden korur, kanın pıhtılaşma süreci konakçının fizyolojisi ile sınırlı değildir, ancak patojenler yaşam döngüsünün bir parçası olarak pıhtı oluşturur (Trivedi *et al.* 2018).

Coa geni tarafından kodlanan koagülaz enzimi, *S. aureus*'un önemli bir virülans faktörüdür ve *S. aureus* izole bakterileri için bir özgüllük olarak kullanılabilir (Mahmoudi *et al.* 2017).

2. Katalaz

Katalaz enzimi, serbest hidrojen peroksit H_2O_2'yi bozar ve inaktive eder (Glorieux and Calderon 2017).

3. Stafilokinaz (Firrinolizin)

Stafilokinaz, plazminojenin dolaylı aktivasyonu yoluyla fibrinolitik fibrini bozar ve esas olarak *Staphylococcus aureus* tarafından üretilen üçüncü nesil fibrinolitik enzimlere aittir (Vakili *et al.* 2017).

4. Hiyalüronidaz

Staphylococcus aureus, kıkırdak, eklem sıvısı ve cilt gibi organizmaların hyaluronik asitten zengin dokularına kadar hyaluronik asidi parçalayarak nüfuz etmesine yardımcı olur (Khalaf ve Hachim 2017).

2.10.3 *Staphylococcus aureus'*un toksinleri

Staphylococcus aureus, çeşitli toksinler üretme yeteneği olan bir grup virülans faktörüne sahiptir. Bu nedenle, üretimini azaltmak, böylece terapötik yaklaşımları geliştirmek ve yeni stratejilerin geliştirilmesine olanak sağlamak için *Staphylococcus aureus* toksinlerinin daha iyi anlaşılmasına ihtiyaç vardır (Oliveira *et al.* 2018). *Staphylococcus aureus*, insanlarda çeşitli hastalıklara neden olan toksinler üretir, bu toksinler kaynağına göre üç kategoriye ayrılır (Kim 2019).

(1) Süperantijenler (SAgs), toksik şok sendromuna (TSS) veya SFP stafilokokal gıda zehirlenmesine neden olan güçlü bağışıklık uyarıcı eksotoksinlerdir.

(2) Eksfolyatif toksinler (ET'ler) epidermal bariyeri yok eder ve bozar ve stafilokokal haşlanmış deri sendromuna (SSSS) neden olur.

(3) Hücre lizisine neden olan sitotoksinler.

2.11 Modern Moleküler Teknikleri

Bakteri teşhisinde kültür tekniklerinin kullanılmasına rağmen, bazı bakteri türleri daha önce bilinmeyen fenotipik özelliklere sahip olabilir. Kültür ortamında büyüme birkaç gün sürebileceğinden, bu sürenin uzunluğunu teşhisi etkiler bu nedenle, in vitro teşhis ve fenotipik özellikler için 16S rRNA gen tabanlı moleküler teknikler kullanılır (Winand *et al.* 2019). Bunun nedeni, bu genin tüm bakteri türlerinde tek bir kopya veya çoklu kopyalar halinde bulunmasıdır. Bu teknik, zamanla değişmeyen sabit bir diziye sahiptir ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) 16S rRNA gen dizilimi ile DNA Genetik ve Amplifikasyon Prosesinin ekstraksiyon işlemi ile yapılır (Peker *et al.* 2019). Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), patojenez için gerekli olan bakteriyel virülans faktörlerinin tespitinde da kullanılabilir, çünkü bu faktörleri kodlayan genler bu etkileşimde benimsenir (Costa *et al.* 2010).

2.12 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

1983'te bilim adamı Mullis tarafından icat edilerek, 1985'te bu teknoloji için bir patent almıştır. Bu teknik, hedef DNA dizilerini çoğaltmanın bir sonucu olarak ortaya çıkan zincir DNA polimerazına dayanmaktadır. Burada, canlı organizmanın dışındaki DNA'daki bir hedef bölgenin on milyarlarca kopyası üretilir ve bu teknik için çeşitli gereksinimler vardır (Garibyan and Avashia 2013).

- Şablon DNA'sı
- Primerler
- Taq polimeraz
- Tampon
- Deoksiribonükleosit trifosfatlar (dNTP'ler) nükleotidleri

Tüm gereklilikleri içeren tüpler, bir PCR makinesi vasıtasıyla farklı tiplerde tekrarlanan sıcaklık döngülerine tabi tutulur (Valones *et al.* 2009). Birden fazla aşaması bunlunur. Bunlar;

1-Denatürasyon aşaması

Bu aşamada, sıcaklık 4-96℃ derece arasında yükseltilir, çünkü bu, iki bant arasındaki hidrojen bağları üzerindeki etkisiyle DNA'nın iki sarmalının ayrılması için gerekn sıcaklıktır (Al-Tikriti 2021).

2-Hibridizasyon aşaması

Bu aşama 55-68℃ arasında değişen sıcaklıklarda meydana gelir, bu da sıcaklıkta bir düşüşe yol açarak hidrojen bağları oluşturma ve tek iplikli primerleri DNA'da amplifiye edilecek bölgelere tamamlayıcı dizilerle bağlama olasılığına yol açar (Al-Tikriti 2021).

3-Uzama aşaması

Bu aşamadaki sıcaklık 70-82℃ arasında değişir ve bu sırada tek DNA zincirinin tamamlayıcı dizisi, polimeraz enzimi Taq polimerazın tek bir DNA dizisine bağlanması ve ardından dNTP'ler eklenerek replikasyon ile üretilmesi sağlanır (Al-Tikriti 2021).

2.13 DNA Dizilimi

DNA dizilimi, (Adenin, Sitozin, Kinin ve Timin) İçeren azotlu bazların düzenlenmesi olarak tanımlanır Genomdaki nükleotitler, nesil dizileme teknikleri olarak adlandırılan farklı teknikler kullanılarak DNA dizilimi ile belirlenebilir (Burkhardt 2013).

1-Birinci nesil dizileme

Birinci nesil dizileme teknolojisi, Sanger dizilemesini tanımlayan benzersiz bir yöntem veya zincir sonlandırma olarak bilinen yöntemi içerir Bu yöntem, (OH-3′) grubundan yoksun olan nükleotid dioksit Dideoksinükleotitlerin kullanımına dayanır ve bu da yetersizliğine yol açar. DNA polimeraz enzimi tarafından fosfodiester bağlarının oluşumu üzerine, daha sonra daha fazla yeni nükleotidin eklenmesini ve böylece DNA zincirinin

ve Dideoksinükleotitlerin sonlandırılmasını önler. Sekanslama Sanger, özellikle Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) sonuçları ve plazmitlerin yapıları olmak üzere birçok uygulamada kullanılmaktadır.

2-İkinci nesil dizileme

İkinci nesil dizileme, güçlendirilmiş tek DNA moleküllerinin milyonlarca Kısa okumasının üretilmesine dayanır. Bu nesil, DNA moleküllerinin yaklaşık (500 azotlu baz) kullandığı Solexa dizileme veya Illumina boya dizileme adı verilen bir yöntemi içerir. Solexa dizilimi, genomik dizilim ve Hedefli dizilim dahil olmak üzere birçok diziyi destekler. Bu teknikte, üretilenlerden gerçek dizi değişkenlerinin belirlenmesine yardımcı olan sıralama işleminden kaynaklanan dizi hatalarını incelemek mümkündür.

3-Üçüncü nesil dizileme

Üçüncü nesil dizileme yöntemleri, Uzun moleküllerin (RNA, DNA) dizilerini hedefler. Ticari teknolojide endüstri lideri Pacific Biosciences'tır (PacBıo). Pasifik dizilimi, Tek Moleküllü Gerçek Zamanlı olarak da adlandırılır. Birçok uzun diziyi (30-50 kb) içerir. Sıfır Modlu Dalga Kılavuzu olarak bilinen bir ışık alanı da vardır. Küçük bir oda, ışık enerjisini kullanılan ışığın dalga boyuna oranla küçük boyutlu alanlara yönlendirir. Bu tekniğin önemli avantajlarından biri, sentez sırasında her nükleotid ilavesinin oranını görüntüleme ve çlçme olasılığıdır. Darbe, Darbeler arası süre (IPD) olarak adlandırılır ve genom toplama için uzun okumalar sağlar.

2.14 16S rRNA için Gen Kodlaması

16S rRNA geni tüm bakteri türlerinde bulunur ve 16S, bir santrifüjdeki RNA moleküllerinin çökelme hızını gösterir. 16S rRNA geni, protein sentezinde görev alır, haberci RNA'yı (mRNA) bir proteine çevirerek genetik mesajların çevrilmesine yardımcı olur. 16S rRNA geni, bakteri tanımlama alanında kullanılır çünkü bu gen tüm bakteri türlerinde bulunur. Genetik dizisindeki değişiklik çok azdır (Jay and Inskeep 2015).

2.15 *Staphylococcus Aureus* 'un Bazı Virülans Faktörlerinden Sorumlu Genler

Stafilokokal kaset kromozomu SCC'leri, enterotoksinler, eksotoksinler, toksik şok sendromu ve enzimler dahil olmak üzere çeşitli virülans faktörlerini kodlayan genlere sahiptir (Argudín *et al.* 2010).

2.15.1 SPA geni

Staphylococcus aureus bakterisinin virülans faktörü protein A'dan sorumlu gendir. *Staphylococcus aureus*'un konakçı bağışıklık tepkilerinden kaçmasını sağlayan önemli bir faktördür. SPA geninin, Xr bölgesindeki büyük değişim nedeniyle genin farklı türleri vardır. Bu gen ırkları sınıflandırmak için sıklıkla kullanılır (Votintseva *et al.* 2014).

2.15.2 *Staphylococcus aureus'*ta koagülaz enzimini kodlayan gen

Koagülaz enzimi, Tandem r dizileri (81 bp tandem tekrarları) içerdiğinden büyük oranlarda polimorfik bir gen olmasıyla karakterize edilen Coa geni adı verilen bir gen tarafından kodlanır. Bu kritik özellik, Coa geni olan *S. aureus*'un farklı suşları arasında ayrım yapmak için kullanılır. Diğer kodlamalar, konakçının plazmasında pıhtıların oluşturulmasında yer alır. Bu enzim fibrinojeni fibrine dönüştürür ve bu da pıhtı oluşumuna yol açar. *S. aureus*'ta koruyucu bir kalkan görevi görür. Konağın fagositoz sürecinden ve kullanılan genden korumak için çalışır. *S. aureus*'un yayılması için epidemiyolojik bir belirteç olarak kodlanan çekirdek gen, genetik polimorfizme dayanmaktadır (Javid *et al.* 2018).

2.15.3 Hly-hemolizin faktör geni

Hemolizin enzimi, bazı bakteri türlerinin sahip olduğu virülans faktörlerinden biridir ve bu enzim, kırmızı kan hücrelerinin hücre zarını bozabilir (Abdullah 2018).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Bakteri örneklerinin toplanması

Çalışma için gerekli olan örnekler 2022 yılının Mart-Temmuz ayları arasında Salahuddin Hastanesin'den alınmıştır. Toplamda farklı yaş ve cinsiyet grubunda olan 130 kişiden örnekleme yapılmıştır. Örnekler; orta kulak iltihabı, burun ve boğaz, idrar yolu iltihabı, yanıklar, yaralardan alınmıştır. Bakterilerin canlılığını, hayatta kalmasını sağlamak ve numuneleri toplamak için taşınabilir tamponlar kullanılmıştır.

Yara sürüntüsü, yara yüzeyini bozmadan sargının çıkarılması ve ardından zikzak hareketi yapılarak tüm yara yüzeyinin silinmesi ve silinirken sürüntüye tamponun döndürülmesi ile alınmıştır (Benbow 2011). Kulak sürüntüsü ise kulak kanalına tamponun sokulup döndürülmesi ile alınmıştır.

Aynı şekilde boğazdan alınan örneklerde, farenjit ve tonsillitten sürüntü örnekleri alınmıştır. Yanık hastalığına ilişkin olarak, yanık bölgesinin renk değişikliği ve kötü koku belirtilerinin yanı sıra irin varlığı gibi klinik değerlendirmesinden sonra numuneler alınmıştır. Yara üzerinde bulunan kir steril gazlı bez ile uzaklaştırıldı ve yüzey temizlenmeden önce sürüntü örneği alınmıştır (Bahar *et al.* 2008). İdrar örnekleri alınırken hastanın elini yıkaması ve idrarının bir miktarını yaptıktan sonraki kısmını tek kullanımlık plastik toplama şişelerine alması bilgisi verilerek alınmıştır (Skobe 2004).

3.1.2 Kültür

Alınan tüm numuneler Mannitol Tuz Agar üzerine ekildikten sonra 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Büyümenin ortaya çıkmasından sonra saflaştırma ve teşhis için tek koloniler alınmıştır (Brown *et al.* 2005).

3.1.3 Çalışmada kullanılan araç ve gereçler

Bu çalışmada kullanılan tüm araç ve gereçler Çizelge 3.1'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan alet ve ekipmanlar

Araç ve Gereçler	**Şirket**	**Menşei**
AB DNA dizileme sistemi	Macrogen	Kore
Analitik denge	Macrogen	Kore
Otoklav	RILP (TR280D)	İtalya
Denge	Denver	Almanya
Santrifüj	P.L.C	ABD
Soğuk Mikrofüj	Eppendorf	Almanya
Işık Mikroskobu	Novex	Hollanda
Konik şişeler	BBL	ABD
Soğutmalı Santrifüj	Eppendorf	Almanya
Derin dondurucu	Sanyo	Japonya
Tek kullanımlık Petri kapları	Al-Hani	ABD
Elektroforez güç kaynağı Ünite EFD-300	Optima	Japonya
Ependorf tüpleri	Sigma	İngiltere
Jel Dokümantasyon Sistemi	Bionner	Kore
Jel Dokümantasyonu Wise UV-M 20	Shimadzu	Kore
Isıtmalı Manyetik karıştırıcı	Biosan	Almanya
Hot Plate	Gallankamp	İngiltere
Etüv	Memmert	Almanya
LT-3000 Mikroplaka Yıkayıcı	Labtech	Kore
LT-4000 Mikroplaka Okuyucu	Labtech	Kore
Laminer Hava Akış Başlığı	Techne	Birleşik Krallık
Sıcak Plakalı Manyetik Karıştırıcı	Scientific Industries	ABD
Mikrofüj	Beckman	ABD
Mikropipet	Gilson	Fransa
Mikroskop	Labomed	ABD
Mikrodalga fırın	LG	Kore
Öğütücü	Natinal	Japonya
Millipor Filtre Kâğıdı	Milliporecorp	ABD
Karıştırıcı	Griffin	Almanya
Nano Drop 2000 Spektrofotometre	Thermo scientific	Almanya
Fırın	Heraens	Almanya
PCR termal döngüleyici	Thermo scient	ABD
PCR Termo döngüleyiciler	Sens Quest	Almanya
PCR tüpleri PCR	Ependorff	ABD
pH metre	Oakton	Çin
Güç kaynağı	Consort	Belçika
Gerçek Zamanlı Thermocycler cihazı	Applied 7500	ABD
Buzdolabı	National	Japonya
Hassas Terazi	Sartaurus	Almanya
Çalkalayıcı	Adolf Kuner	İsviçre
Standart tel döngü	Himedia	Hindistan
Test tüpleri	Superstar	Hindistan
Termocyler	Applied Biosystems	Singapur
Taşıma ortamı swabları	SterellinLtd	İngiltere
UV trans aydınlatıcı	San Gabrill	ABD

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan alet ve ekipmanlar (Devam)

Araç ve Gereçler	**Şirket**	**Menşei**
UV Spektrofotometresi	Optima	Japonya
Görünür Spektrofotometre	Bench & Lomb	Almanya
Vitek2 sistemi	Biomerieux	Fransa
Vorteks	FAWEM	Brezilya
Su banyosu	Memmer	Almanya
Su Damıtma	GFL	Almanya

3.1.4 Kimyasal ve biyolojik bileşikler

Bu çalışmada kullanılan tüm kimyasallar Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kimyasallar

Kimyasallar	**Şirket**	**Menşei**
Alkol	BDH	İngiltere
Aseton	BDH	İngiltere
Agaroz	BDH	İngiltere
Amonyum asetat	BDH	İngiltere
Bakl	BDH	İngiltere
Baryum Klorür ($BaCl_2.2H_2O)_2$	BDH	İngiltere
Borik asit	BDH	İngiltere
Bromofenol Mavi Boya	BDH	İngiltere
Kloroform	BDH	İngiltere
$CuSO_4$	BDH	İngiltere
Deiyonize distal su	Aljoud	Irak
Distal Su	-	-
EDTA	BDH	İngiltere
Etanol %70	BDH	İngiltere
Etanol %99	Bioneer	Kore
Gliserol	BDH	İngiltere
Gliserol	Oxoid	İngiltere
Gram lekesi	SYRBIO	İsviçre
H_2O_2	BDH	İngiltere
H_2SO_4	Oxoid	İngiltere
HCl	BDH	İngiltere
Hidroklorik asit dişlisi–Tris HCl	BDH	İngiltere
Hidrojen peroksit	AL-Razi	Irak
İyot	BDH	İngiltere
İzomyL	BDH	İngiltere
Lizozim	BDH	İngiltere
Na_2EDTA	Riedel	İtalya
NaCl	BDH	İngiltere
NaOH	BDH	İngiltere
Yağ merceği	Fluka	İsviçre
Tetra metil	BDH	İngiltere
Penisilin G	BDH	İngiltere

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kimyasallar (Devam)

Kimyasallar	**Şirket**	**Menşei**
Proteinaz K	BDH	İngiltere
Sodyum Klorür (NaCl)	BDH	İngiltere
Sodyum Solvat SDS	Maknur Labs	Kanada
Üre	Fluka	İsviçre

3.1.5 Kültür ortamı

Çizelge 3.3'de deneylerde kullanılan kültür ortamı türleri, üreticiyi ve menşe ülkeleri gösterilmektedir.

