ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

IRAKLI HASTALARIN SOLUNUM YOLLARINDAN İZOLE EDİLEN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SUŞLARININ MOLEKÜLER TANIMLANMASI

Fatimah Younus Zenalabdin ZENALABDIN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2022

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Fatimah Younus Zenalabdin ZENALABDIN tarafından hazırlanan **"Iraklı Hastaların Solunum Yollarından İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarının Moleküler Tanımlanması"** adlı tez çalışması 23/02/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK

Eş Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Siham Shakoor OBID

Jüri Üyeleri :

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Muhammed Bora AKIN
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Emel AKYOL
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Yıldız Teknik Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**Iraklı Hastaların Solunum Yollarından İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarının Moleküler Tanımlanması**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (23/02/2022).

Fatimah Younus Zenalabdin ZENALABDIN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

IRAKLI HASTALARIN SOLUNUM YOLLARINDAN İZOLE EDİLEN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SUŞLARININ MOLEKÜLER TANIMLANMASI

Fatimah Younus Zenalabdin ZENALABDIN

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Siham Shakoor OBID

Staphylococcus aureus, çok çeşitli insan enfeksiyonlarına neden olan ajan olarak tanımlanan kommensal ve fırsatçı bir patojendir. Bu nedenle, bu çalışma, farklı yaş gruplarındaki solunum örneklerinden *Staphylococcus aureus* izolatlarının ve bunların virülans faktörlerinin moleküler olarak saptanmasını amaçlamıştır. Kerkük şehrinde yapılmış kesitsel bir çalışmadır. Kerkük ili Azadi Eğitim Hastanesi konsültasyon kliniklerinde uzman doktor tarafından tıbbi gözetim altında yaşları 7-70 arasında değişen hastalardan toplam 100 solunum örneği (balgam, nazofaringeal sürüntü) toplanmış olup yaş, ikamet yeri, altta yatan hastalıklar dahil olmak üzere her birisinin veri kullanımizni alındı. Sürüntüler alındı ve kanlı agar besiyerine aseptik olarak ve katı besiyerine alt kültür birkaç kez inoküle edildi. Saf kültürdeki mikroorganizmalar, seçici ve diferansiyel ortamlarda morfolojik özelliklerine göre tanımlanmıştır. Gerçek zamanlı PCR ile hastaların solunum sisteminden izole edilen tüm S. aureus bakterileri S. aureus 16S rRNA geni ve %50'si S. aureus femA genleri ile karakterize edildi.

2022, 90 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: *Staphylococcus aureus*, Moleküler tanımlama, Solunum yolları, Iraklı hastalar

ABSTRACT

Master of Science Thesis

MOLECULAR IDENTIFICATION OF STAPHYLOCOCCUS AURUS STRAINS ISOLATED FROM THE RESPIRATORY PATHS OF IRAQI PATIENTS

Fatimah Younus Zenalabdin ZENALABDIN

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

Advisor: Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Siham Shakoor OBID

Staphylococcus aureus is a commensal and an opportunistic pathogen, described as the causative agent in a wide range of human infections The present study aimed at molecular detection of *Staphylococcus aureus* isolates from respiratory samples of different age groups and their virulence factors. A cross-sectional study conducted in Kirkuk city. A total of 100 respiratory sample (sputum, nasopharyngeal swab) were collected from patients under medical supervision by the specialized doctor in the consultative clinics of Azadi Teaching Hospital in Kirkuk city, their ages ranged from 7-70 years, and information was taken from patient including the age, residence, underlying diseases, swabs from individuals were inoculated on the blood agar media and subculture on solid media several times to get the pure culture of the microorganisms. Microorganisms in pure culture were identified on the basis of their morphological characteristics on selective and differential media. All Staph. aureus bacteria isolated from respiratory system of the patients were characterised by S.aureus 16S rRNA gene and 50% S.aureus were with femA genes as detected by real time PCR.

2022, 90 pages

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Molecular identification, Respiratory tract, Iraqi patients

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında bana yardım eden ve işimi tamamlama gücü veren Yüce Allah'a hamdolsun. Bu çalışmanın sonucunun canlı anlarını bu sayfaya koymak istiyor, onlarla gurur duyuyor ve bu işi yapmak için gerekli olan insanlara teşekkür etme fırsatını yakaladım. Tez boyunca verdiği rehberlik ve teşvik için danışmanım Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK'e en derin şükranlarımı sunarım. Tezin bölümlerine yaptığı değerli yorumları ve beni her zaman çok çalışmaya teşvik eden sözleriyle tüm çalışmayı zenginleştirmektedir. Bu tez, danışmanım Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK ve Dr. Öğr. Üyesi Siham Shakoor OBID ile ortak çalışmanın başarılı bir sonucudur. Kendisine tekrar en içten teşekkürlerimi ve takdirlerimi sunuyorum. Biyoloji AnaBilim Dalı başkanına ve bölümün tüm öğretim üyelerine en derin şükranlarımı sunarım.