Çizelge 3.3 Deneylerde kullanılan kültür ortamı, üretici ve menşe ülke

Ortam	**Üretici/Menşei Ülke**
Kan Bazlı Agar	Oksoid/İngiltere
Beyin-Kalp İnfüzyon Suyu	Oksoid/İngiltere
Dnase Agar	Oksoid/İngiltere
Hinton Müller Agar	Oksoid/İngiltere
Mannitol Tuz Agarı	Oksoid/İngiltere
Süt Yağsız Agar	Oksoid/İngiltere
Besin Agarı	Oksoid/İngiltere
Besin Suyu	Oksoid/İngiltere
Üre Bazlı Agar	Oksoid/İngiltere
Yumurta Sarısı	Oksoid/İngiltere

3.1.6 Antibiyotikler

Çizelge 3.4'te göre bakteri izolatlarının duyarlılığını test etmek için kullanılan antibiyotikler gösterilmiştir.

Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan antibiyotikler

Antibiyotik Adı	Sembol	Konsantrasyon (µg)	Şirket ve Menşei Ülke
Vankomisin	VA	5	Biyoanaliz Türkiye
Azitromisin	AZM	15	
Amoksisilin	AX	25	
Siprofloksasin	CIP	5	
Amikasin	AK	30	
Antibiyotik	CN	10	
İmipenem	IPE	10	
Meropenem	MEM	10	
Sefotaksim	CTX	30	
Trimetoprim	TMP	5	

3.1.7 Primer dizileri

Çalışmamızda kullanılan pirimerler Çizelge 3.5'te gösterilmektedir.

Çizelge 3.5 Çalışmada kulalanılan primerler

Sıra	Gen	Primer dizisi(3'-5')		Boyut	Referans
1	16S rRNA	GGACCGGGGCTAATACCGAATGATA	F	1200	(Kumar *et al.* 2015)
		TTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTA	R		
2	Coa	CGAGACCAAGATTCAACAAG	F	400	(Aslantaş *et al.* 2007)
		AAAGAAAACCACTCACATCA	R		
3	Spa	CAA GCACCAAAAGAGGAA	F	320	(Frenay *et al.* 1994)
		CAC CAG GTTTAACGACAT	R		
4	Hly	GGTTTAGCCTGGCCTT	F	530	(Ariyanti *et al.* 2011)
		CATCACGAACTCGTTC	R		

3.2 Yöntemler

3.2.1 Kültür ortamı ve çözeltilerin sterilizasyonu

Bu çalışmada kullanılan kültür ortamı ve çözeltiler, farklı yöntemlerle sterilize edilmiştir (Brown and Smith 2014).

3.2.1.1 Isı sterilizasyon yöntemi

Sterilizasyon, hazır halde olan veya hazırlanan kültür ortamlarının 121℃ sıcaklıkta 1 atm basınç altında15 dakika Otoklavlanması ile gerçekleştirilir.

3.2.1.2 Filtreleme ile sterilizasyon

Yüksek sıcaklıklardan etkilenen çözeltiler, Üre ve şeker çözeltileri de dahil olmak üzere, 0,22 mikrometre çapında Millipore mikrofiltrasyon üniteleri kullanılarak sterilize edilir.

3.2.2 Kültür ortamının hazırlanması

Katı ve sıvı kültür ortamı, üreticinin ambalaj üzerindeki talimatlarına göre hazırlanmış ve otoklav ile sterilize edilmiştir.

3.2.2.1 Mannitol tuzlu agar

111 g besiyeri 1 litre distile suda çözülmüş ve otoklavda sterilize edilerek hazırlanmıştır. Daha sonra, soğumaya bırakılarakdı petri kaplarına dökülmüştür. Bu ortam, stafilokok bakterileri büyüdüğünde sararan bir ortamdır. *S. aureus*, mannitol tuzlu agar çözeltisini fermente ederek, (%7-10) NaCl taşıyabileceğini gösterir (Collee *et al.* 1996).

3.2.2.2 Kanlı agar

Kan baz ortamı, 1 litre distile suya 40 g eklenerek hazırlanmıştır; daha sonra kan bazı sterilize edildikten ve 45°C'ye soğutulduktan sonra buna %5 oranında insan kanı eklenmiştir. Bu ortam, izolatları aktive etmek ve kan analiz etme yeteneklerini araştırmak için bir zenginleştirme ortamı olarak kullanılmıştır (Atlas 2005).

3.2.2.3 Mueller hinton agarı

38 g 1 litre distile suda çözülerek hazırlandı. Kaynatıldıktan sonra otoklavda sterilize edilip 45°C'ye soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra petri kaplarına dökülerek bakterilerin antibiyotiklere karşı duyarlılığı test edilmiştir.

3.2.2.4 Besin agarı

28 g besiyeri 1 litre distile suda çözülerek hazırlandı ve kaynatıldıktan sonra otoklavda sterilize edildi ve 45°C'ye soğumaya bırakıldı. Daha sonra petri kaplarına dökülerek kolonileri beslemek ve kısa süre muhafaza etmek için kullanıldı (MacFaddin 2003).

3.2.2.5 Besin et suyu ortamı

25 g besiyeri 1 litre distile suda eritilerek kullanıldı ve kaynatıldıktan sonra pürizer ile sterilizasyon yapıldı. Daha sonra 45°C'ye soğumaya bırakıldı ve petri kaplarına döküldü. Daha sonra mikropların üremesi ve izolasyonu ile örneklerin korunması için kullanıldı (MacFaddin 2003).

3.2.2.6 Beyin kalp infüzyon suyu

Hazırlanan firmanın talimatlarına göre 1 litre distile suda 37 g çözülerek hazırlandı. Kaynattıktan sonra sterilizasyon otoklav kullanılarak yapıldı ve 45°C'de soğumaya bırakıldı. Daha sonra petri kaplarına döküldü ve örnekleri büyütmek ve gliserol ile muhafaza etmek için büyütme ortamı olarak kullanıldı (MacFaddin 2003).

3.2.3 Çözeltilerin ve reaktiflerin hazırlanması

Çeşitli çözeltiler ve reaktifler hazırlandıktan sonra Otoklavda 121°C sıcaklıkta ve 15 libre/ang basınçta 15 dakika süreyle sterilize edildi. Cam malzemeler ise 180°C'de elektrikli fırında iki saat sterilize edildikten sonra kullanıldı.

3.2.3.1 McFarland standardı

1,175 g baryum klorürün 100 mL distile su içinde çözülmesiyle hazırlanan 99,5 mL baryum klorür çözeltisi ile 1mL sülfürik asit ilave edilerek karıştırılır. Sıkı oturan bir kapağı olan opak bir tüpte saklanır ve yaklaşık 108 x 1,5 hücre/mL'ye eşit olacak şekilde bakteri hücresi elde etmek için çözelti kullanılır (Benson 2002)

3.2.3.2 Oksidaz reaktifi

1 g dihidroklorür Tetrametil-P-fenilendiaminin 100 mL distile su içinde çözülür ve bakterilerin oksijen enzimi üretme kabiliyetini tespit etmek için kullanılır (Procop *et al.* 2020).

3.2.3.3 Katalaz reaktifi

Bu reaktif, hidrojen peroksit çözeltisi (H_2O_2) ile %3 katlaz reaktifinin %30 konsantrasyonda hazırlanmasıyla elde edilir ve bakterinin kataliz enzimleri üretme yeteneğini algılaması için kullanılır (Procop *et al.* 2020).

3.2.3.4 Üre çözeltisi

Bu çözelti, 40 gram üre tozu 100 mL damıtılmış suda çözelerek hazırlanır.

3.3 Teşhis

3.3.1 Morfolojik özellikler ve mikroskobik inceleme

Testler, Mannitol tuzlu agar besiyerinde büyüyen kolonilerin dikim özelliklerinin gözlemlenmesini, koloninin şekli, çapı, rengi ve boyutunun incelenmesini ve ardından kanlı agar besiyerinde yeniden büyütülmesini ve gözlemlemek için 24 saat 37°C'de inkübe edilmesini içermektedir. Bundan sonra ültürden bir kolını alınarak cam lamel

üzerine konularak bir damla su ile karıştırıldı, gram boya ile boyanarak bakterilerin bu boya ile boyayabilme kabiliyetleri incelendi ve hücrelerin düzeni ve şekilleri not edildi (Johnson *et al.* 2010).

3.3.2 Biyokimyasal testler

3.3.2.1 Mannitol testi

Mannitol besiyeri, bakteri kolonileri ile inoküle edildi ve daha sonra besiyeri 24 saat 37°C inkübe edildi. Besiyeri renginin pembeden sarıya dönmesi testin pozitif olduğunun göstergesi olarak kabul ediliştir (Brown and Smith 2014).

3.3.2.2 Katalaz testi

Besin agar besiyeri bakteri kolonileri ile aşılanmış, daha sonra kaplar 37°C'de 24 saat inkübe edilmiş, daha sonra koloninin bir kısmı bir cam slayta aktarılmış ve hidrojen peroksit çözeltisi damlalarına aktarılmıştır ve kabarcıkların görünümü testin pozitif olduğunun kanıtı olarak ele alınmıştır (Prescott and Harley 2002).

3.3.2.3 Oksidaz testi

Besin agar ortamı bakteri kolonileri ile aşılanmıştır. Petri kapları 24 saat 37°C'de inkübe edildi. Büyüyen koloninin bir kısmı, %1 oksidaz reaktifi içeren bir filtre kağıdına aktarıldı ve mor renk, testin pozitif olduğunun kanıtı olarak kaydedildi (Prescott and Harley 2002).

3.3.2.4 Koagülaz testi

a) Slayt Koagülaz Testi

Bu test, lamın her iki tarafına ikişer damla kan plazmasının yerleştirildiği ve bunlardan birine gelişmekte olan koloninin bir kısmının eklendiği Bağlı Koagülaz enzimini

saptamayı amaçlar. Daha sonra karşılaştırma (kontrol) için salin solüsyonu eklenir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, plazma içeren kolonilerin pıhtılaşması pozitif bir sonuç olarak ele alınır (Alexander *et al.* 2004).

b)Tüp Koagülaz Testi

Bu test, serbest plazma koagülaz enziminin varlığını ortaya çıkarmak için kullanıldı ve bu enzimin varlığı, *S. aureus* bakterileri için tanısal bir özellik olarak kabul edildi. Brian'ın kalp infüzyon suyu, 5 mL kalp ve beyin suyu içeren tüplere aşılandı ve 37°C'de 24 saat inkübe edildi. 0,1 mL bakteri kültürü 0,5 mL kan plazması içeren yeni tüplere aktarıldı ve ardından 4 saat 37°C sıcaklıkta inkübe edildi. Deneme her yarım saatte bir izlendi. Pıhtı oluşumu, testin pozitif olduğunun kanıtıdır (Brooks *et al.* 2007).

3.4 Vitek2 Kompakt Sistemi Kullanarak Bakteri Teşhisi

Bakteri izolatlarının teşhisini doğrulamak için Vitek2 cihazı kullanıldı. Vitec cihazı, herhangi bir katkı maddesi veya reaktif eklemeye gerek kalmadan otomatik ve kullanımı kolay bir teçhizattır. Cihaz, her bakteri türü için bir veri tabanı olan GP+Gard kartını içerir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Vitek2 kompakt sistemi

Test, Salah Al-Din Valiliği, Tikrit ve Irak'taki Al-Raya laboratuvarında yapıldı. Test şu aşamalardan oluşmaktadır;

1. Polistiren tüp adı verilen şeffaf bir plastik test tüpüne 3 mL fizyolojik tuzlu su çözeltisi yerleştirildi, ardından (2-3) genç tek koloniler steril bir plastik öze ile alındı ve tüp içindeki fizyolojik tuzlu su çözeltisi ile homojenize olması için iyice karıştırıldı. Daha sonra tüp içerisindeki yoğunluk (0,50-0,63) ulaşıncaya kadar Densichek bulanıklık cihazı ile ölçüldü.

2. Bu bakteri süspansiyonunun bir miktarı, her tip için özel kartla aktarıldı, daha sonra cihaza yerleştirmek amacıyla özel bir tutucuya konuldu ve sabitlendi.

3. Cihaz, belirlenen süreye göre tüm bakterileri teşhis eder ve sonuçları otomatik olarak rapor şeklinde yazdırır. Teşhis edilecek bakteri tipi ve biyokimyasal testler belirlenir. Bakterilere karşılık gelen verilerin yokluğunda ise, raporda bakterilerin belirlenemediği yazdırılır.

3.5 Bakteriyel İzolatların Korunması

3.5.1 Kısa süreli koruma

Bakteri izolatları şematik yöntemle test tüplerinde çapraz olarak hazırlanan agar besiyeri üzerinde kültüre edilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra 4°C'de (buzdolabında) 1-4 hafta süreyle tutulmuştur (Angshumanjana *et al.* 2016, Forbes *et al.* 2007).

3.5.2 Uzun süreli koruma

Beyin Kalp infüzyon suyu, bakteri izolatlarını uzun süre korumak için kullanıldı ve 24 saat boyunca 37°C'de inkübe edildi (Angshumanjana *et al.* 2016, MacFaddin 2003).

3.6 Antibiyotik Duyarlılık Testi

Çizelge 3.6'da (CLSI 2019) belirtildiği gibi küresel olarak kullanılan konsantrasyonlarda Oxoid /İngiltere tarafından üretilen çeşitli antibiyotikler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Test, modifiye edilmiş Kerby-Bauer yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Chess 2019):

- 18-24 saatte gelişen ve 3-5 adet saf bakteri kolonilerinden bakteri süspansiyonu elde etmek için, 50 mL fizyolojik salin solüsyonu içeren bir test tüpüne aktarıldı.
- Çözeltinin bulanıklığı, yaklaşık (1,5 x 108) hücre/mL olan MacFarland çözeltisi (0,5) ile ayarlandı.
- Steril bir pamuklu çubuk kullanılarak, bakteri süspansiyonu Muller-Hinton agar ortamı üzerine çeşitli yönlerde yayıldı.
- Petriler, emprenye işleminin gerçekleşmesi için oda sıcaklığında 20 dakika bırakıldı.
- Antibiyotik tabletler, kültür ortamı üzerine petri kabı başına yaklaşık 5-7 tablet olacak şekilde steril forseps kullanılarak yerleştirildi, ardından petri kapları 24 saat boyunca 37°C'de inkübe edildi.
- Diskin etrafındaki inhibisyon bölgesinin çapı, bir ölçüm cetveli kullanılarak milimetre cinsinden ölçüldü. Bakteri hücresinin kullanılan antibiyotiklere karşı direnç veya duyarlılığının derecesini belirlemek için Çizelge 3.6'da belirtilen standart oranlarla karşılaştırıldı.

3.7 Bakteri İzolatlarının Genetik İçeriğinin İncelenmesi

3.7.1 Genomik DNA ekstraksiyonu

- 5 mL beyin kalp suyu besiyeri bakteri izolatları ile inoküle edildikten sonra tüpler 24 saat 37°C'de inkübe edildi, ardından 2 mL'si Eppendorf tüplerine aktarıldı. 5 dakika boyunca 14,000 döngüde bir mikrosantrifüje yerleştirildi, akış çıkarıldı ve çökelti tutuldu.

- Bakteri hücrelerini (ortam, plankton vb.) yıkamak için 500 µL TE tamponu içinde yeniden süspanse edildi.
- 50 µL Lysozyme solüsyonu eklendi, ardından hafifçe karıştırıldı ve tüpler bakteri hücre duvarını elimine etmek için 37°C'de bir saat inkübe edildi.
- İnkübasyondan sonra 500 µL STE çözeltisi, 20 µL SDS çözeltisi ve 10 µL Proteinas K çözeltisi ilave edildi. Karışım karıştırıldı ve tüpler 55 ° C'de bir saat inkübe edildi. Burada Proteinaz K, proteinlerin peptit bağlarını kırarak proteinleri etkisiz hale getirmek için kullanıldı (Maniatis *et al.* 2001). SDS ise, hücre zarını deforme eden ve bir DNA molekülü ile ilişkili proteinleri ayırmak için çalışan güçlü bir proteolitik ajan ve negatif yüklü iyonik bir deterjan olarak kullanıldı.
- Daha sonra 750 µL alkol izomer kloroform çözeltisi ilave edilip tüpler ters çevrilerek karıştırıldı ve kloroform çözeltisi DNA'dan etkilenmeyen organik bir solvent olarak çalıştığı için 5 dakika 14,000 rpm santrifüjlendi.
- Üst tabaka yeni bir Eppendorf tüpü ile alındı ve 750 µL kloroform çözeltisi eklendi. Alkol izomeri daha sonra 5 dakika boyunca 14,000 rpm santrifüj yapılarak ayrıldı.
- Tekrar üst tabaka yeni bir tüp ile alındı ve çift hacim soğutulmuş etanol ve 100 ul amonyum asetat çözeltisi ilave edildi. Daha sonra tüplerde (DNA yavaş çöktüğü için) çökelme olması için dondurucuya (10 dakika 5°C'ye) yerleştirildi.
- Karışım 14,000 rpm ile 10 dakika santrifüjlenerek çökeltildi ve çökelti alındı.
- 500 mL %70 etanol solüsyonu döküldü. Tüpler 14,000 rpm mikro santrifüjde 5 dakika çöktürüldükten sonra süspansiyon atıldı, tortu tutuldu ve tüpler çalıştığı yerde kurutuldu (Sambrook *et al.* 1989)
- Etanol kuruduktan sonra 100 µL distile su eklendi. Tüpler, DNA'nın çökeltilmesi için bir süre bırakıldı, daha sonra kullanılıncaya kadar -20°C'de tutuldu.

3.7.2 Bakteri DNA konsantrasyonunun belirlenmesi

Bakteri DNA'sının konsantrasyonunun ve saflığının ölçülmesi işlemi, bir Nanodrop cihazı kullanılarak gerçekleştirildi, burada numuneden (1 mikrolitre) alındı ve cihazda belirtilen yere yerleştirildi.

Optimal DNA konsantrasyonu PCR, Denklem (3.1) ve Denklem (3.2)'ye göre belirlendi.

DNA con (µg/ mL)=OD 260nm×50×seyreltme faktörü (3.1)

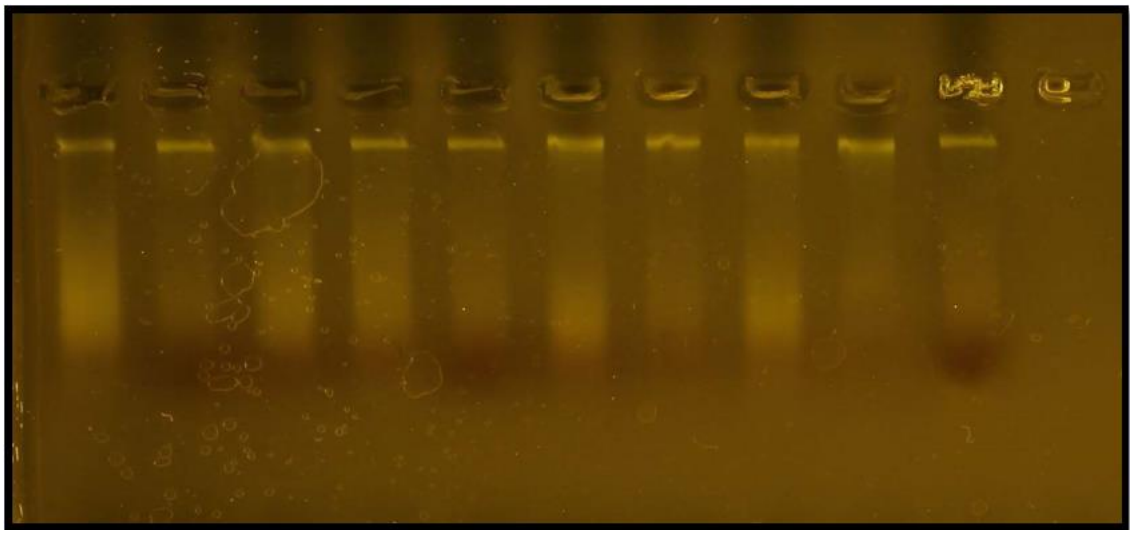
DNA Pur=OD 260/OD280 (3.2)

Numuneler daha sonra kullanılana kadar -20°C'de tutuldu. Ekstrakte edilen DNA, yükleme solüsyonu ile karıştırıldı ve toplam DNA'yı incelemek için agaroz jele aktarıldı (Al-Noaami 2014).

3.7.3 Agaroz jelin hazırlanması ve elektroforez işlemi

Agaroz jeli, (Maniatis *et al.* 2001)'e göre hazırlanmıştır.

- Agaroz jeli, PCR reaksiyonu için %2'lik bir konsantrasyonda hazırlandı. %2'lik konsantrasyonu elde etmek için 1,2 g agaroz tozu (PCR reaksiyonu için 3 g) tartıldı ve 150 mL Sodyum Borat içinde çözüldü. Sodyum borat tamponu Mikrodalga cihazı ile kaynatıldı ve 45°C'ye kadar hafif soğumaya bırakıldı ve üzerine 5 mikrolitre boya eklendi.
- Jel kalıbı kuyusunun dengesi dikkate alınırarak jel döküm kalıbı hazırlandı. Daha sonra numuneleri yüklemek için kullanılan delikleri oluşturacak şekilde bistüri yerleştirildi.
- Baloncuk oluşmasını önlemek için jel yavaşça ve sürekli olarak kalıba döküldü, ardından katılaşmaya bırakıldı. Daha sonra agaroz jel kalıbı, jel kaplanana kadar SB solüsyonu ile doldurulmuş bir elektroforez kabına yerleştirildi.
- 5 µL DNA örneğini 3 µL yükleme solüsyonu ile karıştırıldı ve sonra çukurlara taşındı. (PCR ürünlerinin numunelerini aktarırken, numunenin 3 µL'sini yükleme solüsyonuyla karıştırmadan doğrudan yüklenir.)
- Güç kaynağını açıldı, jel görüntüleme cihazı ile boyalı jel incelendi ve jel görüntüleme sisteminin bir resmi çekildi (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Bakterilerden ekstrakte edilen DNA'nın elektroforez görüntüsü

3.7.4 16S rRNA genine dayalı bakteriyel izolatların moleküler teşhisi

Bakteriyel izolatların moleküler tespiti, 16S rRNA geninin varlığı tespit edilerek yapıldı. Bu gen, ekstrakte edilen bakterilerin genomuna 4 mikrolitre (100 nanogram DNA şablonu ve 1 mikrolitre) eklenerek yükseltildi. Primer dizisinde Çizelge 3.5'te belirtildiği gibi her bir gen başlatıcıdan ana karışımın içeriğine kadar, ardından reaksiyon tüpleri, etkileşim için özel program kullanılarak ve Çizelge 3.6'da gösterildiği gibi çoğaltma reaksiyonunu yürütmek için ısı döngüleyiciye yerleştirildi.

Çizelge 3.6 16S RNA gen amplifikasyonu için PCR reaksiyon programı

Sıra	Aşama	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü sayısı
1	İlk denatürasyon	95	6 dakika	1
2	Denatürasyon	95	45 saniye	35
3	Tavlama	56	1 dakika	
4	Eklenti	72	1 dakika	
5	Son uzatma	72	5 dakika	1

3.7.5 Polimerizasyon reaksiyonu bileşenleri

Polimeraz zincir reaksiyonunun bileşenleri, Promega şirketi tarafından sağlanan kitin talimatlarına göre hazırlanmıştır (Çizelge 3.7).

Çizelge 3.7 Polimeraz zincir reaksiyonunun bileşenleri

Bileşenler	Boyut	Toplam hacim
Başlangıç	10	20
İleri	1	
Geri	1	
DNA şablonu	4	
Saflaştırılmış	4	

Mikropipet kullanılarak bileşenler iyice karıştırılsa da asılı kalan bileşenleri çökeltmek için, tüp mikrosantrifüj cihazı ile 10 saniye boyunca çalkalandı. Daha sonra tüpler, her bir gen için özel bir programa göre termocycler'a yerleştirildi.

3.7.6 Polimerizasyon programları

SPA geni için belirlenen polimerizasyon programı Çizelge 3.8'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.8 SPA geni polimerizasyon programı

Sıra	Aşama	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü sayısı
1	İlk denatürasyon	95	5 dakika	37
2	Denatürasyon	95	55 saniye	
3	Tavlama	47	55 saniye	
4	Eklenti	72	50 saniye	
5	Son uzatma	72	5 dakika	
6	Tutma	4		

COA geni için belirlenen polimerizasyon programı Çizelge 3.9'da gösterilmiştir (Tiwari *et al.* 2008).

Çizelge 3.9 COA geni polimerizasyon programı

Sıra	Aşama	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü sayısı
1	İlk denatürasyon	95	4 dakika	1
2	Denatürasyon	92	30 saniye	35
3	Tavlama	54	1 dakika	
4	Eklenti	72	2 dakika	
5	Son uzatma	72	5 dakika	1

HLY geni için belirlenen polimerizasyon programı Çizelge 3.10'da gösterilmiştir (Ariyanti *et al.* 2011).

Çizelge 3.10 HLY geni polimerizasyon programı

Sıra	**Aşama**	**Sıcaklık (°C)**	**Zaman**	**Döngü sayısı**
1	İlk denatürasyon	94	5 dakika	1
2	Denatürasyon	94	30 saniye	30
3	Tavlama	52	1 dakika	
4	Eklenti	72	30 saniye	
5	Son uzatma	72	5 dakika	1

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Örnek Toplama

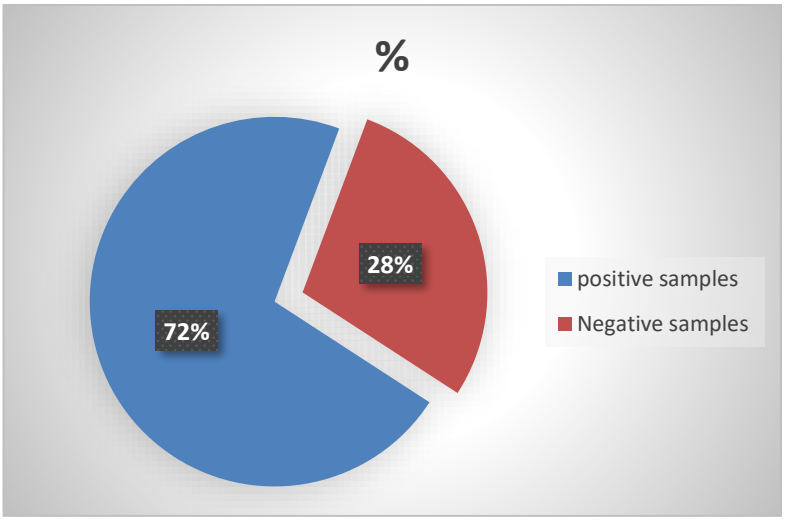
Çalışma için gerekli olan örnekler 2022 yılının Mart-Temmuz ayları arasında Salahuddin Hastanesin'den alınmıştır. Toplamda farklı yaş ve cinsiyet grubunda olan 130 kişiden örnekleme yapılmıştır. Örnekler; orta kulak iltihabı, burun ve boğaz, idrar yolu iltihabı, yanıklar, yaralardan alınmıştır. Bakterilerin canlılığını, hayatta kalmasını sağlamak ve numuneleri toplamak için taşınabilir tamponlar kullanılmıştır. Alınan örneklerde mikroskobik ve fenotipik incelemeler yapılmıştır.

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, bakteri kültüründe 93 örneğin (%71,53) pozitif olduğu buna karşılık, 37 örneğin (%28,47) negatif olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1) (Şekil 4.1).

Farklı enfeksiyonlardan alınan bazı örnekler bakteriyel izolatlar içinde negatif olarak değerlendirilmiştir. Mikrobiyal izolasyon için kullanılan kültür besiyerlerinde enfeksiyon örneklerinin büyümemesi kültür ortamlarımızın enfeksiyonun büyümesi için gereken koşullara sahip olmamasından kaynaklanmaktadır. Aynı zamanda bazı hastalar tarafından çeşitli antibiyotik türlerinin kullanılması da izolatların ortaya çıkmamasının bir nedeni olarak düşünülmektedir.

Çizelge 4.1 İzole edilmiş örneklerin sayısı ve yüzdesi

Örnekler	**Sayı**	**%**
Pozitif örnekler	93	71,53
Negatif örnekler	37	28,47
Toplam numune	130	100



Şekil 4.1 İzole edilmiş pozitif ve negatif örneklerin yüzdesi

Çizelge 4.1 incelendiğinde pozitif izolat sayısı 93 (%71,53) olarak tespit edilmiştir. Yapılan teşhislerde bu oranın *S. aureus* türü için olduğu belirlenmiştir. Elde ettiğimiz bu sonuç, (Melo *et al.* 2005) tarafından yapılan çalışmanın sonuçları ile uyumluluk göstermektedir. Özellikle bu bakteri türünün örneklerde yüksek oranda tespit edilmesinin nedeni hastane enfeksiyonlarının temel nedenlerinden biri olmasıdır (Hososaka *et al.* 2004).

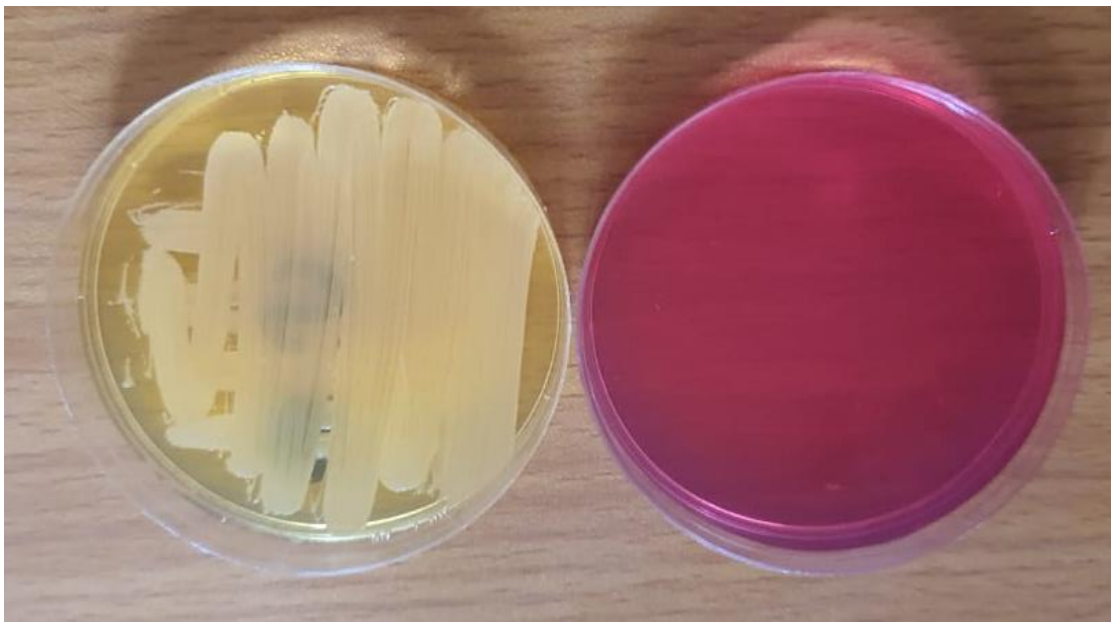
Ayrıca *S. aureus*, antibiyotiklere dirençli ve beta-laktamaz enzimleri üreten suşlar geliştirme potansiyeline sahiptir. Bunun nedeni, hızla çoğalma yeteneği ve toksin üretimi gibi birçok virülans faktörüne sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Deoksi ribonükleaz, Katalaz, Koagülaz, Lipaz, Enterotoksin, PVL, Portföy Kapsül Lökositin, Hemolisin, Hiyalüronidaz İçeren enzimler Yüzey proteinleri Konak dokuların invazyonu ve bakterilerin yayılmasında önemli rol oynayan Kapsül ve β-laktamaz enzimleri bu bakterilerin birçok farklı antibiyotiğe karşı direnç göstermelerine katkıda bulunmaktadır (Qiu *et al.* 2013).

Bu bakteriler deride ve zarlarda doğal olarak bulunan bakterilerin %30'unu oluşturur. Burun mukozası fırsatçı bakteriler haline gelebilir ve çıban ve impetigo gibi basit cilt hastalıklarından bakteriyemi ve endokardit gibi hayatı tehdit eden hastalıklara kadar birçok hastalığa neden olabilir (Watkins *et al.* 2012).

4.2 Bakteri İzolasyonu ve Sonuçları

4.2.1 Katı kültür ortamlarında *S. aureus* sporlarının koloni şekli

Staphylococcus cinsinin üyeleri, %7-10 yüksek konsantrasyonlarda sofra tuzu varlığında büyüme yetenekleri ile karakterize edilir. Bu nedenle, *Staphylococcus* suşları Mannitol tuzlu agar besiyerinde, mannitol şekerini fermente etme, asidik fonksiyonda değişikliğe neden olma ve besiyerinin rengini değiştirme yeteneklerine sahiptirler (Şekil 4.2) (Alam *et al.* 2014, Różalski *et al.* 2013). Aynı zamanda, koloniler kanlı agarda, tam bir hemoliz aralığı ile çevrili küçük küresel gri renkli koloniler şeklinde ortaya çıkarlar (Khorshid 2016).