Fatimah Younus Zenalabdin ZENALABDIN
Çankırı, Şubat 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 Solunum Sisteminin Anatomisi **4**
2.2 Üst Solunum Yolu Enfeksiyonu **6**
2.2.1 Sınıflandırma **6**
2.2.2 Etiyoloji **6**
2.2.3 URTI için risk faktörleri **7**
2.3 Orta Solunum Yolu Enfeksiyonu **8**
2.4 *Staphylococcus aureus* **8**
2.4.1 Genel bilgiler **8**
2.4.2 Klinik önemi **10**
2.4.3 *S. aureus*'un moleküler yazımı **11**
2.4.4 *S. aureus*'un genomik karakterizasyonu **13**
2.4.5 Virülans faktörleri ve hücre dışı enzimler **14**
2.4.6 Patogenez **16**
2.5 Biyofilm Dağılımı **22**
2.6 *S. aureus* Arasında Antibiyotik Direnci **23**
2.7 Stafilokokların Laboratuvar Tanısı **25**
2.8 Kültür ve Doğrudan Yöntem **27**
3. MATERYAL VE METOT **29**
3.1 Çalışma Tasarımı **29**
3.2 Malzemeler **29**

3.2.1 Gereçler ve ekipmanlar 29
3.2.2 Kimyasal malzemeler 30
3.2.3 Çalışmada kullanılan setler 31
3.2.4 Kültür medyası 32
3.2.5 Sterilizasyon 32
3.2.6 Reaktiflerin ve solüsyonun hazırlanması 33
3.2.7 Boyalar 33
3.2.8 Antibiyotik diskler 34
3.2.9 Sentetik kültür medyası 35
3.3 Yöntemler 35
3.3.1 Solunum numunesinden bakterinin izolasyonu 35
3.3.2 Teşhis 36
3.3.3 İzolatların korunması ve bakımı 42
3.3.4 Antimikrobiyal ajanlara bakteriyel duyarlılık testi 43
3.3.5 Virülans faktörlerini belirlemek için testler 43
3.3.6 Biyofilm oluşum testi 47
3.3.7 PCR yoluyla gen belirleme 49
3.4 İstatistiksel Analiz 54
4. BULGULAR 55
4.1 Nazofaringeal Sürüntü Kültürü 55
4.2 İzole Bakterilerin Dağılımı 55
4.3 Yaşa Göre *S. aureus* Enfeksiyonlu Hastaların Dağılımı 59
4.4 Cinsiyete Göre *S. aureus* Enfeksiyonlu Hastaların Dağılımı 60
4.5 *S. aureus* Enfeksiyonu ile Değişik Risk Faktörlerinin İlişkisi 60
4.6 *S. aureus*'un Antibiyotik Hassasiyetinin Dağılımı 61
4.7 Çalışılan Vakalardan *Staphylococcus aureus*'un Virülansının Dağılımı 62
4.8 *S. aureus*'un Virülans Faktörleri Olarak Antibiyotik Direncinin Dağılımı 63
4.9 Değişik Yöntemler Yoluyla Biyofilm Üretimine Bağlı Olarak *S. aureus* İzolatlarının Dağılımı 63
4.10 Gerçek Zamanlı PCR Yoluyla *S. aureus* Genlerinin Moleküler Belirlemesi 64
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA 65
5.1 Nazofaringeal Sürüntü Kültürü 65

5.2 Yaş ve Cinsiyete Göre *S. aureus* Enfeksiyonlu Hastaların Dağılımı 67
5.3 *S. aureus* Enfeksiyonunun Değişik Risk Faktörleri ile İlişkisi.....67
5.4 *S. aureus*'un Antibiyotik Hassasiyetinin Dağılımı 68
5.5 Çalışılan Vakalardan *Staphylococcus aureus*'un Virülans Dağılımı.....69
5.6 *S. aureus*'un Virülans Faktörleri Olarak Antibiyotik Direncinin Dağılımı 70
5.7 *S. aureus* İzolatlarının Moleküler Belirlemesi.....72
5.8 Genel Sonuçlar.....73
5.9 Tavsiyeler.....74
KAYNAKLAR 75
EKLER.....87
EK 1. Anket formu.....88
EK 2. Medya hazırlama.....89
ÖZGEÇMİŞ.....90

SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrat derece
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
µM	Mikromolar
mL	Mililitre

KISALTMALAR DİZİNİ

API	Analitik profil endeksi
CFU	Koloni oluşturma birimi
CHIP	Kemotaksi engelleyici protein
Cons	Koagulaz negatif staphylococci
CR	Kongo kırmızısı
DNase	Deoksi ribonükleaz
ECM	Ekstraselüler matris
EPEC	Enteropatojenik e. koli
HUS	Hemolitik üremik sendromu
IMV1C	İndol metil kırmızısı voges proskauer ve sitrat kullanan testler
Kda	Kilo dalton
KIA	Kligler demir agar
LPS	Lipopolysakkarit
LTRI	Alt solunum yolu enfeksiyonları
MIC	Minimum engelleyici konsantrasyonu
MLST	Multi lokus sıralama yazımı
MRSA	Metisilin direnci *S. aureus*
NCCLS	Klinik lab. standardı için ulusal komite
PEGE	Atım alanı jel elektroforezi
PSMs	Fenol çözünebilir modülinleri
PVL	Panton-valentine lökosidini
Spp	Türler
TSI	Üç şeker demir agar
TSST	Toksik şok sendromu toksini
UPEC	Üropatojenik e. koli
UTI	İdrar yolu enfeksiyonu
VISA	Vankomisin ara direnci *S. aureus*
VNTR	Değişken sayıda tandem tekrarı
VRSA	Vankomisin direnci *S. aureus*
WGS	Tüm genom sıralaması
WHO	Dünya sağlık örgütü
X2	Ki kare

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Solunum sistemi anatomisi (Jaeger et al. 2019) 4
Şekil 2.2 Üst solunum yolunun ana bölümleri (Jaeger *et al.* 2019) 5
Şekil 2.3 *Staphylococcus aureus* virülans molekülleri (Kobayashi *et al.* 2015) 17
Şekil 2.4 Enfeksiyon esnasında *S. aureus* hayatta kalma stratejileri (Gomes-Fernandes *et al.* 2017) 19
Şekil 3.1 Katalas testi 37
Şekil 3.2 Oksidaz testi 37
Şekil 3.3 Sitrat testi 38
Şekil 3.4 Kliglers demir agar testi 39
Şekil 3.5 Yarı katı mannitol ortamı 40
Şekil 3.6 Vitek 2 kompakt (BioMérieux, Fransa) 41
Şekil 3.7 *Koagülaz Testi* 44
Şekil 3.8 Üreaz testi 45
Şekil 3.9 Katı MacConkey medyumu 46
Şekil 3.10 Muller Hinton agarı 47
Şekil 3.11 Kan agar ortamı 48
Şekil 3.12 Toplam DNA ekstraksiyon kiti 50
Şekil 3.13 DNA ekstrasiyonuda tampon kullanımı 50
Şekil 3.14 PCR yoluya gen belirleme DNA çıkarımı 52
Şekil 3.15 Gerçek zamanlı PCR makinesi 52
Şekil 3.16 *S. aureus* gerçek zamanlı PCR sonuçları 53
Şekil 4.1 Kan agarı üzerinde Staphylococcus aureus 56
Şekil 4.2 Mannitol tuz agar üzerinde S. aureus ve S. *epidermidis* 56
Şekil 4.3 Kan agar üzerinde Klebsiella spp. büyümesi 57
Şekil 4.4 MacConkey agar üzerinde Klebsiella spp. büyümesi 57
Şekil 4.5 MacConkey agar üzerinde E. Coli kolonileri 57
Şekil 4.6 Kan agar üzerinde E. Coli kolonileri 58
Şekil 4.7 Jelatin testi 58
Şekil 4.8 Mannitol tuz agar üzerinde S. aureus 58
Şekil 4.9 Api Staph. yoluyla teşhis edilen S. aureus 59
Şekil 4.10 *Staphylococcus aureus* izolatlarının antibiyotik hassasiyeti 61
Şekil 4.11 Antibiyotik hassasiyet testi örneği 61
Şekil 4.12 Antibiyotik hassasiyetinin okuması 62

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Hızlı *S. aureus* testi için mevcut kan kültürü yöntemlerinden bazıları (Kourtis *et al.* 2019).....28
Çizelge 3.1 Gereçler ve ekipmanlar.....30
Çizelge 3.2 Kimyasal malzemeler.....31
Çizelge 3.3 Kimyasal malzemeler.....31
Çizelge 3.4 Kültür medyası.....32
Çizelge 3.5 Çalışmada kullanılan boyalar.....34
Çizelge 3.6 NCCL'ler kılavuzuna göre mevcut çalışmada kullanılan antibiyotik diskleri.....34
Çizelge 3.7 Bakteriyel izolatların sınıflandırılması.....49
Çizelge 3.8 qPCR primer ve prob dizileri.....51
Çizelge 3.9 Reaksiyon ayarı.....52
Çizelge 3.10 Master karışım bileşenleri.....53
Çizelge 3.11 Gerçek zamanlı PCR programı.....53
Çizelge 4.1 Nazofarengeal sürüntü kültürü.....55
Çizelge 4.2 Çalışılan vakalar arasında izole bakterilerin dağılımı.....55
Çizelge 4.3 Çalışmadaki kültürlerin türleri.....56
Çizelge 4.4 Yaşa göre *S. aureus* enfeksiyonlu hastaların dağılımı.....59
Çizelge 4.5 Cinsiyete göre *S. aureus* enfeksiyonlu hastaların dağılımı.....60
Çizelge 4.6 *S. aureus* enfeksiyonu ile değişik risk faktörlerinin ilişkisi.....60
Çizelge 4.7 Çalışılan vakalardan *Staphylococcus aureus*'un virülansının dağılımı.....62
Çizelge 4.8 *S. aureus*'un virülans faktörleri olarak antibiyotik direncinin dağılımı.....63
Çizelge 4.9 Değişik yöntemler yoluyla biyofilm üretimine bağlı olarak *S. aureus* izolatlarının dağılımı.....63
Çizelge 4.10 Gerçek zamanlı PCR yoluyla belirlenen *S. aureus 16S rRna* geni.....64
Çizelge 4.11 Gerçek zamanlı PCR yoluyla belirlenen *S. aureus* femA geni.....64

1. GİRİŞ

Staphylococcus aureus, çok çeşitli insan enfeksiyonlarına neden olan ajan olarak tanımlanan kommensal ve fırsatçı bir patojendir. Kan dolaşımı ve deri veyumuşak doku enfeksiyonları stafilokok hastalığının başlıca yükünü oluştursa da,hastane ortamında *S. aureus* tarafından alt solunum yolu enfeksiyonları (ASYE) artmaktadır (Lehman *et al.* 2019). Bununla birlikte, solunum ortamında bakteri kolonizasyonunun bilinmesi, asemptomatik kolonizasyon ile enfeksiyon arasındaki ayrımı zorlaştırmaktadır (Grecu *et al.* 2018).