Şekil 4.2 Mannitol tuzu agar üzerinde *Staphylococcus aureus* izolatları tarafından mannitol şekerinin fermantasyonu

4.2.2 Gram boyama kullanılarak mikroskopi

Staphylococcus aureus bakterisinin mikroskobik incelemesinin sonuçlarına göre, küçük küresel, gram boyalı, menekşe rengi üzüm salkımları şeklinde kümelenmiş olarak karakterize edilirler (Brooks *et al.* 2007).

4.2.3 Biyokimyasal testler

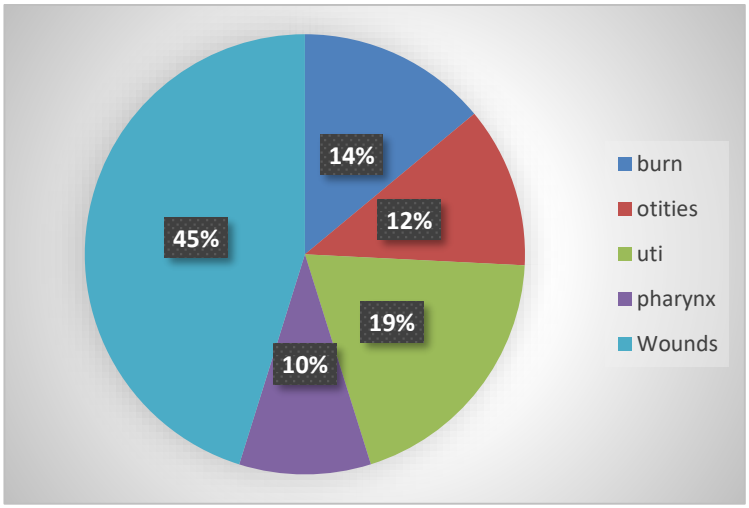
Staphylococcus aureus tanısını doğrulamak için Çizelge 4.2'de gösterilen testler yapılmıştır (Bertelloni *et al.* 2016).

Çizelge 4.2 *S.aureus* için uygulanan biyokimyasal testler

Sıra	Biyokimyasal testler	Sonuç
1	Mannitol Şekerin Fermantasyonu	+
2	Katalaz Testi	+
3	Oksidaz Testi	+
4	DNase Testi	+

4.3 Enfeksiyon Bölgelerine Göre Pozitif Örneklerin Sayısı ve Yüzdeleri

Farklı enfeksiyonlardan alınan pozitif örneklerin sayıları ve oranları Çizelge 4.3'te belirtilmiştir (Şekil 4.3). Yara enfeksiyonu, derin yumuşak dokuyu (Mangram *et al.* 1999), deriyi veya deri altını içermektedir. Buna göre, yara enfeksiyonlarında teşhis edilen bakteriler arasında *Staphylococcus aureus* izolatları en yüksek oranı (%45,16) oluşturmaktadır. Bu sonuç (Al-Douri 2018) tarafından yapılan çalışmanın sonuçları ile uyumluluk göstermiştir. Aynı zamanda en yüksek Stafilokokkus izolasyon oranı ameliyat sonrası yaralarda meydana gelmektedir (Kluytmans *et al.* 1997). Bunlara ek olarak *Staphylococcus aureus* bakterisinin bulaşma kaynağı; tıbbi personel (Letts and Doermer 1983), ameliyathane, alet, ameliyat malzemeleri, ameliyat masaları vb. ortamlar olarak sıralanabilir. Dünya Sağlık Örgütü bu bakterinin bulaşıcı yaraların (%20'sini) oluşturduğunu tespit etmiştir. Elde edilen bu sonuç (Ahmed 2008)'in çalışmasıyla uyumluluk göstermiştir (%14,62), ancak bizim çalışmamızda olduğu gibi (Al-Khalil 2001, Sader *et al.* 2001) tarafından yapılan çalışmaların sonuçlarında da %48,8 ve %45,8 ile yüksek oranlar tespit edilmiştir.



Şekil 4.3 Enfeksiyon kaynağına göre pozitif bakteri izolatlarının oranları

Çizelge 4.3 Enfeksiyon kaynağına göre bakteri izolatlarının oranları

Enfeksiyon	**Sayı**	**%**
Yara	42	45,16
Yanık	13	13,97
İdrar yolları enfeksiyonu	18	19,35
Burun ve boğaz	9	9,67
Orta kulak enfeksiyonu	11	11,82
Toplam	93	100

Yanık enfeksiyonuna gelince, *S. aureus* izolatı 13 örnekte (%13,97) pozitif olarak tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz bu sonuç, 144 izolattan 50'sinde %13,8 oranını bulan (Rasheed 2008)'in çalışmasıyla uyumluyken, 4 izolattan sadece 1'inde %0,79 oranını bulan (Al-Douri 2018)'in çalışmasından farklıdır.

Yara ve yanık enfeksiyonları, bakterilerin virülans faktörleri, etken bakteri sayısı, hastanın bağışıklık sisteminin durumu ve yaraların türü gibi birçok faktörden etkilenir. Ameliyat sonrası IgG ve lenfositlerde meydana gelen azalmalar yara enfeksiyonu riskinde artışa neden olur (Akyürek *et al.* 2000)

Orta kulak iltihabı örneklerinden, 11 örnekte (%11,82) *Staphylococcus aureus* pozitif izole edilmiştir. Bu bakteri kirlilik sonucu dış kulaktan iç kulağa girebilir. Bazen orta kulak iltihabı patojenleri normal flora ile karışır ve bu nedenle enfeksiyon normal flora

ve birincil patojenler arasında yaygındır. *S. aureus*'un anaerobik bakterilerden daha patojenik olan ve genellikle diğer aerobik bakterilerle sinerjistik olarak çalışan tek patojendir. Kulakta, *S. aureus* ile enfeksiyon oranı yüksektir. Bunun iki nedeni olabilir: ilki *S. aureus* bakterilerinin çeşitli antibiyotik türlerine karşı yüksek dirençli olması, diğeri ise *S. aureus*'un vücut direnci azaldığında patojen hale gelen fırsatçı patojenler (fırsatçı mikroplar) olarak kabul edilmesidir (Zhu *et al.* 2008).

Çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonuç, (Al-Douri 2018, Abdullah 2018) ve ayrıca *S. aureus*'un orta kulak iltihabı enfeksiyonunda ilk sırada olduğunu bulan (Krišto and Buljan 2011, Prakash *et al.* 2013) tarafından yapılan çalışmaların sonuçları ile uyumludur. Ancak, *Pseudomanas aeruginosa*'nın orta kulak iltihabının ana nedeni olduğunu doğrulayan (Kumar and Seth 2011, Giebink 1987) tarafındandan yapılan çalışmalarla farklılık göstermektedir. Dünyanın farklı ülkelerindeki farklı bilim adamları tarafından kronik süpüratif orta kulak iltihabı üzerinde yapılan bakteriyel izolatların baskınlığı ile ilgili çalışmalar arasındaki farklılıklar belirtmiştir. *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'un arasındaki coğrafi farklılık, kullanılan farklı yetiştirme yöntemleri, beslenmenin doğası, sosyal düzey bu mikropların patojenik olmadığını, ancak bakteriler kulak zarının derisinde ve orta kulak iltihabında bir arada bulunur ve bu bakteriler fırsatçı hale gelir. Enfeksiyon, diğer mikropların girmesi veya antibiyotik kullanımının bir sonucu olarak orta kulak iltihabının direnci azaldığında ortaya çıkar.

İdrar yolu enfeksiyonuna ait örneklerde 18 izolat (%19,35) *S. aureus* bakımından pozitif olarak bulunmuştur. Tespit etmiş olduğumuz bu sonuç çalışmalarında %16,9 oranını bulan (Falih 2006) ile uyumluluk gösterirken, (Abdullah and Al Moslih 2005, Hammer *et al.* 2005, Al-Douri 2018) çalışmaları ile farklılık göstermektedir.

Staphylococcus aureus, idrar yolu enfeksiyonlarında toplam gram pozitif bakterilerin %0,5 ile %6'sını oluşturur (Sheth and DiNubile 1997). Bunun nedeni, başta hastaneler olmak üzere birçok yerde bol miktarda bulunan kirleticilerden biri olması ve tedavilerin özellikle antibiyotiklerin sık kullanılması sonucunda sürekli olarak bu antibiyotiklere dirençli suşlar geliştirmesidir (Johnson *et al.* 2010).

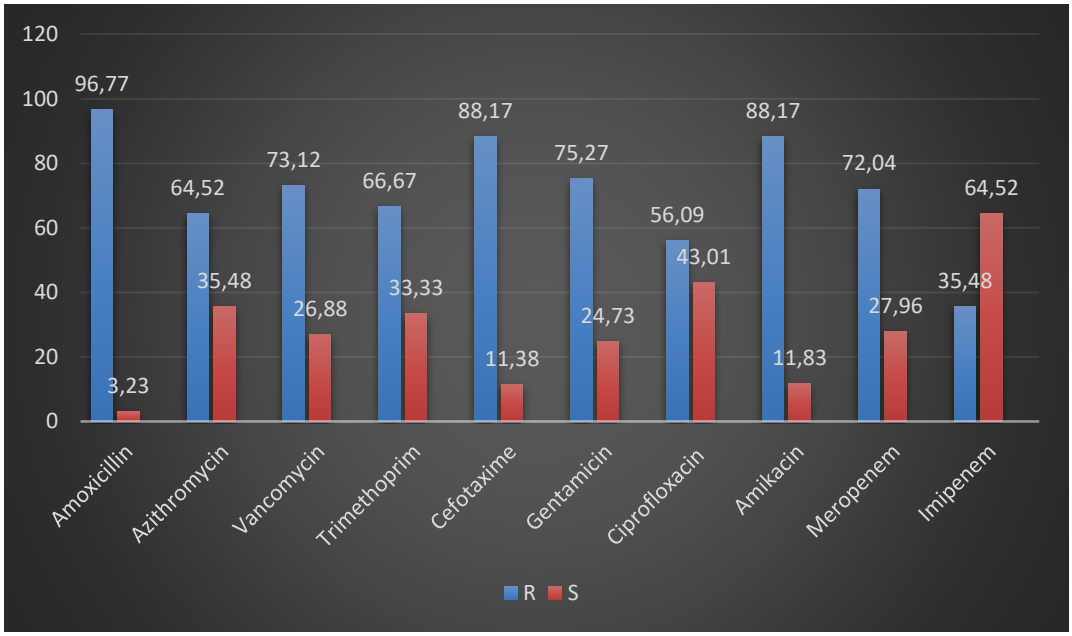
Boğaz ve burun enfeksiyonuna ait örneklerde *S. aureus* bakterisi 9 izolatta (%9,76) pozitif sonuç göstermiştir. Bu veriler (Al-Ani 2021) tarafından yapılan çalışmanın sonuçları ile uyumludur ancak, (Al-Douri 2018) ile farklılık göstermiştir.

4.4 Antibiyotik Duyarlılığı

93 adet *Staphylococcus aureus* izolatının antibiyotiklere karşı duyarlılığı ve direnci incelenmiştir. Çizelge 4.4'de *Staphylococcus aureus* izolatlarının 10 farklı antibiyotikle yapılan disk difüzyon duyarlılık testi sonuçlarını göstermektedir. Elde edilen izolatların direnç ve duyarlılık sonuçları arasında önemli bir farklılık bulunmuştur. İzole edilen bakteriler, Amoksisiline karşı %96,77'lik bir yüzde ile en yüksek direnç göstermiştir. Bunu %88,17 ile Cefotaksim ve Amikasin antibiyotikleri izlemiştir. Daha sonra sırasıyla, Gentamisin %75,27, Vankomisin %73,12, Meropenem %72,04, Trimetoprim, %66,67, Azitromisin %64,52, Siprofloksasin %56,99 ve İmipenem %35,48 gelmektedir (Şekil 4.4).

Çizelge 4.4 *Staphylococcus aureus*'un antibiyotiklere karşı direnç ve duyarlılık oranları

Antibiyotik adı	**Tepki**	***S. aureus* sayısı**	**%**
Amoksisilin	R	90	%96,77
	S	3	%3,23
Azitromisin	R	60	%64,52
	S	33	%35,48
Vankomisin	R	68	%73,12
	S	25	%26,88
Trimetoprim	R	62	%66,67
	S	31	%33,33
Sefotaksim	R	82	%88,17
	S	11	%11,38
Gentamisin	R	70	%75,27
	S	23	%24,73
Siprofloksasin	R	53	%56,99
	S	40	%43,01
Amikasin	R	82	%88,17
	S	11	%11,83
Meropenem	R	67	%72,04
	S	26	%27,96
İmipenem	R	33	%35,48
	S	60	%64,52



Şekil 4.4 *Staphylococcus aureus*'un antibiyotiklere karşı direnç ve duyarlılık oranları

Çalışmamızda Amoxicillin'e karşı %3,23 oranında duyarlılık tespit edilmiştir. Bu sonuç, %13,6 duyarlılık oranı tespit eden (Al-Ani 2021)'in çalışması ile uyumluyken %80,6 duyarlılık belirleyen (Affat 2018)'in çalışması ile farklılık göstermektedir. Ayrıca çalışmamızdaki izolatlar Azitromisine karşı %35,48 oranında duyarlılık göstermiştir. Bu sonuç (Al-Dawudi *et al.* 2018) ile uyumlu (Al-Ani 2021) ile farklılık göstermektedir. Tespit etmiş olduğumuz Sefotaksim'e karşı %11,38 duyarlılık oranı (Al-Lahibi 2020) ile benzer, (Al-Ani 2021) ile farklılık göstermiştir. Aynı zamanda Siprofloksasine karşı %43,01 duyarlılık oranı (Saud 2016, Affat 2018) tarafından yapılan çalışmaların sonuçlarından oldukça düşük olarak karşımıza çıkmaktadır. %11,83 oranında Amikasin'e duyarlılık bulunmuştur. Bu sonuç (Al-Ani 2021) ile uyumluyken %70,9 duyarlılık oranı tespit eden (Affat 2018)'den farklıdır. Bunlara ek olarak Meropenem'e karşı %27,96 duyarlılık belirlenmiştir. Bu oranda (Affat 2018) ile uyumlu, (Al-Ani 2021) ile farklılık içermektedir. Çalışmamızda en yüksek duyarlılık %64,52 oranı ile İmipenemde tespit edilmiştir.elde ettiğimiz bu sonuç (Al-Ani 2021) ile uyumlu, %0 duyarlılık tespit eden (Al-Lahibi 2020) ile farklılık göstermektedir

Vancomycin'e karşı elde etmiş olduğumuz %73,12 oranında direnç, çalışmasında %57,69 direnç oranı bulan (Al-Douri 2018) ile benzer, %0 direnç oranı tespit eden (Gerges 2006)

ile farklılık içermektedir. Aynı şekilde çalışmamızda Trimetoprim'e karşı %66,67 ile yüksek direnç belirlenmiştir. Bu sonuç (Al-Douri 2018) ile uyumlu iken %15 direnç oranı tespit eden (Gerges 2006) ile farklılık göstermektedir. Aynı zamanda %75,27 oranı ile Gentamisin'e karşı yüksek bir direnç belirlenmiştir. Bu sonuç, (Al-Douri 2018, Lina *et al.* 1999) ile benzerlik gösterirken, (Cuevas *et al.* 2004) ile farklıdır.

Genel olarak, mevcut sonuçlarımız bazı çalışmalarla uyumlu iken bazı çalışmalarla farklılık göstermiştir. Bu durum, coğrafi dağılım, izolatların kaynağı, kullanılan yöntem ve antibiyotik kullanımının yaygınlığı, aşırı ve gelişigüzel kullanım olmak üzere birçok nedenden kaynaklanmaktadır.