S. aureus, normal bireylerin %30'una kadar üst solunum florasının bir bileşenidir, ancak bu tür zararsız kolonizasyon yaygın olarak invaziv enfeksiyona yeniden hazırlık olarak kabul edilir. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonu son derece yaygın olmakla birlikte, *S. aureus*'a bağlı alt solunum yolu enfeksiyonu çok daha az sıklıkta görülür ancak yüksek mortalite ile ilişkilidir (Li *et al.* 2019). Nazal (veya diğer mukozal bölge) kolonizasyonu ile müteakip *S. aureus* enfeksiyonu arasında bir ilişki olduğunu gösteren önemli epidemiyolojik veriler vardır (Pal *et al.* 2020). Kalıcı nazal kolonizasyon, antikor gelişimi ile ilişkilendirilebilirken, bu koruyucu değildir (Turner *et al.* 2019). Nazal kolonizasyon ve enfeksiyon arasındaki ilişki, birçok büyük tıp merkezinde majör ortopedik ve kalp cerrahisi öncesi kolonizasyon prosedürlerini yürütmek için yeterlidir. İnsan kolonizasyonu için gerekli olan spesifik gen ürünleri iyi tanımlanmamıştır. Yerleşik mikrobiyal flora tarafından ifade edilen bakteriyosinlerin yanı sıra konakçı antimikrobiyal peptitlerin ve mukosiliyer klirensin etkilerine dayanma yeteneği önemli özelliklerdir (Gomes-Fernandes *et al.* 2017).

S. aureus tarafından nazal kolonizasyon olan hastaların küçük bir kısmı bu organizmaları aspire edecek ve pnömoni geliştirecektir. Salgın *S. aureus* USA300 suşlarının neden olduğu alt solunum yolu enfeksiyonu, tipik olarak, alveollerde yoğun sıvı birikimi olan şiddetli hemorajik alveolitlerin yanı sıra trakeobronşitin alt solunum yollarına aspire edilmesi belirsizliğini koruyor, ancak mekanik ventilasyonun yaygın bir komplikasyonudur, öksürük refleksinin kaybı ve bozulmuş mukosiliyer klirens (Kates *et al.* 2018). MRSA pnömonisi, hem sporadik vakalarda hem de salgınlarda influenza

enfeksiyonunu takip eden hastalarda önemli bir komplikasyon ve ölüm nedenidir (Enany *et al.* 2017). *S. aureus*, T hücrelerinin önemli bir yüzdesini uyaranve bunun sonucunda yaygın doku hasarına neden olan spesifik vb. zincirlerine doğrudan bağlanma yoluyla T hücrelerini aktive eden gen ürünleri olan bir dizi süperantijeni ifade eder (Chonmaitree *et al.* 2017). Bu fenomen ilk olarak TSST- 1'in stafilokok üretimi ve yaygın T hücre aktivasyonu ve şok ile ilişkili çoklu sistem tutulumu ile karakterize toksik şok sendromu ile ilişkilendirildi (Ieven *et al.* 2018). Solunum yolu steril bir bölge değildir ve yerli mikrobiyotanın bileşimi hormonal çevre, ekolojik rahatsızlıklar ve antimikrobiyal kullanım gibi faktörlerle ilişkili olarak gelişir (Mekonnen *et al.* 2019). Yerleşik mikrobiyom ayrıca *Streptococcus pneumoniae*, tiplendirilemeyen *Haemophilus influenzae* ve *S. aureus* gibi solunum yolu enfeksiyonlarının potansiyel etiyolojik ajanları olan mikroorganizmaları içerir. Hava yolu iltihabı, değişmiş mukus üretimi ve azalmış mukosiliyer klirens, birçok durumda kolonizasyona katkıda bulunur. Üst solunum yollarında *S. aureus* taşıyıcılığı ara sıra veya kalıcı olabilir ve solunum florasının bir bileşeni olarak başarısı, demiri temizleme ve gen ekspresyonunu koordine etme yeteneğinin yanı sıra yararlı genetik elementlerin yatay olarak edinilmesiyle belirlenir (Jiang *et al.* 2019). Bu nedenle *Staphylococcus aureus* suşlarının moleküler tanımlanması, bu bakterinin neden olduğu hastalıkların tedavi sürecinin etkin yönetilmesinde ve etkin tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde büyük önem taşımaktadır.

Çalışmamız kapsamında *Staphylococcus aureus* suşlarının moleküler düzeyde incelenmesinden elde edilecek sonuçlar bu alanda yapılacak olan çalışmalara referans olması açısından önemlidir. Özellikle Irak gibi gelişmekte olan ülkelerde sağlık sisteminde birçok eksikliğin olduğuyadsınamaz bir gerçektir. Bu bağlamda çalışmamız halk sağlığı açısından da önemlidir. Bu nedenle, bu çalışma, farklı yaş gruplarındaki solunum örneklerinden *Staphylococcus aureus* izolatlarının moleküler tespiti ve bunların virülans faktörlerini amaçlamıştır. Bir tur için deney grupları halinde yürütüleceklerdir. Hasta seçiminde bir takım kriterler vardır. Polikliniklere başvurarak enfeksiyon hastalıkları veya kulak burun boğaz kliniklerine başvuran hastalar. Hastaların polikliniklere alınma nedeni, hastane enfeksiyonu olmaması nedeniyle bir kriter olarak belirlenir. Hastalar henüz herhangi bir antibiyotik tedavisine başlamamış veya daha önce

devam eden antibiyotik tedavisine dahil edilmemiş. Bu kriterin nedeni, hastaların herhangi bir antibiyotik direncine sahip olmaması veya *Staphylococcus aureus* suşlarının moleküler tanımlamasını zorlaştıracak herhangi bir sürece dahil olmamasıdır. 18 yaşından büyük hastalar tercih edilmiştir. Bu kriterin nedeni, bakteri aktivitesinin pediatrik ve yenidoğan hastalar üzerindeki farklı etkilerinin değerlendirilmesinin yanı sıra hastalarla yüz yüze görüşmelerde şikayetleri ve hastalık etkileri hakkında daha detaylı bilgi sahibi olma isteğidir. Hastaların cinsiyeti ile ilgili herhangi bir ayrım yapılmayacak olup, amaç mümkün olduğunca eşit veya benzer sayıda kadın ve erkek hastaya ulaşmaktır.

Çalışmaya dahil edilecek hastalar için onam formları imzalanacaktır. Hastalar tez çalışmalarımız ve çalışmamız kapsamında uygulanacak deneysel uygulamalar hakkında bilgilendirilecektir. Pilot çalışmalar için hastanenin etik kurulundan da onay alınacaktır. Deney grubundaki hasta sayısının en az 100 hasta olması hedeflenmektedir. Günümüzde etkileri giderek artan yeni Coronavirüsün neden olduğu Covid-19 hastalığının salgını nedeniyle hastalarla yüz yüze temas mümkün değilse, hasta ve/veya klinisyen dosyalarından klinik bilgiler alınacaktır. Onay formları kliniklerde imzalanacaktır. Ayrıca Covid-19 salgınından korunmak için tüm önlemler alınacaktır.

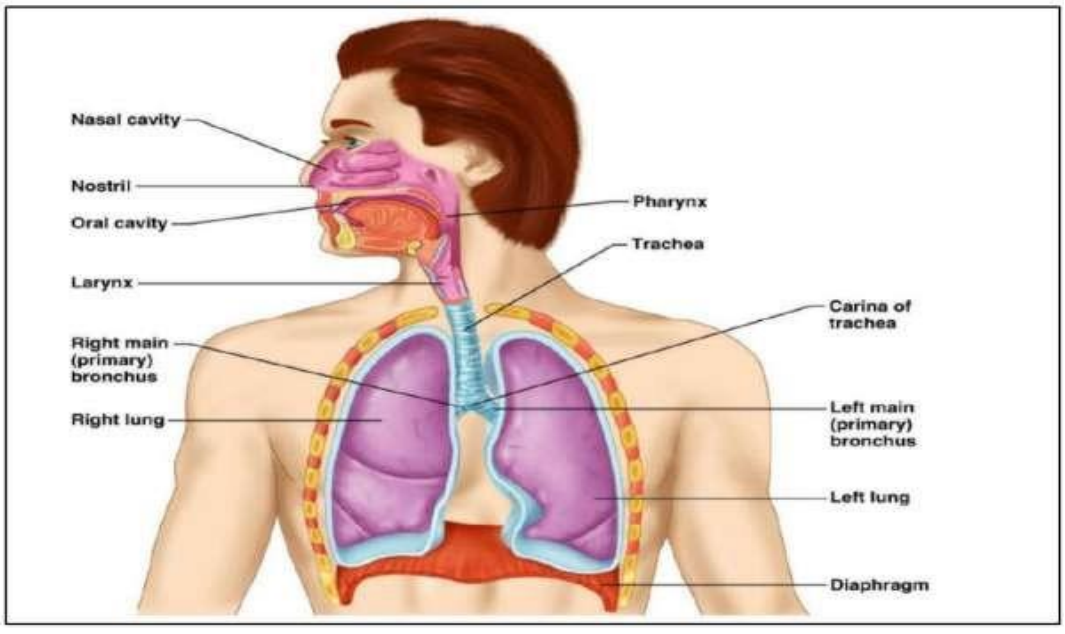
Çalışmamız teorik ve deneysel bölümlerden oluşacaktır. Teorik kısım kapsamlı bir literatür taramasına dayanacaktır. Bu kapsamda tez içeriğinde gerekli görülen teorik bilgiler, konu ile ilgili daha önce yapılmış bilimsel çalışmalara ulaşılarak toplanacaktır. Basılı kitaplar, basılı süreli yayınlar, e-kitaplar, elektronik süreli yayınlar, kütüphane veri tabanları ve üniversite veri tabanlarından bilimsel çalışmalara erişim öngörülmektedir. Bu çalışmanın hatırlatılması için araştırma şu şekilde yapılandırılmıştır: Bölüm 2, Solunum sistemi ve stafilokok konusuna bir giriş sağlar. Bölüm 3, bu çalışmada kullanılan materyal ve yöntemlerden oluşmaktadır. Bölüm 4, elde edilen sonuçları tartışmalarıyla birlikte listelerken, Bölüm 5 çalışmayı sonuçlar ve gelecekteki çalışma önerileriyle tamamlamaktadır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Bu bölüm, solunum sistemi ve anatomisi, Trakea, Akciğerler, Stafilokok, Apse ve Selülitin alt solunum yolu üst hava yolunun bir incelemesini içerir. Bu bölüm ayrıca risk faktörleri ve solunum sistemi enfeksiyonu hakkında tartışmayı da içermektedir.