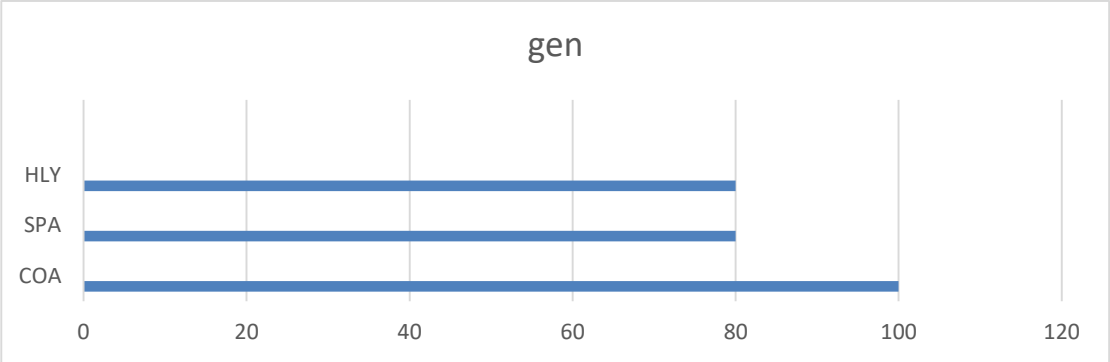
4.5 *Staphylococcus Aureus* Bakterisine Ait Bazı Genleri Tespit Etmek için PCR Reaksiyonunun Ürünleri

Staphylococcus aureus izolatında (yara enfeksiyonlarından 2 izolat, yanık enfeksiyonlarından 2 izolat, orta kulak iltihabından iki izolat, boğaz enfeksiyon örneklerinden iki izolat ve idrardan iki izolat) üç gen incelenmiştir. *S. aureus* teşhis geni olarak 16S rRNA kullanılmıştır. *S. aureus* izolatları SPA, COA ve HLY virülans faktörlerini kodlayan genlerdir. Burada SPA geni protein A'yı kodlarken COA koagülaz enzimini kodlar. HLY geni ise, kırmızı kan hücrelerinin hücre zarını parçalayabilir (Abdullah 2018) (Çizelge 4.5).

Çalışmamızda, 16S rRNA ve COA genlerinin prevalansının %100 olduğunu tespit etmiştir. HLY ve spa genlerinin prevalans oranı ise %80'dir (Şekil 4.5).

Çizelge 4.5 Çalışmada kullanılan virülans genleri

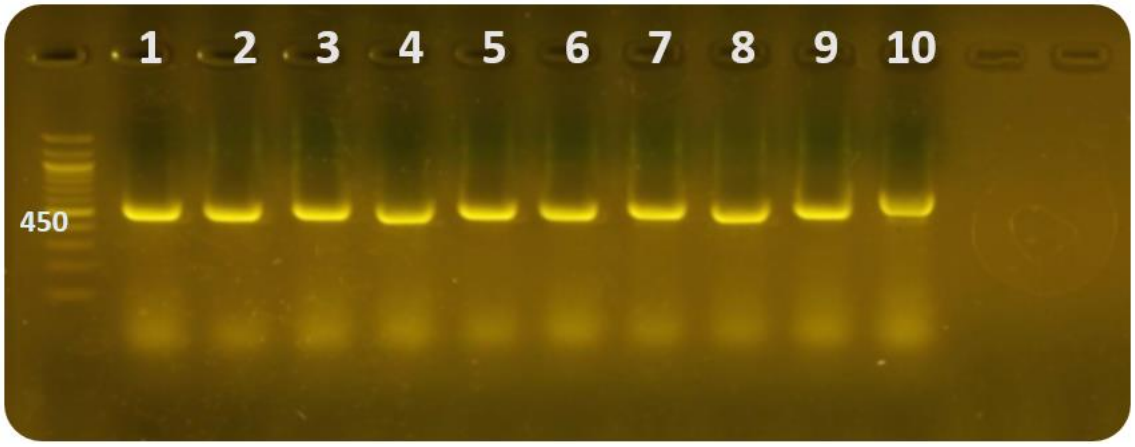
Genler	***Staphylococcus aureus***	**+**	**-**	**%**
COA	10	10	0	%100
SPA	10	8	2	%80
HLY	10	8	2	%80



Şekil 4.5 Çalışmada kullanılan virülans genler

- **Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak COA geninin tespiti**

Plazma pıhtılaşma enzimi, *Staphylococcus aureus*'un tanısal ve ayırıcı bir özelliğidir ve PCR ürünü, COA geni için agaroz jeli üzerinde Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Çizelge 4.6'da, 10 örnekten 10'unda da 450 bp'de izolatların %100'ünün bu enzimi üretmesi görülmektedir.



Şekil 4.6 *Staphylococcus aureus*'un COA geninin varlığını gösteren jel elektroforezi

Çizelge 4.6 COA geninin varlığını belirlemek için PCR ürünleri

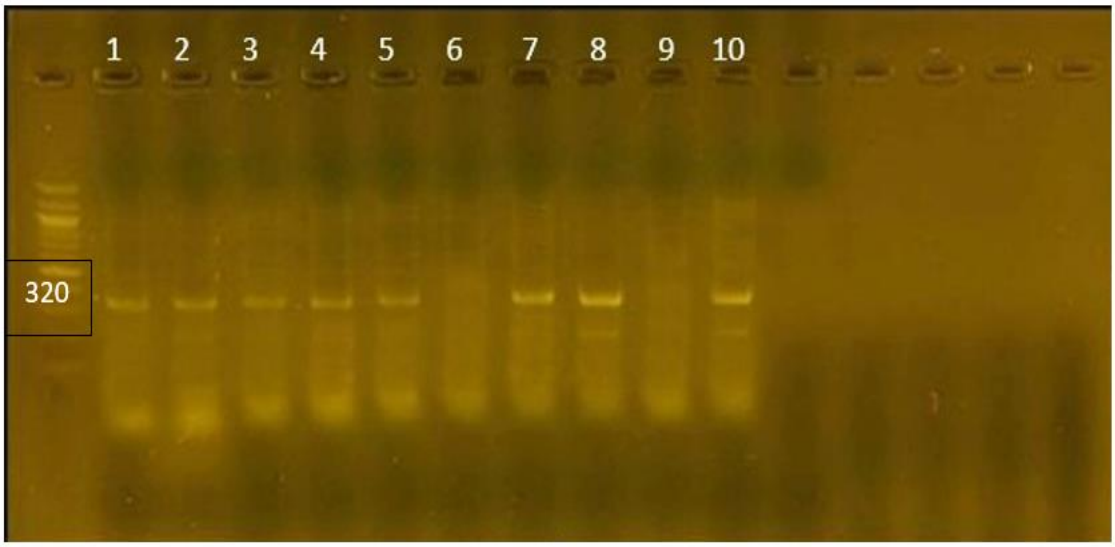
	Staphylococcus aureus									
Gen Adı	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
COA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Elde ettiğimiz sonuç, yara ve yanık izolatlarında %100 oranında COA geninin varlığını göstermektedir. Bu sonuç aynı zamanda (Abdul-Kareem and Husain 2015) tarafından yapılan çalışmanın sonuçları ile uyumludur.

Coa geni üç bölgeden oluşur: protrombin bağlanma bölgesini içeren N terminali, yüksek oranda korunmuş eksantrik bölge ve bp81'in 27 amino asidi kodlayan yinelenen birimlerinden (4, 5, 6, 7 veya 8) oluşan C-terminal bölgesi. Bu nedenle, *S. aureus* suşlarında genin boyutu değişkendir ve enzimatik işlevi korurken (bir virülans faktörü olarak) tekrar birimlerinde nokta mutasyonları meydana gelebilir (Schwarzkopf and Karch 1994). Bu enzimatik fonksiyon için tekrar birimlerinin öneminin olmaması nedeniyle protrombin bağlanması veya plazma pıhtılaşması için tekrar birimleri gerekli değildir (Stranden *et al.* 2003, Goh *et al.* 1992).

- **Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak SPA geninin tespiti**

SPA geni için polimeraz zincir reaksiyonunun ürünü agaroz jel üzerinde Şekil 4.7'de gösterilmiştir. Çizelge 4.7'de, 10 örnekten 8'inde 320 bp'de izolatların %80'ninin bu enzimi üretmesi görülmektedir.



Şekil 4.7 *Staphylococcus aureus*'un SPA geninin varlığını gösteren jel elektroforezi

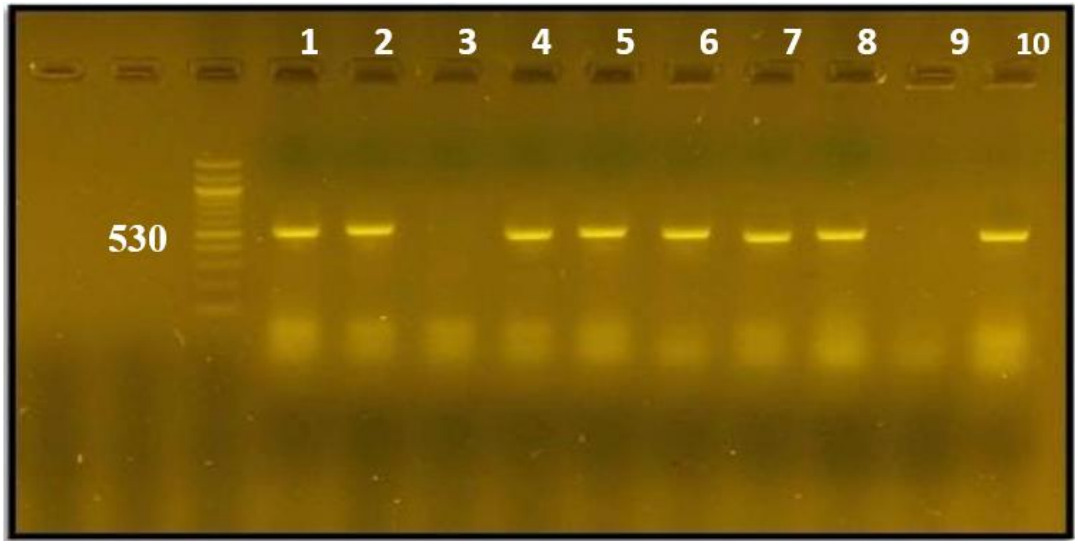
Çizelge 4.7 SPA geninin varlığını belirlemek için PCR ürünleri

	Staphylococcus aureus									
Gen Adı	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
SPA	**+**	**+**	**+**	**+**	**+**	**-**	**+**	**+**	**-**	**+**

SPA geni ile ilgili olarak elde ettiğimiz sonuç, (Al-Adeeb 2021, Li *et al.* 2019) tarafından yapılan çalışmadaki sonuçlarla uyumludur. Ancak, (Parth *et al.* 2016) tarafından Hindistan'da yapılan çalışmada, *Staphylococcus aureus* izolatlarındaki SPA geni üç farklı (bp200, bp270 ve bp296) moleküler ağırlığa sahip DNA demetleri göstermiştir. Bunlara ek olarak Mısır'da araştırmacı (Kamel 2020) tarafından yapılan çalışmada, *S. aureus* izolatlarındaki SPA geni 180 bp moleküler boyutunda tespit edilmiş olup tek bantta gözlenmesi nedeniyle çalışmamızla uyumluluk göstermemiştir. Protein A'yı kodlamaktan sorumlu SPA geni, işlevsel olarak farklı bölgelerden oluşan bir grup içerir; bunlardan en önemlisi, proteinin IgG ile bağlanmasından sorumlu bölge olan SPA-X adı verilen X bölgesidir. X bölgesi, temel nokta olarak 24bp yinelenen birimlerden oluşur. Bu yinelenen birimleri *Staphylococcus* türleri arasında değiştirebilir. X bölgesinde yediden fazla tekrarı olan *S. aureus* suşları salgın bir türü temsil ederken, yediden azı salgın olmayan olarak kabul edilir (Al-Ruwaili 2018, Frenay *et al.* 1994).

- **Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak HLY geninin tespiti**

HLY geni için polimeraz zincir reaksiyonunun ürünü agaroz jel üzerinde Şekil 4.8'de gösterilmiştir. Şekil 4.8'de, 10 örnekten 8'inde 530 bp'de izolatların %80'ninin bu enzimi üretmesi görülmektedir.



Şekil 4.8 *Staphylococcus aureus*'un HLY geninin varlığını gösteren jel elektroforezi

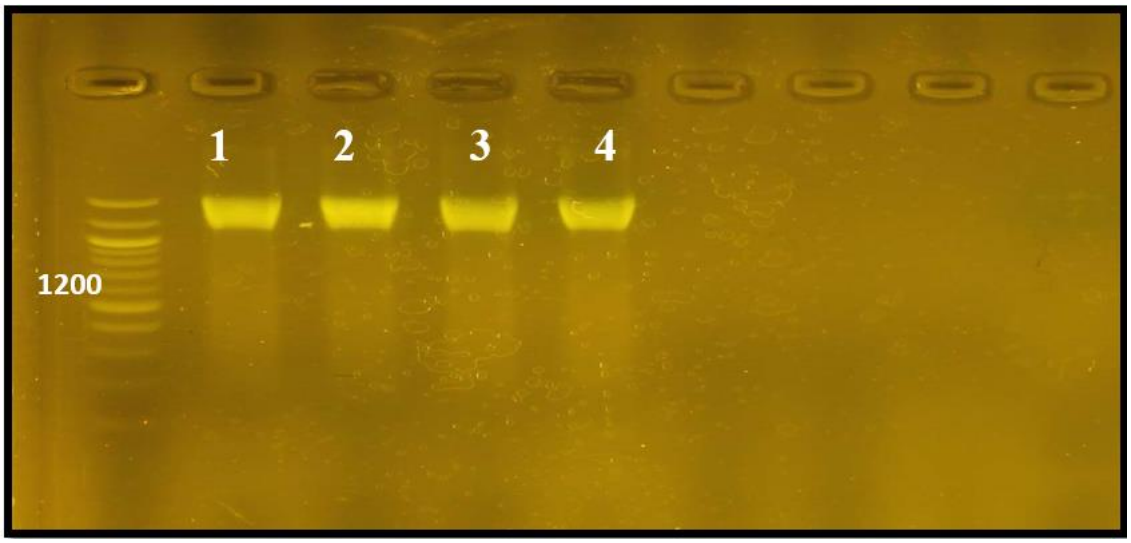
Çizelge 4.8 HLY geninin varlığını belirlemek için PCR ürünleri

	Staphylococcus aureus									
Gen Adı	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
HLY	+	+	_	+	+	+	+	+	_	+

Elde ettiğimiz sonuçlar (Al-Douri 2018, Ariyanti *et al.* 2011) tarafından gerçekleştirilen çalışmamlarla uyumluluk göstermektedir. Stafilokokların patojenitesi bu enzimin üretilmesinden kaynaklanmaktadır. Hemolizinin *S. aureus* bakterileri için en önemli virülans faktörlerinden biridir. Hemolizin ayrıca birkaç beyaz kan hücresi, kırmızı kan hücresi ve doku hücresi için toksik bir faktördür. Endotel, hemolizin bu hücrelerin yüzeylerindeki sensörlere bağlandığı ve daha sonra hücrelere implante edilerek ayrışmasına yol açtığı yer olarak tanımlanmaktadır (Bielaszewska *et al.* 2013). (Ohlsen *et al.* 1998), bu geni taşıyan stafilokok izolatlarının çoğunun antibiyotiğe dirençli olduğunu ve bu nedenle yüksek patojeniteye sahip olduğu sonucuna varmıştır. Ayrıca hemolizin üretiminin biyofilm üretimi ile ilişkili olduğunu belirtmiştir (Caiazza and O'Toole 2003).

4.6 Bakteriyel İzolatların 16S rRNA Genine Dayalı Moleküler Teşhisi

Seçilen bakteri izolatlarının moleküler teşhisi, içindeki 16S rRNA geninin varlığı taranarak yapılmıştır. Bunun nedeni, 16S rRNA geninin farklı bakteri türleri için zamanla değişmeyen sabit bir diziye sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Çalışmamızda 4 izolat içeren *Staphylococcus aureus* bakterisinin genetik materyali için ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Ardından seçilen numuneler için genetik materyal genomik DNA'sının varlığını belirlemek için agaroz jel üzerinde elektroforez işlemi gerçekleştirildi (Şekil 4.9).

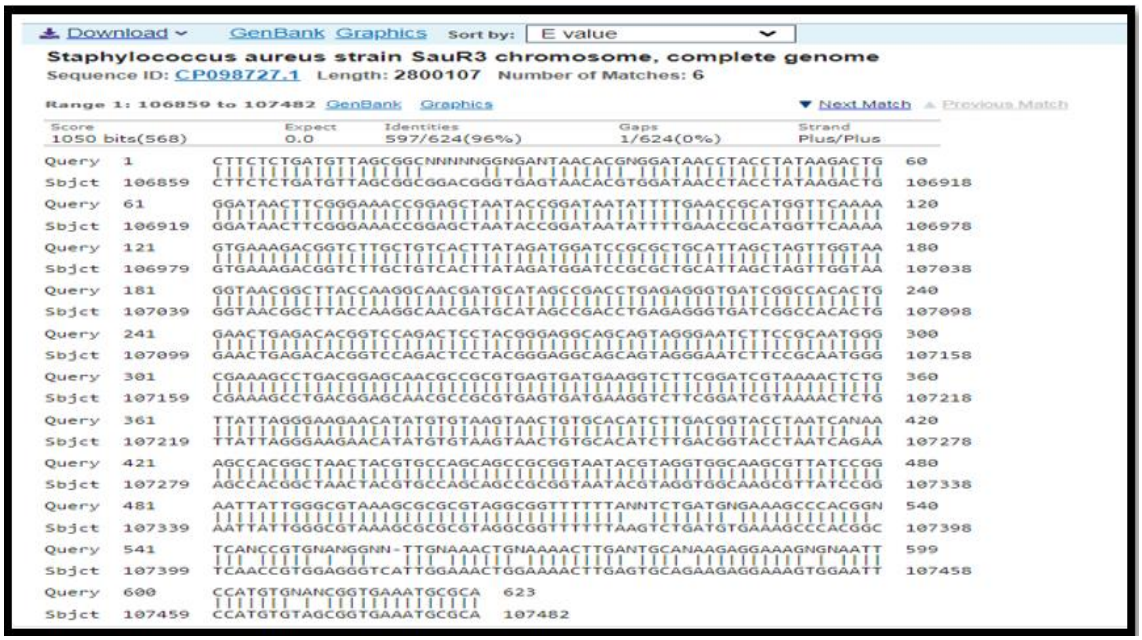


Şekil 4.9 *Staphylococcus aureus*'un agaroz jel üzerinde ekstrakte edilen genomik DNA'nın bant görünümü

Elde edilen sonuçlar, teşhis geni 16S rRNA'nın belirli dizisinin seçilen dört *S. aureus* örneğinde %100 mevcut olduğunu gösterdi. Seçilen tüm bakteri türleri için, 1200 bp ağırlığında ve aynı seviyede 16S rRNA geni tüm bakterilerde bulunur ve bu primer bağlanmayı gösterir. 16S rRNA geni ile 16S rRNA geninin DNA dizilimi, Sanger dizileme yöntemi ile yapılmıştır. Daha sonra genetik sekans izolatlarınkiyle karşılaştırıldı. Ardından veritabanına Temel Yerel Hizalama Arama Aracı (BLAST) standardı yerleştirildi. Sonuçlar seçilen tüm izolatlar için %80-%98 arasında değişen oranlarda tespit edildi.