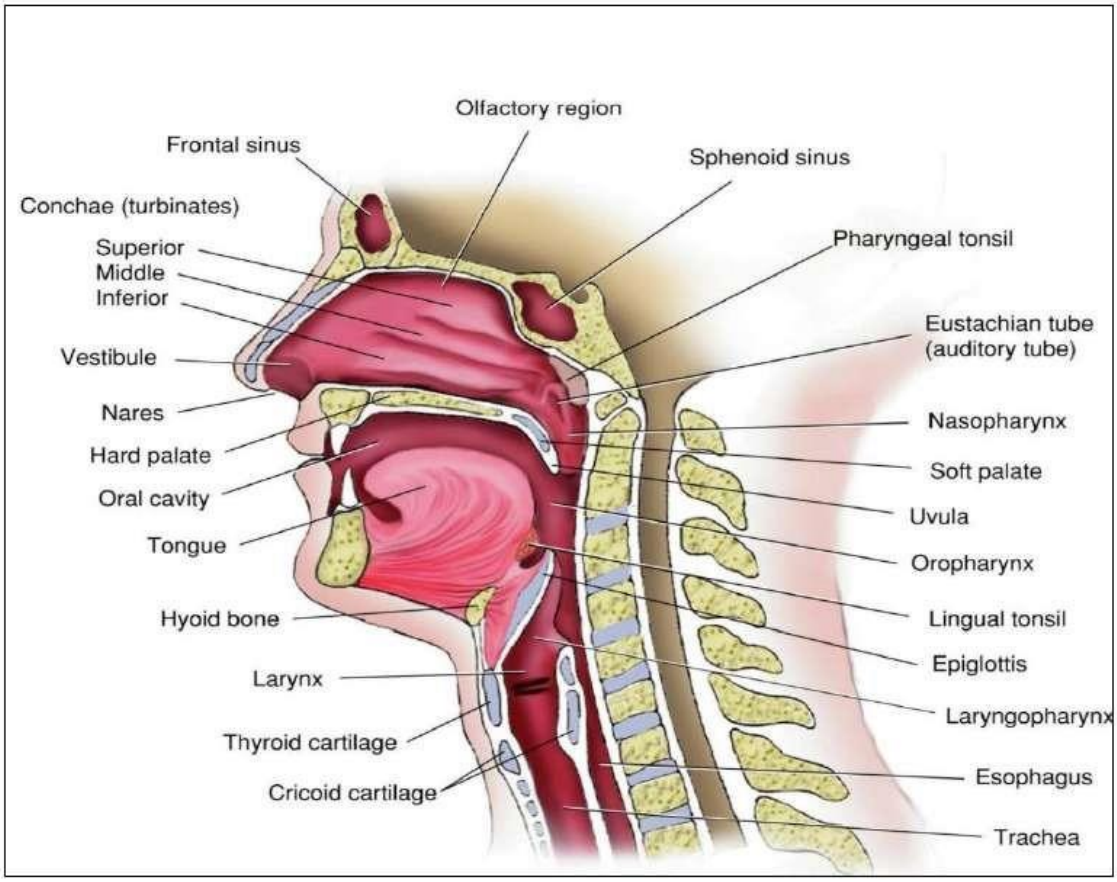
2.1 Solunum Sisteminin Anatomisi

Genel olarak solunum sistemi, küçük tüplerden oluşan küçük bir tüpe sahiptir. Dış burun deliklerinden burun boşluğuna, nazaofarenks ve laringofarenkse doğru başlar. Daha sonra gırtlak ve soluk borusuna birincil bronşlara doğru gider. Daha sonra sekonder bronşlardan üçüncül bronşlara, bronşiyollere ve alveolar keselere doğru akciğerlere hareket eder ve alveollerle biter (Lawson *et al.* 2018). Solunum sisteminin her bir bölümünün önemi nedeniyle, aşağıdaki bölümlerde trakea ve akciğerlerin alt solunum yolu ve üst solunum yolu ayrıntılı olarak açıklanacaktır. Ancak Şekil 2.1, solunum sisteminin anatomisini göstermektedir (Ahookhosh *et al.* 2020).



Şekil 2.1 Solunum sistemi anatomisi (Jaeger *et al.* 2019)

Alt solunum yolunun asıl önemi trakeaya sahip olmasıdır. Her birinin, Şekil 2.2'de gösterildiği gibi alveol adı verilen hava keselerinde biten ikincil ve üçüncül bronşları vardır. Sistem, soluduğumuz havayı ısıtmak ve temizlemek için çalışır.



Şekil 2.2 Üst solunum yolunun ana bölümleri (Jaeger *et al.* 2019)

Akciğerler süngere yakın yumuşak doku organlarıdır. Akciğerler, gaz değişimi sırasında kanın girip çıkmasını sağlamayı kontrol eder. Bu gazlar karbondioksite oksijen ve nitrojen olarak ve bazen de su olarak gelir. Akciğerin göğüs kafesinde birbirine yakın iki tarafı vardır. Bunun içerisinde biri hava parçacıklarını alır ve diğeri onu dışarı atar. Akciğer, şekil olarak bir balon gibidir. Akış için atmosfer basıncını tüketir. Basıncı kullanarak kaslar, sağ taraftaki boşluk ile dışarı çıkan havayı dışarıatar. Sağ taraf, sol taraftakilerden biraz daha küçüktür (Ahookhosh *et al.* 2020).

2.2 Üst Solunum Yolu Enfeksiyonu

Üst solunum yolu enfeksiyonu (URTI), burun, sinüsler, farinks, gırtlak veya trakea dahil olmak üzere üst solunum yollarını içeren akut bir enfeksiyonun neden olduğu bir hastalıktır. Bu genellikle burun tıkanıklığı, boğaz ağrısı, bademcik iltihabı, farenjit, larenjit, sinüzit, orta kulak iltihabı ve soğuk algınlığını içerir (Thomas and Bomar 2020). Çoğu enfeksiyon doğası gereği viraldir ve diğer durumlarda neden bakteriyeldir. URTI'ler ayrıca mantar veya helmintik kökenli olabilir, ancak bunlar daha az yaygındır (Chonmaitree *et al.* 2017).

2.2.1 Sınıflandırma

Bir URTI, iltihaplı alana göre sınıflandırılabilir. Rinit, nazal mukozayı etkilerken, rinosinüzit veya sinüzit, burun ve frontal, etmoid, maksiller ve sfenoid sinüsler dahil olmak üzere paranazal sinüsleri etkiler. Nazofarenjit (rinofarenjit veya soğuk algınlığı) genel olarak burun deliklerini, farenks, hipofarenks, küçük dil ve bademcikleri etkiler (Ieven *et al.* 2018). Farenjit burnu tutmadan farinks, hipofarenks, uvula ve bademcikleri iltihaplandırır. Benzer şekilde, epiglottit (supraglottit), gırtlak ve supraglottik alanın üst kısmını alevlendirir; larenjit gırtlakta; laringotracheitis larinks, trakea ve subglottik alandadır ve tracheitis trakea ve subglottik bölgededir (Chonmaitree *et al.* 2017).

2.2.2 Etiyoloji

Soğuk algınlığı, ekonomik ve sosyal olarak toplum üzerinde büyük bir yük olmaya devam etmektedir. En yaygın virüs rinovirüstür. Diğer virüsler arasında influenza virüsü, adenovirüs, enterovirüs ve solunum sinsityal virüsü bulunur. Bakteriler, ani başlangıçlı farenjit sunumlarının kabaca %15'ine neden olabilir. En yaygın olanları *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* ve *Moraxella catarrhalis*'tir. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, gram negatif organizmalar dahil diğer organizmalardır (Hamilos 2019).

2.2.3 URTI için risk faktörleri

Çocuklarla yakın temas: hem kreşler hem de okullar URTI riskini artırır (Troeger *et al.* 2017). Tıbbi bozukluk olarak astımı ve alerjik riniti olan kişilerde URTI geliştirme olasılığı daha yüksektir. Sigara içmek URTI için ortak bir risk faktörüdür Kistik fibroz, HIV, kortikosteroid kullanımı, transplantasyon ve splenektomi sonrası olanlar da dahil olmak üzere bağışıklığı baskılanmış bireyler URI için yüksek risk altındadır. Yüz dismorfik değişiklikleri veya nazal polipozis gibi anatomik anomaliler de UR riskini artırır (Troeger *et al.* 2017).

Farenjit ve bademcik iltihabı, faringeal ağrı (boğaz ağrısı) ve eritem klinik görünümü ve etkilenen dokuların şişmesi ile ilişkilidir. Mukoza zarını kaplayan iltihaplı hücrelerden oluşan eksüdalar ve peteşiyal kanamalar olabilir; ikincisi viral enfeksiyonlarda görülebilir ancak bakteriyel enfeksiyonlarda daha belirgin olma eğilimindedir. Viral enfeksiyonlar, özellikle herpes simpleks, mukozada hızla yırtılarak ülser bırakan veziküllerin oluşumuna da yol açabilir (Hamilos 2019).

Peritonsiller veya retrotonsiller apseler genellikle bademcik iltihabının bir komplikasyonudur. Lokal ağrı ile kendini gösterirler ve farenksin muayenesi,genellikle apse tarafından medial olarak yer değiştiren bir bademcik ile bademcik asimetrisini ortaya çıkarır. Bu enfeksiyon en çok 5 yaşından büyük çocuklarda vegenç erişkinlerde yaygındır (Ieven *et al.* 2018).

Retrofaringeal veya lateral faringeal apseler en sık olarak bebeklerde ve 5 yaşın altındaki çocuklarda görülür. Farenjitten veya faringeal duvarın yanlışlıkla yabancı bir cisim tarafından delinmesinden kaynaklanabilirler. Enfeksiyon, ağrı, yutma güçlüğü veya isteksizlik ile karakterizedir ve faringeal duvar damağa yakın öne doğru yer değiştirirse, fonasyonda bir değişiklik olur (Chonmaitree *et al.* 2017).

2.3 Orta Solunum Yolu Enfeksiyonu

Epiglottit genellikle ani başlayan boğaz ve boyun ağrısı, ateş ve inspiratuar stridor (gırtlakta yeterli miktarda havayı hareket ettirmede zorluk) ile karakterizedir. Ses tellerinin üzerindeki epiglot ve diğer yumuşak dokulardaki (supraglottik alan) iltihaplanma ve ödem nedeniyle fonasyon zorlaşır (boğuk fonasyon veya afoni) ve buna bağlı ağrı yutma güçlüğüne yol açar (Thomas and Bomar 2020).

Larenjit veya daha şiddetli formu olan krup, ani başlangıçlı (spazmodik krup) olabilir veya enfeksiyonun üst solunum yolundan yayılmasının bir sonucu olarak saatler veya birkaç gün içinde daha yavaş gelişebilir. Hastalık değişken ateş, inspiratuar stridor, boğuk fonasyon ve sert, havlayan bir öksürük ile karakterizedir. Epiglottitin aksine, inflamasyon ses tellerini de içeren subglottik laringeal yapılarda lokalizedir (Chonmaitree *et al.* 2017). Bazen göğüs ağrısına ve değişken derecelerde balgam üretimine neden olabilen daha derin, daha şiddetli bir öksürük ile ilişkili olduğu trakea (laringotracheitis) ve bronşlara (laringotrakeobronşit) uzanır (Ieven *et al.* 2018).