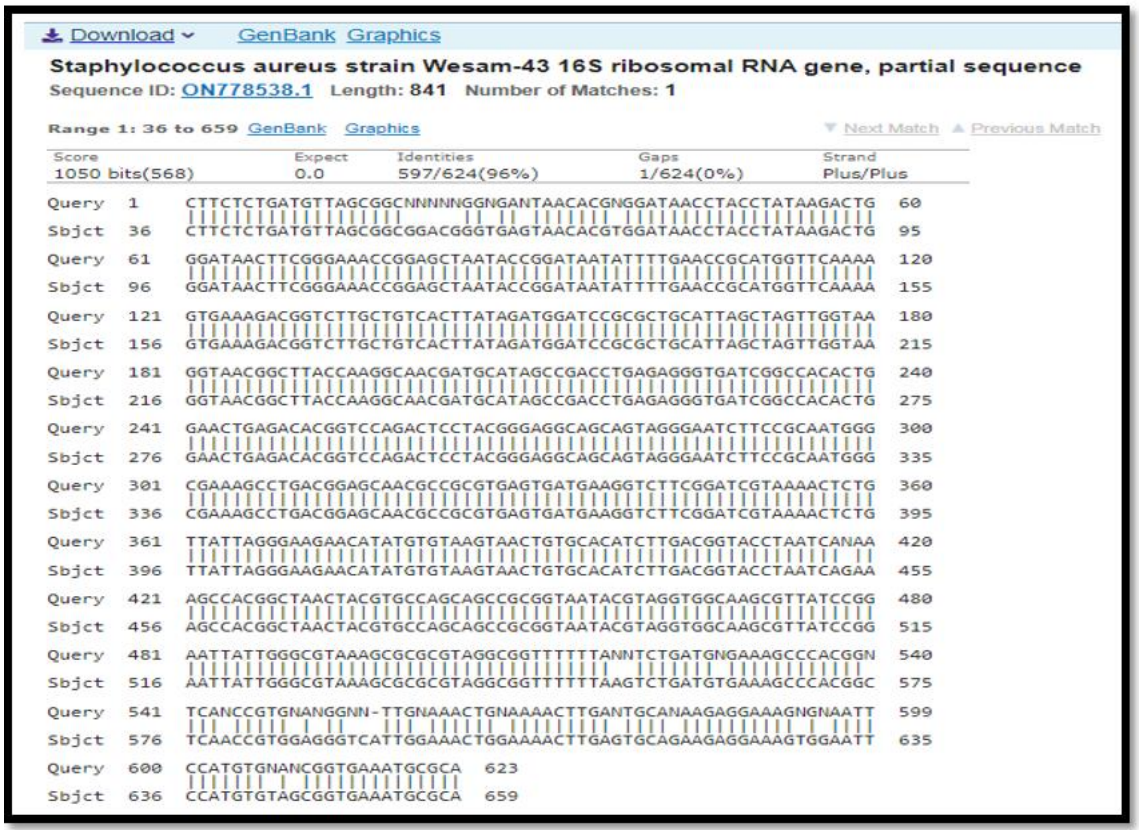
Moleküler teşhis, bakterileri, özellikle patolojik olanları teşhis etmek için en hızlı ve en doğru yöntemdir. 16S rRNA geni, bakteri cinslerinin ve türlerinin belirlenmesinde esastır. İzolatlar, 16S rRNA geninin genetik dizisindeki değişiklik zamanla çok az olduğu bilinmeyen türleri teşhis etmede önemlidir (Srinivasan *et al.* 2015) (Şekil 4.10) (Şekil 4.11) (Şekil 4.12) (Şekil 4.13).

GCAACGATATCTAAAATTATGCCACAGGCTTCAGACAEGTGATAAGTTGGA
TGGTTTAAATACACATATGGGTATTTTTGATGAAATTCATGAATTTAAAGAT
TATAAATTGATTTCAGTTATAAAAAACTCAAGAGCGGCAAGATTACAACCC
CTTCTTATATACATTACGACAGCAGGGTACCAACTAGATGGACCACTTGTTG
ATATGGTAGAAGCGGGAAGAGACAAGTTAGATCAAATCATCGAAGATGAA
AGAACTTTTTACTATTTAGCATCTTTAGATGATGACGATGATATAAATGATT
CGTCGAATTGGATTAAAGCAAATCCTAACCTAGGCGTTTCTATCGATTTAGA
TGAAATGAAAGAAGAGTGGGAAAAAGCCAAACGCACACCAGCTGAACGAG
GCGATTTTATAACAAAAAGGTTTAATATATTCGCTAATAACGACGAAATGA
GTTTTATTGATTATCCAACACTTCAAAAAAATAATGAAATTATTTCTTTAGA
TGAGTTGGAAGGTAGACCATGTACTATAGGTTATGATTTATCAGAAACAGA
GGACTTTACAGCCGCATGTGCCACTTTTGCATTAGATAATGGCAAAGTTGCT
GTCTTAACACATTCTTGGATTCCTAAGCATAAAGTAGAGTATTCTAACGAAA
AAATACCATATAGAGAATGGGAAGAAGACGGAT (Şekil 4.10)



Şekil 4.10*Staphylococcus aureus*'un 16S ribozomal RNA'sının PCR ürünlerinin dizisi (SauR3)

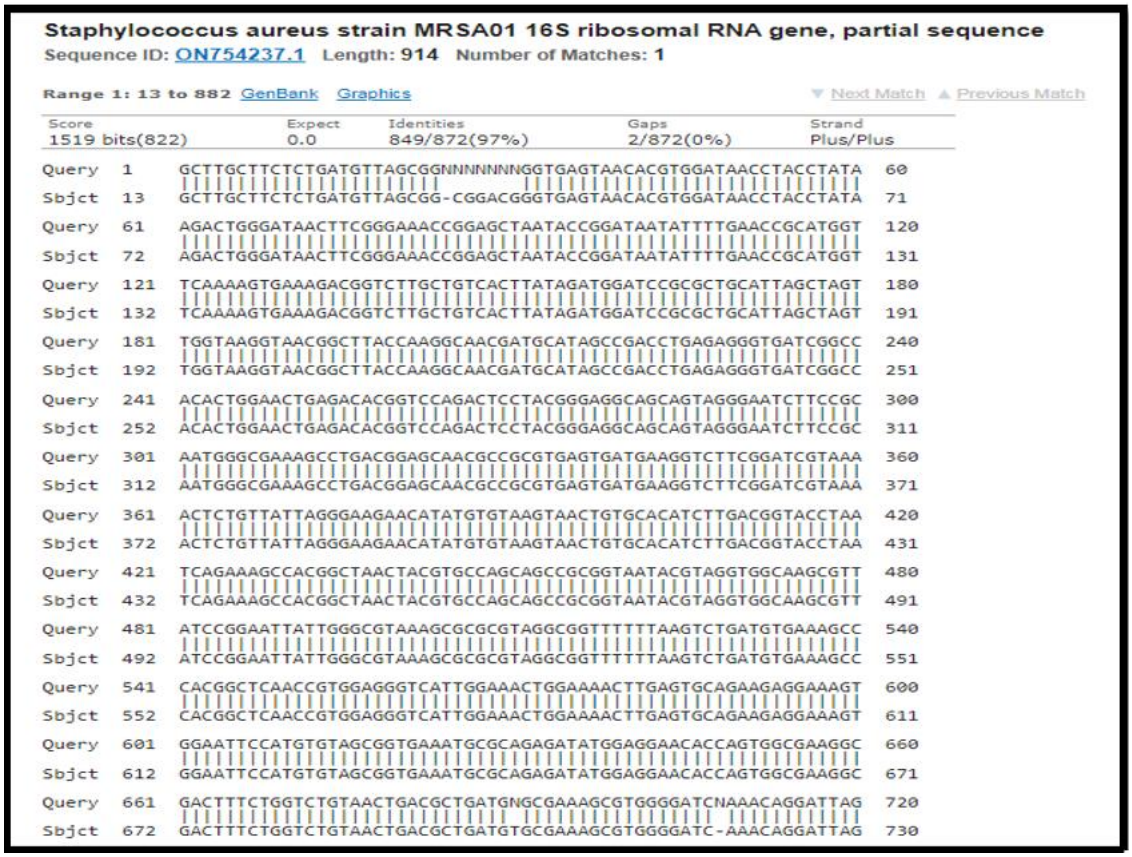
CTTCTCTGATGTTAGCGGCNNNNNGGNGANTAACACGNGGATAACCTACCT
ATAAGACTGGGATAACTTCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAATATTTT
GAACCGCATGGTTCAAAAGTGAAAGACGGTCTTGCTGTCACTTATAGATGG
ATCCGCGCTGCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGGCAACGA
TGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGAACTGAGACACGGT
CCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGCGAAAG
CCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTCTTCGGATCGTAAAACT
CTGTTATTAGGGAAGAACATATGTGTAAGTAACTGTGCACATCTTGACGGTA
CCTAATCANAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGT
AGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGT
TTTTTANNTCTGATGNGAAAGCCCACGGNTCANCCGTGNANGGNNTTGNAA
ACTGNAAAACTTGANTGCANAAGAGGAAAGNGNAATTCCATGTGNANCGG
TGAAATGCGCA (Şekil 4.11)



Şekil 4.11*Staphylococcus aureus*'un 16S ribozomal RNA'sının PCR ürünlerinin dizisi (Wesam-43)

GCTTGCTTCTCTGATGTTAGCGGNNNNNNNGGTGAGTAACACGTGGATAAC
CTACCTATAAGACTGGGATAACTTCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAA
TATTTTGAACCGCATGGTTCAAAAGTGAAAGACGGTCTTGCTGTCACTTATA
GATGGATCCGCGCTGCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGGC
AACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGAACTGAGAC
ACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGC
GAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTCTTCGGATCGTA
AAACTCTGTTATTAGGGAAGAACATATGTGTAAGTAACTGTGCACATCTTGA
CGGTACCTAATCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAG
GCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAT
TGGAAACTGGAAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGTGTA
GCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTT
TCTGGTCTGTAACTGACGCTGATGNGCGAAAGCGTGGGGATCNAAACAGGA

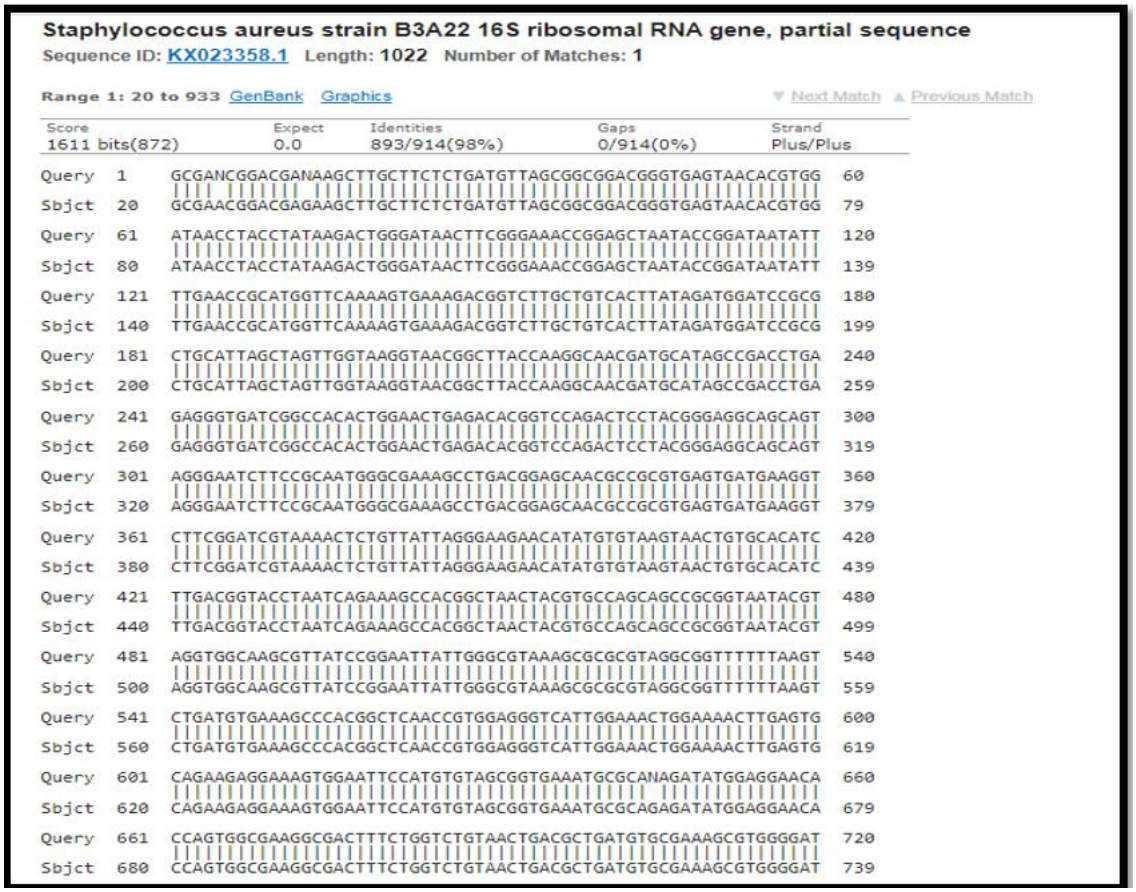
TTAGATACCCTGGTANTCCACGNCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGG
GGTTTCCGCCCCTTANNGCTGCACNTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGA
GTACNANCGCAAGGTTGAAANTCAAAGGANNTGACGGGGACCCNCNCAAN
CGG (Şekil 4.12)



Şekil 4.12*Staphylococcus aureus*'un 16S ribozomal RNA'sının PCR ürünlerinin dizisi (MRSA01)

GCGANCGGACGANAAGCTTGCTTCTCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGT
AACACGTGGATAACCTACCTATAAGACTGGGATAACTTCGGGAAACCGGAG
CTAATACCGGATAATATTTTGAACCGCATGGTTCAAAAGTGAAAGACGGTC
TTGCTGTCACTTATAGATGGATCCGCGCTGCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAA
CGGCTTACCAAGGCAACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCAC
ACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAAT
CTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAG
GTCTTCGGATCGTAAAACTCTGTTATTAGGGAAGAACATATGTGTAAGTAAC
TGTGCACATCTTGACGGTACCTAATCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCC

AGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCG
TAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCA
ACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGAAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAG
TGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCANAGATATGGAGGAACACCAG
TGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAACTGACGCTGATGTGCGAAAGCGTG
GGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAANCGATGAGT
GCTAAGTGTTANGGGGTTTCCGCCCCTNANNGCTGCAGCTAACGCATTAAG
CACTCCGCCTGGGGAGNNCGACCGCAAGGTTGAAACTCNNAGGAATNNAN
GGGGACCCGCACAANCGGTGGANNNNGTGGTTNATTCGAAGCAACGC (Şekil
4.13)



Şekil 4.13*Staphylococcus aureus*'un 16S ribozomal RNA'sının PCR ürünlerinin dizisi (B3A22)

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

S. aureus, diğer stafilokok bakterilerine göre daha farklı enfeksiyonlarda (yara, yanık, orta kulak, İYE, burun ve farinks) bulunur. Pozitif izolasyon açısından değerlendirildiğinde, yara enfeksiyonlarında ilk sırada yer alırken, bunu idrar yolu enfeksiyonları, yanıklar, orta kulak iltihabı, burun ve boğaz enfeksiyonları izler.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bakteriyel izolatlar, belirlenen tüm antibiyotiklere karşı direnç göstermiştir. Özellikle; Amoksilin, sefotaksime ve amikasin antibiyotiklerine karşı daha yüksek oranda direnç tespit edilirken İmipenem antibiyotiğine karşı daha az oranda direnç belirlenmiştir.

Virülans genlerini belirlemek için yapılan moleküler çalışmalarda, COA geni tüm numuneler için %100 oranda, SPA ve HLY genleri ise %80 oranında tespit edilmiştir.

Genetik dizileme tekniğini kullanarak yapılan moleküler teşhis sonuçları incelendiğinde, seçilen tüm numunelerin %100 oranında 16S rRNA genine sahip olduğu ortaya çıkmıştır.

Tüm bu bilgiler doğrultusunda, Hastane enfeksiyonları üzerindeki patojenik etkilerini göstermek için *Staphylococcus aureus* bakterilerini incelemeye ve bunları farklı kaynaklardan izole etmek için araştırma alanını genişletmeye ve kapsamlı ve geniş bir çalışmada incelemeye ve moleküler yönden antibiyotiklere direnç çalışmalarını derinleştirmeye ihtiyaç vardır. Ayrıca, eczanelerde antibiyotik dağıtımının kontrol altına alınması, hastalara rastgele ve ruh haline göre antibiyotik kullanmamaları ve tehlikeleri konusunda eğitim verilmesi gerekmektedir. Bunlara ek olarak, enfeksiyonun patojenik virülansını tespit etmek için *Staphylococcus aureus*'un virülans genlerinin taranması, bakteriyel direnç genlerini kullanılması ve diğer virülans faktörlerinin incelenmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

Abdul-Kareem, H. S., & Husain, A. S. 2015. Genetic comparative study of Staphyolococcus aureus & Staphylococcus epidermidis isolated from wounds, burns and skin flora. Iraqi Journal of Science, 56(1), 708-712.

Abdullah, A. A., & Al Moslih, M. I. 2005. Prevalence of asymptomatic bacteriuria in pregnant women in Sharjah, United Arab Emirates. EMHJ-Eastern Mediterranean Health Journal, 11 (5-6), 1045-1052, 2005.

Abdullah, S. K. I. 2018. Study of cephalosporin resistance of bacteria isolated from clinical models in Tikrit Teaching Hospital. MSc. Thesis, Tikrit University, 93 page, Tikrit.

Affat, H. A. 2018. Isolation of bacteria that cause candidal inflammation and study of their sensitivity to some antibiotics and oral antiseptics. MSc. Thesis, Tikrit University, 88 page, Tikrit.

Ahmed, S. S. Y. 2008. Isolation and diagnosis of the causes of wound infections and study of their sensitivity of antibiotics and antiseptics in Kirkuk city general hospital. MSc. Thesis, Tikrit University, 91 page, Kirkuk.

Akyürek, N., Kerek, M., Yüksel, O., & Patıroğlu, T. 2000. The role of immunological factors in wound infections (A prospective clinical study). Turkish Journal of Medical Sciences, 30(3), 275-280.

Al-Adeeb, M. K. M. 2021. Investigation of some antibiotic resistance genes and virulence genes of Staphylococcus aureus isolated from patients undergoing hemodialysis. MSc. Thesis, University of Tikrit, 108 page, Tikrit.

Alam, S. M. S., Kalam, M. A., Munna, M. S., Munshi, S. K., & Noor, R. 2014. Isolation of pathogenic microorganisms from burn patients admitted in Dhaka Medical College and Hospital and demonstration of their drug-resistance traits. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 4(5), 402-407.

Al-Ani, A. H. M. 2021. Effect of zinc oxide nanoparticles and extracts of syzigium aromaticum and Hibiscus sabdariffa plants on the growth of some bacterial species isolated from the oral cavity. MSc. Thesis, University of Tikrit, 94 page, Tikrit.

Al-Dawudi, H. F. A, Omar, A. F., & Al-Bayati, A. G. A. 2018. A comparative study between the effect of some plant extracts and some antibiotics on the genus

Staphylococcus bacteria isolated from the nostrils area among Tikrit University students. Proceedings of the first and third international scientific conference College of Science-Tikrit University/17-18 December/(C5)

Al-Douri, H. S. S. 2018. Molecular and bacteriological study of methicillin resistant Staphylococcus aureus isolated from different sources. MSc. Thesis, University of Tikrit, 92 page, Tikrit.

Alexander, S. K., Strete, D., & Niles, M. J. 2004. Laboratory exercises in organismal and molecular microbiology. McGraw-Hill. 320 page, Washington.

Al-Kazaz, E. J., Melconian, A. K., & Kandela, N. J. 2014. Extraction of Staphyloxanthin from Staphylococcus aureus isolated from clinical sources to determine its antibacterial activity against other bacteria. Iraqi Journal of Science, 55(4B), 1823-1832.

Al-Khalil, G. M. 2001. Study of the enzymatic activity of Staphylococcus aureus bacteria isolated in inflammatory cases and sensitive to antibiotics. MSc. Thesis, University Al-Mustansiriya, 85 page, Baghdad.

Al-Lahibi, A. G. Y. 2020. Efficacy test of alarak and cloves against bacterial isolates causing caries and periodontitis, MSc. Thesis, Tikrit University, 113 page, Tikrit.

Al-Marjani, M. F. 2014. Presence of qnr gene in environmental and clinical Pseudomonas aeruginosa isolates in Baghdad. Int J Curr Microbiol Appl Sci, 3(7), 853-857.

Al-Noaami, R. J. 2014. Detection the genotype estimation of Allele frequencies for ABO groups an Rh factor in populations of Selah Al-Dine and Kirkuk and Neneva provinces. PhD. Thesis, Tikrit University, 120 page, Tikrit.

Al-Qaisi, M. M., & Al-Salmani, T. S. 2016. Phenotypic detection of macrolide-lincosamide-streptogramin resistance among Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis in Baghdad, Iraq.

Al-Ruwaili, M. A. 2018. The coa, mec, and spa genes diversity among methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains from health-care workers and patients. Nigerian Journal of Clinical Practice, 21(8), 1065-1074.

Al-Tikriti, S. M. 2021. Molecular detection of some virulence factors in bacterial species isolated from the respiratory tract infection in children in Mosul province. MSc. Thesis, University of Mosul, 80 page, Mosul.

Angshumanjana, A., Dipjitdey, A., & Jayantabikashdey, T. N. 2016. Selection of storage methods for maintenance of different stock cultures. Int J Curr Microbiol Appl Sci, 5(10), 1097-104.

Argudín, M. Á., Mendoza, M. C., & Rodicio, M. R. 2010. Food poisoning and Staphylococcus aureus enterotoxins. Toxins, 2(7), 1751-1773.

Ariyanti, D., Salasia, S. I. O., & Tato, S. 2011. Characterization of haemolysin of Staphylococcus aureus isolated from food of animal origin. Indonesian Journal of Biotechnology, 16(1), 32-37.

Arora, S., Devi, P., Arora, U., & Devi, B. 2010. Prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in a tertiary care hospital in Northern India. Journal of Laboratory Physicians, 2(02), 078-081.

Aslantaş, Ö., Demir, C., Türütoğlu, H., Cantekin, Z., Ergün, Y., & Doğruer, G. 2007. Coagulase gene polymorphism of Staphylococcus aureus isolated from subclinical bovine mastitis. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences, 31(4), 253-257.

Atlas, R. M. 2005. Handbook of media for environmental microbiology. CRC Press, 189 page, New York.

Bahar, M. A., Manafi, A., Nosratollah, B., Karimi, H., Mahshid, H., Esfandi, S., & Kabir, A. 2008. Assessment of burn wound infection by swab and biopsy culture: a comparative study. Scientific Information Database, 2008(1), 17-20

Barros, E. M., Ceotto, H., Bastos, M. C. F., Dos Santos, K. R. N., & Giambiagi-deMarval, M. 2012. Staphylococcus haemolyticus as an important hospital pathogen and carrier of methicillin resistance genes. Journal of Clinical Microbiology, 50(1), 166-168.

Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. 2014. Coagulase-negative staphylococci. Clinical Microbiology Reviews, 27(4), 870-926.

Benbow, M. 2011. Wound care: ensuring a holistic and collaborative assessment. British Journal of Community Nursing, 16(Sup9), S6-S16.

Benson, H. J. 2002. Microbiological applications, The laboratory manual in general microbiology. 8th. Ed., McGraw–Hill Companies, Inc., New York: 186.

Bertelloni, F., Chemaly, M., Cerri, D., Gall, F. L., & Ebani, V. V. 2016. Salmonella infection in healthy pet reptiles: Bacteriological isolation and study of some

pathogenic characters. Acta microbiologica et immunologica Hungarica, 63(2), 203-216.

Bhat, A. S. 2013. Prevalence of burn wound infections with aerobic and anaerobic bacteria and their antimicrobial susceptibility pattern at tertiary care hospital. Medical Science, 2(12).

Bielaszewska, M., Rüter, C., Kunsmann, L., Greune, L., Bauwens, A., Zhang, W., & Karch, H. 2013. Enterohemorrhagic Escherichia coli hemolysin employs outer membrane vesicles to target mitochondria and cause endothelial and epithelial apoptosis. PLoS Pathogens, 9(12), e1003797.

Börjesson, S., Gómez-Sanz, E., Ekström, K., Torres, C., & Grönlund, U. 2015. Staphylococcus pseudintermedius can be misdiagnosed as Staphylococcus aureus in humans with dog bite wounds. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 34(4), 839-844.

Brignoli, T., Manetti, A. G., Rosini, R., Haag, A. F., Scarlato, V., Bagnoli, F., & Delany, I. 2019. Absence of protein a expression is associated with higher capsule production in staphylococcal isolates. Frontiers in Microbiology, 10, 863.

Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., & Morse, S. 2007. Lange Medical Microbiology. McGraw-Hill Medical, 832 page, New York

Brown, A., & Smith, H. 2014. Benson's Microbiological Applications, Laboratory Manual in General Microbiology, Short Version. McGraw-Hill Education, 478 page, New York.

Brown, D. F., Edwards, D. I., Hawkey, P. M., Morrison, D., Ridgway, G. L., Towner, K. J., & Wren, M. W. 2005. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 56(6), 1000-1018.

Burkhardt, R. W. 2013. Lamarck, Jean Baptiste. In Brenner's Encyclopedia of Genetics (pp. 184-186). Academic Press.

Caiazza, N. C., & O'Toole, G. A. 2003. Alpha-toxin is required for biofilm formation by Staphylococcus aureus. Journal of Bacteriology, 185(10), 3214-3217.

Chang, C. H., Chen, S. Y., Lu, J. J., Chang, C. J., Chang, Y., & Hsieh, P. H. 2017. Nasal colonization and bacterial contamination of mobile phones carried by medical staff in the operating room. PloS One, 12(5), e0175811.

Chess, B. 2019. Laboratory applications in microbiology: A case study approach. Fourth Edition. McGraw-Hill Education, 576 page, New York. USA.

Cheung, G. Y., Bae, J. S., & Otto, M. 2021. Pathogenicity and virulence of Staphylococcus aureus. Virulence, 12(1), 547-569.

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. 2019. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 29th ed. CLSI supplement M100, 39(1):42-45, 58-67.

Collee, J. G., Mackie, T. J., & McCartney, J. E. 1996. Mackie & McCartney practical medical microbiology. Harcourt Health Sciences, 143 page, New York.

Costa, M. M. D., Drescher, G., Maboni, F., Weber, S. D. S., Schrank, A., Vainstein, M. H., & Vargas, A. C. D. 2010. Virulence factors, antimicrobial resistance, and plasmid content of Escherichia coli isolated in swine commercial farms. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 62, 30-36.

Cuevas, O., Cercenado, E., Vindel, A., Guinea, J., Sánchez-Conde, M., Sánchez-Somolinos, M., & Bouza, E. 2004. Evolution of the antimicrobial resistance of Staphylococcus spp. in Spain: five nationwide prevalence studies, 1986 to 2002. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 48(11), 4240-4245.

Davis, J. A., Farrah, S. R., & Wilkie, A. C. 2006. Selective growth of Staphylococcus aureus from flushed dairy manure wastewater using acriflavine-supplemented mannitol salt agar. Letters in Applied Microbiology, 42(6), 606-611.

De Nies, L., Lopes, S., Busi, S. B., Galata, V., Heintz-Buschart, A., Laczny, C. C., & Wilmes, P. 2021. PathoFact: a pipeline for the prediction of virulence factors and antimicrobial resistance genes in metagenomic data. Microbiome, 9(1), 1-14.

Falih, A. S. 2006. The role of peptidoglycan in Staphylococcus diseases. MSc. Thesis, University of Baghdad, 113 page, Baghdad.

Forbes, B., Saham, D., & Weissfeld, A. 2007. Diagnostic microbiology in Bailey and Scott's, 12th ed., Mosby Elsevier 500 page. Texas.

Foster, T. 1996. Staphylococcus. Medical Microbiology. 4th edition. University of Texas Medical Branch at Galveston, Galveston (TX).

Franchetti, L., Schumann, D. M., Tamm, M., Jahn, K., & Stolz, D. 2020. Multiplex bacterial polymerase chain reaction in a cohort of patients with pleural effusion. BMC Infectious Diseases, 20(1), 1-10.

Frenay, H. M., Theelen, J. P., Schouls, L. M., Vandenbroucke-Grauls, C. M., Verhoef, J., Van Leeuwen, W. J., & Mooi, F. R. 1994. Discrimination of epidemic and nonepidemic methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains on the basis of protein A gene polymorphism. Journal of Clinical Microbiology, 32(3), 846-847.

Friães, A., Resina, C., Manuel, V., Lito, L., Ramirez, M., & Melo-Cristino, J. 2015. Epidemiological survey of the first case of vancomycin-resistant Staphylococcus aureus infection in Europe. Epidemiology & Infection, 143(4), 745-748.

Fricke, E. C., Haak, D. C., Levey, D. J., & Tewksbury, J. J. 2016. Gut passage and secondary metabolites alter the source of post-dispersal predation for bird-dispersed chili seeds. Oecologia, 181(3), 905-910.

Garibyan, L., & Avashia, N. 2013. Research techniques made simple: polymerase chain reaction (PCR). The Journal of Investigative Dermatology, 133(3), e6.

Gerges, K. K. 2006. Study of the resistance of types of bacteria isolated from patients to some antibiotics and new chemical compounds. MSc. Thesis, University Al-Mustansiriya,85 page, Baghdad.

Giebink, G. S. 1987. Infection of the middle and inner ear. In Infections of the Head and Neck (pp. 64-80). Sprigeverlag New York Berlin Heidelberg. London. 95: 64–77.

Glorieux, C., & Calderon, P. B. 2017. Catalase, a remarkable enzyme: targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. Biological Chemistry, 398(10), 1095-1108.

Goh, S. H., Byrne, S. K., Zhang, J. L., & Chow, A. W. 1992. Molecular typing of Staphylococcus aureus on the basis of coagulase gene polymorphisms. Journal of Clinical Microbiology, 30(7), 1642-1645.

Gómez-Sanz, E., Torres, C., Lozano, C., & Zarazaga, M. 2013. High diversity of Staphylococcus aureus and Staphylococcus pseudintermedius lineages and toxigenic traits in healthy pet-owning household members. Underestimating normal household contact?. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 36(1), 83-94.

Grönthal, T., Ollilainen, M., Eklund, M., Piiparinen, H., Gindonis, V., Junnila, J., & Rantala, M. 2015. Epidemiology of methicillin resistant Staphylococcus pseudintermedius in guide dogs in Finland. Acta Veterinaria Scandinavica, 57(1), 1-10.

Guo, Y., Song, G., Sun, M., Wang, J., & Wang, Y. 2020. Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in Staphylococcus aureus. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 10, 107.

Hammer, K. A., Riley, T. V., & Carson, C. F. 2005. Effects of tea tree oil on Staphylococcus aureus virulence factors: A report for the rural industries research and development corporation. Rural Industries Research and Development Corporation, 273 page, Sydney.

Hawley, L., Ziegler, R. J., & Clarke, B. L. 2014. Microbiology and immunology. Wolters Kluwer Health, 334 page, Philadelphia.

Herman-Bausier, P., Labate, C., Towell, A. M., Derclaye, S., Geoghegan, J. A., & Dufrêne, Y. F. 2018. Staphylococcus aureus clumping factor A is a force-sensitive molecular switch that activates bacterial adhesion. Proceedings of the National Academy of Sciences, 115(21), 5564-5569.

Higgins, S., Heeb, S., Rampioni, G., Fletcher, M. P., Williams, P., & Cámara, M. 2018. Differential regulation of the phenazine biosynthetic operons by quorum sensing in Pseudomonas aeruginosa PAO1-N. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 8, 252.

Hososaka, Y., Hanaki, H., Hayashi, I., Kamibeppu, K., & Sunakawa, K. 2004. Epidemiological investigation of beta-lactam antibiotic induced vancomycin-resistant MRSA from clinical isolated MRSA--comparison of detection rate of BIVR with or without CZX. Kansenshogaku zasshi. The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases, 78(8), 717-721.

Javid, F., Taku, A., Bhat, M. A., Badroo, G. A., Mudasir, M., & Sofi, T. A. 2018. Molecular typing of Staphylococcus aureus based on coagulase gene. Veterinary World, 11(4), 423.

Jay, Z. J., & Inskeep, W. P. 2015. The distribution, diversity, and importance of 16S rRNA gene introns in the order Thermoproteales. Biology direct, 10(1), 1-10.

John, J. 2020. The treatment of resistant staphylococcal infections. F1000Research, 9.

Johnson, A. G., Ziegler, R. J., & Hawley, L. 2010. Microbiology and immunology. Lippincott Williams & Wilkins, 297 page, Philadelphia.

Josse, J., Laurent, F., & Diot, A. 2017. Staphylococcal adhesion and host cell invasion: fibronectin-binding and other mechanisms. Frontiers in Microbiology, 8, 2433.

Kamel, Y. 2020. Genotypic and phenotypic characterization, antibiotic resistance and virulence patterns of Staphylococcus aureus isolated form Goat Mastitis. Mansoura Veterinary Medical Journal, 21(4), 161-166.

Khalaf, K. J., & Hachim, L. S. 2017. Effect of Hyaluronidase enzyme which produced by Staphylococcus aureus on killing Klebsiella pneumoniae in serum. Advances in Environmental Biology, 11(2), 12-17.

Khatuna, P., & Shorena, K. 2020. Enzyme secretion in Staphylococcus aureus strains. World Journal of Advanced Research and Reviews, 6(2), 110-112.

Khorshid, M. B. 2016. Investigating the effect of some substances on antibiotic-resistant bacteria isolated from burn infections at Azadi Teaching Hospital in Kirkuk city. MSc, Thesis, University of Kirkuk, 85 page, Kirkuk.

Khudaier, B. Y., Abbas, B. A., & Khudaier, A. M. 2013. Detection of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus Isolated from Human and Animals in Basrah Province/Iraq. MRVSA2013, 2, 12-21.

Kim, M. K. 2019. Staphylococcus aureus toxins: from their pathogenic roles to anti-virulence therapy using natural products. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 24(3), 424-435.

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

Kosecka-Strojek, M., Sabat, A. J., Akkerboom, V., Kooistra-Smid, A., Miedzobrodzki, J., & Friedrich, A. W. 2019. Development of a reference data set for assigning Streptococcus and Enterococcus species based on next generation sequencing of the 16S–23S rRNA region. Antimicrobial Resistance & Infection Control, 8(1), 1-14.

Krišto, B., & Buljan, M. 2011. Microbiology of the chronic suppurative otitis media. Medicinski Glasnik, 8(2), 284-6.

Kuehnert, M. J., Hill, H. A., Kupronis, B. A., Tokars, J. I., Solomon, S. L., & Jernigan, D. B. 2005. Methicillin-resistant–Staphylococcus aureus hospitalizations, United States. Emerging Infectious Diseases, 11(6), 868.

Kumar, A., Grover, S., & Batish, V. K. 2015. Exploring specific primers targeted against different genes for a multiplex PCR for detection of Listeria monocytogenes. 3 Biotech, 5(3), 261-269.

Kumar, H., & Seth, S. 2011. Bacterial and fungal study of 100 cases of chronic suppurative otitis media. Journal of Clinical and Diagnostic Research. (Suppl-1), Vol-5(6): 1224-1227.

Landecker, H. 2016. Antibiotic resistance and the biology of history. Body & Society, 22(4), 19-52.

Lee, M. K., Choi, S. H., & Ryu, D. W. 2013. Descending necrotizing Mediastinitis caused by Kocuria rosea: a case report. BMC Infectious Diseases, 13(1), 1-4.

Letts, R. M., & Doermer, E. 1983. Conversation in the operating theater as a cause of airborne bacterial contamination. JBJS, 65(3), 357-362.

Li, X., Huang, T., Xu, K., Li, C., & Li, Y. 2019. Molecular characteristics and virulence gene profiles of Staphylococcus aureus isolates in Hainan, China. BMC Infectious Diseases, 19(1), 1-12.

Lina, G., Quaglia, A., Reverdy, M. E., Leclercq, R., Vandenesch, F., & Etienne, J. 1999. Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins among staphylococci. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 43(5), 1062-1066.

Lozano, C., Rezusta, A., Ferrer, I., Pérez-Laguna, V., Zarazaga, M., Ruiz-Ripa, L., & Torres, C. 2017. Staphylococcus pseudintermedius human infection cases in Spain: dog-to-human transmission. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 17(4), 268-270.

MacFaddin, J. F. 2003. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Ed. Médica Panamericana, 554 page, Madrid.

Madi, A., Lakhdari, O., Blottière, H. M., Guyard-Nicodème, M., Le Roux, K., Groboillot, A., & Connil, N. 2010. The clinical Pseudomonas fluorescens MFN1032 strain exerts a cytotoxic effect on epithelial intestinal cells and induces Interleukin-8 via the AP-1 signaling pathway. BMC Microbiology, 10(1), 1-8.

Mahmoudi, H., Arabestani, M. R., Mousavi, S. F., & Alikhani, M. Y. 2017. Molecular analysis of the coagulase gene in clinical and nasal carrier isolates of methicillin-resistant Staphylococcus aureus by restriction fragment length polymorphism. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 8, 41-45.

Mahon, C. R., Mat, M. S., & Lehman, D. C. 2020. Textbook of diagnostic microbiology-e-book. Elsevier Health Sciences, 1104 page, Cambridge.

Mangram, A. J., Horan, T. C., Pearson, M. L., Silver, L. C., Jarvis, W. R., & Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. 1999. Guideline for prevention of surgical site infection, 1999. Infection Control & Hospital Epidemiology, 20(4), 247-280.

Maniatis, T., Fritsch, E. F., & Sambrook, J. 2001. In vitro application of DNA by the Polymerase Chain Reaction. Molecular Cold Spring Harbor Laboratory Press, 691 page, New York.

Melo, G. B., Melo, M. C., Gama, A. P., Carvalho, K. S., Jesus, T. C., Bonetti, A. M., & Gontijo Filho, P. P. 2005. Analysis of the genetic diversity of vancomycin-resistant Staphylococcus aureus. Brazilian Journal of Microbiology, 36, 126-130.

Mohammed, H. Q., & Shehab, A. T. 2019. Molecular study of bacterial infection from hemodialysis patients in Wasit centre, Iraq. J. Res. Pharm. Sci. 10(1):489-499.

Ohlsen, K., Ziebuhr, W., Koller, K. P., Hell, W., Wichelhaus, T. A., & Hacker, J. 1998. Effects of subinhibitory concentrations of antibiotics on alpha-toxin (hla) gene expression of methicillin-sensitive and methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 42(11), 2817-2823.

Oliveira, D., Borges, A., & Simões, M. 2018. Staphylococcus aureus toxins and their molecular activity in infectious diseases. Toxins, 10(6), 252.

Osman, K., Badr, J., Al-Maary, K. S., Moussa, I. M., Hessain, A. M., Girah, Z. M. A., & Saad, A. 2016. Prevalence of the antibiotic resistance genes in coagulase-positive-and negative-Staphylococcus in chicken meat retailed to consumers. Frontiers in Microbiology, 7, 1846.

Otto, M. 2013. Coagulase-negative staphylococci as reservoirs of genes facilitating MRSA infection: Staphylococcal commensal species such as Staphylococcus epidermidis are being recognized as important sources of genes promoting MRSA colonization and virulence. Bioessays, 35(1), 4-11.

Parth, F. M., Chauhan, H. C., Bhagat, A. G., Chandel, B. S., Dadawala, A. I., & Kher, H. N. 2016. Detection of virulence associated factors from Staphylococcus aureus isolated from bovine mastitis. Buffalo Bulletin, 35(4), 687-696.

Patel, S. J., & Saiman, L. 2010. Antibiotic resistance in NICU pathogens: mechanisms, clinical impact, and prevention including antibiotic stewardship. Clinics in Perinatology, 37(3), 547.

Paul, N. C., Bärgman, S. C., Moodley, A., Nielsen, S. S., & Guardabassi, L. 2012. Staphylococcus pseudintermedius colonization patterns and strain diversity in healthy dogs: a cross-sectional and longitudinal study. Veterinary Microbiology, 160(3-4), 420-427.

Peker, N., Garcia-Croes, S., Dijkhuizen, B., Wiersma, H. H., van Zanten, E., Wisselink, G., & Couto, N. 2019. A comparison of three different bioinformatics analyses of the 16S–23S rRNA encoding region for bacterial identification. Frontiers in Microbiology, 10, 620.

Perreten, V., Kadlec, K., Schwarz, S., Grönlund Andersson, U., Finn, M., Greko, C., & Guardabassi, L. 2010. Clonal spread of methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius in Europe and North America: an international multicentre study. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 65(6), 1145-1154.

Pomorska, K., Jakubu, V., Malisova, L., Fridrichova, M., Musilek, M., & Zemlickova, H. 2021. Antibiotic resistance, spa typing and clonal analysis of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) isolates from blood of patients hospitalized in the Czech Republic. Antibiotics, 10(4), 395.

Prakash, M., Lakshmi, K., Anuradha, S., & Swathi, G. N. 2013. Bacteriological profile and their antibiotic susceptibility pattern of cases of chronic suppurative otitis media. Asian J Pharm Clin Res, 6(3), 210-212.

Prescott, L. M., & Harley, J. P. 2002. Harley Prescott: Laboratory exercises in microbiology, Fifth Editio. The McGraw−Hil Companies, 502 page, USA.

Procop, G. W., Church, D. L., Hall, G. S., & Janda, W. M. 2020. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Jones & Bartlett Publishers, 1790 page, New York.

Pyörälä, S., & Taponen, S. 2009. Coagulase-negative staphylococci—Emerging mastitis pathogens. Veterinary Microbiology, 134(1-2), 3-8.

Qiu, J., Wang, D., Zhang, Y., Dong, J., Wang, J., & Niu, X. 2013. Molecular modeling reveals the novel inhibition mechanism and binding mode of three natural compounds to staphylococcal α-hemolysin. PloS One, 8(11), e80197.

Rasheed, R. A. 2008 A study of the effect of some fatty acids on the activity of enzymes Staphylococcus aureus isolated from burn cases, MSc. Thesis, University of Al-Mustansiriya, 101 page, Baghdad.

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

Różalski, A., Torzewska, A., Moryl, M., Iwona, K., Agnieszka, M., Kinga, O., & Paweł, S. 2013. Proteus sp.–an opportunistic bacterial pathogen–classification, swarming growth, clinical significance and virulence factors. Folia Biologica et Oecologica, 8(1), 1-17.

Sader, H. S., Gales, A. C., Pfaller, M. A., Mendes, R. E., Zoccoli, C., Barth, A., & Jones, R. N. 2001. Pathogen frequency and resistance patterns in Brazilian hospitals: summary of results from three years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. Brazilian Journal of Infectious Diseases, 5, 200-214.

Sakr, A., Brégeon, F., Mège, J. L., Rolain, J. M., & Blin, O. 2018. Staphylococcus aureus nasal colonization: an update on mechanisms, epidemiology, risk factors, and subsequent infections. Frontiers in Microbiology, 9, 2419.

Sambrook, J., Fritsch, E. F., & Maniatis, T. 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1546 page, New York.

Saud, Z. M. 2016. Evaluation of the efficacy of some mouthwashes on some bacteria isolated from the oral cavity with multiple resistance to some beta-lactams. MSc. Thesis, Tikrit University, 72 page, Tikrit.

Savini, V., Catavitello, C., Masciarelli, G., Astolfi, D., Balbinot, A., Bianco, A., & D'Antonio, D. 2010. Drug sensitivity and clinical impact of members of the genus Kocuria. Journal of Medical Microbiology, 59(12), 1395-1402.

Schwarzkopf, A., & Karch, H. 1994. Genetic variation in Staphylococcus aureus coagulase genes: potential and limits for use as epidemiological marker. Journal of Clinical Microbiology, 32(10), 2407-2412.

Sheth, S., & DiNubile, M. J. 1997. Clinical significance of Staphylococcus aureus bacteriuria without concurrent bacteremia. Clinical Infectious Diseases, 24(6), 1268-1269.

Skobe, C. 2004. The basics of specimen collection and handling of urine testing. Lab Notes A newsletter from BD Diagnostic pre-analytical system, Vol 14 (2).

Smyth, R. W., & Kahlmeter, G. 2005. Mannitol salt agar-cefoxitin combination as a screening medium for methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Journal of Clinical Microbiology, 43(8), 3797-3799.

Somayaji, R., Priyantha, M. A. R., Rubin, J. E., & Church, D. 2016. Human infections due to Staphylococcus pseudintermedius, an emerging zoonosis of canine origin: report of 24 cases. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 85(4), 471-476.

Srinivasan, R., Karaoz, U., Volegova, M., MacKichan, J., Kato-Maeda, M., Miller, S., & Lynch, S. V. 2015. Use of 16S rRNA gene for identification of a broad range of clinically relevant bacterial pathogens. PloS One, 10(2), e0117617.

Stranden, A., Frei, R., & Widmer, A. F. 2003. Molecular typing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus: can PCR replace pulsed-field gel electrophoresis?. Journal of Clinical Microbiology, 41(7), 3181-3186.

Stull, J. W., Slavić, D., Rousseau, J., & Weese, J. S. 2014. Staphylococcus delphini and methicillin-resistant S. pseudintermedius in horses, Canada. Emerging Infectious Diseases, 20(3), 485.

Tiwari, H. K., Sapkota, D., & Sen, M. R. 2008. Evaluation of different tests for detection of Staphylococcus aureus using coagulase (coa) gene PCR as the gold standard. Nepal Med. Coll J., 10(2), 129-131.

Trivedi, U., Madsen, J. S., Everett, J., Fell, C., Russel, J., Haaber, J., & Sørensen, S. J. 2018. Staphylococcus aureus coagulases are exploitable yet stable public goods in clinically relevant conditions. Proceedings of the National Academy of Sciences, 115(50), E11771-E11779.

Vakili, B., Nezafat, N., Negahdaripour, M., Yari, M., Zare, B., & Ghasemi, Y. 2017. Staphylokinase enzyme: an overview of structure, function and engineered forms. Current Pharmaceutical Biotechnology, 18(13), 1026-1037.

Valones, M. A. A., Guimarães, R. L., Brandão, L. A. C., Souza, P. R. E. D., Carvalho, A. D. A. T., & Crovela, S. 2009. Principles and applications of polymerase chain reaction in medical diagnostic fields: a review. Brazilian Journal of Microbiology, 40, 1-11.

Varshney, A. K., Kuzmicheva, G. A., Lin, J., Sunley, K. M., Bowling Jr, R. A., Kwan, T. Y., & Shivaswamy, S. 2018. A natural human monoclonal antibody targeting

Staphylococcus Protein A protects against Staphylococcus aureus bacteremia. PLoS One, 13(1), e0190537.

Visansirikul, S., Kolodziej, S. A., & Demchenko, A. V. 2020. Staphylococcus aureus capsular polysaccharides: a structural and synthetic perspective. Organic & Biomolecular Chemistry, 18(5), 783-798.

Vita, G. M., De Simone, G., Leboffe, L., Montagnani, F., Mariotti, D., Di Bella, S., & di Masi, A. 2020. Human serum albumin binds Streptolysin O (SLO) toxin produced by Group a Streptococcus and inhibits its cytotoxic and hemolytic effects. Frontiers in Immunology, 11, 507092.

Votintseva, A. A., Fung, R., Miller, R. R., Knox, K., Godwin, H., Wyllie, D. H., & Walker, A. S. 2014. Prevalence of Staphylococcus aureus protein A (spa) mutants in the community and hospitals in Oxfordshire. BMC Microbiology, 14(1), 1-11.

Watkins, R. R., David, M. Z., & Salata, R. A. 2012. Current concepts on the virulence mechanisms of meticillin-resistant Staphylococcus aureus. Journal of Medical Microbiology, 61(Pt 9), 1179.

Winand, R., Bogaerts, B., Hoffman, S., Lefevre, L., Delvoye, M., Van Braekel, J., & Vanneste, K. 2019. Targeting the 16s rRNA gene for bacterial identification in complex mixed samples: Comparative evaluation of second (illumina) and third (oxford nanopore technologies) generation sequencing technologies. International Journal of Molecular Sciences, 21(1), 298.

Zangerl, P., & Asperger, H. 2003. Media used in the detection and enumeration of Staphylococcus aureus. In Progress in Industrial Microbiology (Vol. 37, pp. 91-110). Elsevier.

Zhu, J., Lu, C., Standland, M., Lai, E., Moreno, G. N., Umeda, A., & Zhang, Z. 2008. Single mutation on the surface of Staphylococcus aureus Sortase A can disrupt its dimerization. Biochemistry, 47(6), 1667-1674.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Alhamzah Qahtan NAJI NAJI

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2020-Halen
Lisans	Tikrit Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2011-2015