Bronşit veya trakeobronşit, enfeksiyonun birincil belirtisi veya üst solunum yolu dokularından yayılmanın bir sonucu olabilir. Başlangıçta genellikle belirgin olan ancak hastalık devam ettikçe pürülan hale gelebilen öksürük, değişken ateş ve balgam üretimi ile karakterizedir (Chonmaitree *et al.* 2017).

2.4 *Staphylococcus aureus*

2.4.1 Genel bilgiler

Staphylococcus aureus ilk olarak 1880'lerde Sir Alexander Ogston tarafından tanımlanmıştır. *S. aureus* coccus boyutu yaklaşık 0,5—1,0 gm çapındadır ve mikroskobik olarak çiftler, kısa zincirler veya üzüm benzeri kümeler halinde görünür.

S. aureus fakültatif anaerob, Gram pozitif, hareketsiz ve spor oluşturmayan bir mikroptur. Hücre duvarları peptidoglikan, teikoik asit ve diğer yüzey ilişkili proteinlerden oluşur (Enany *et al.* 2017). Kolonilerin sarı pigmentasyonu, stafiloksantin14 adı verilen karotenoidlerin üretiminden kaynaklanmaktadır. *S. aureus Firmicutes* filumuna, *Bacilli* sınıfına, *Bacillales* takımına, *Staphylococcaceae* familyasına, *Staphylococcus* cinsine aittir. Cins 53 tür ve 28 alt türden oluşur (Gomes–Fernandes *et al.* 2017). *S. aureus* dışında *S. epidermidis, S. hemolyticus, S. saprophyticus, S. lugdunensis* gibi başka stafilokoklar da vardır. Peptidoglikan hücre duvarının büyük kısmını oluşturur ve birbirine çapraz bağlı disakkarit zincirlerinden oluşan bir matristen oluşur. Aktif olarak bölünen hücrenin peptidoglikanı, endopeptidaz lizostafine duyarlıdır. Teikoik asit, *S. aureus* hücre duvarı ağırlığının yaklaşık %30 – 40'ını oluşturur ve peptidoglikan ile bağlantılıdır (Pal *et al.* 2020).

Ayrıca bazı *S. aureus* suşları da hücre yüzeylerini saran kapsül adı verilen bir polisakkarit tabakası ile kaplanmıştır. *S. aureus*, protrombine bağlanan ve fibrinojeni fibrine dönüştüren hücre dışı bir protein olan koagülazı açıkça belirtir. Ayrıca, katalaz pozitiftirler ve kanlı agar plakalarında büyüdüklerinde hemolize neden olurlar. *S. aureus,* insanların normal mikrobiyal florasının bir parçasıdır (Turner *et al.* 2019). Zararsız bir mikrop olarak gelişebileceği veya enfeksiyonlara neden olabileceği insan vücudundaki çeşitli ekolojik nişlerde yaşayabilir. Bakteri genellikle sağlıklı yetişkinlerin ön burun deliklerinde bulunur. Ayrıca köpek, kedi ve domuz gibi hayvanlarda da *S. aureus* belirtilmiştir (Ieven *et al.* 2018).

Stafilokok türleri arasında *S. aureus*, insanlar için açık ara en öldürücü ve patojeniktir. *Staphylococcus aureus,* laboratuar ortamında tek tek hücreler, çiftler veya düzensiz üzüm şekilli kümeler olarak görülebilen 1 μM gram pozitif bir hücredir (Gao *et al.* 2018). Bir pıhtılaştırıcı olarak tanımlanır: laktaz pozitif, sessiz, sportif olmayan ve fakültatif olarak anaerobik. Besin açısından zengin bir ortamda sarı koloniler halinde büyür ve *Staphylococcus aureus* olarak bilinir (Lund *et al.* 2018).

2.4.2 Klinik önemi

S. aureus, *Staphylococcus* cinsinin en yaygın insan patojenidir ve çeşitli insan hastalıklarının etiyolojik ajanıdır. *S. aureus*'un neden olduğu enfeksiyonlar, oluşum yeri ve mekanizmasına göre (1) deri ve yumuşak doku enfeksiyonları (SSTI'ler) ile ilişkili lokal enfeksiyonlar, (2) bakteriyemi, sepsis, pnömoni vb. gibi sistemik enfeksiyonlar, (3) diyaliz, intravasküler kateterler vb. kullanan hastalarla ilişkili invaziv cihaz girişi enfeksiyonu ve (4) toksik şok sendromu ve stafilokokal haşlanmış deri sendromu (SSSS) vb. gibi toksinle ilişkili hastalıklar olarak sınıflandırılabilir (Gomes—Fernandes *et al.* 2017).

S. aureus enfeksiyonlarıyla mücadeleye yönelik tedavisel müdahaleler, bilinen antibiyotiklerin çoğuna, özellikle metisiline ve diğer beta — laktam antibiyotiklere karşı direncin gelişmesiyle daha da karmaşık hale gelmiştir. Epidemiyolojik çalışmalar, metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşları da dahil olmak üzere *S. aureus* suşlarının ABD'deki ölümlerin yaklaşık %30'undan sorumlu olduğunu göstermiştir. MRSA ilk olarak 1961'de Birleşik Krallık'ta hastane patojeni olarak tanımlandı (Samadi *et al.* 2019).

Başlangıçta hastane ortamlarıyla sınırlı olduğu düşünülen MRSA, 1980 yılında ABD'de toplum içinde tanımlanmıştır. O zamandan beri, toplum içinde ve dünyanın diğer bölgelerindeki hastanelerde MRSA suşları tanımlanmıştır (Kim *et al.* 2020). MRSA hakkında artan bilince rağmen, bakteri çoğu Avrupa ülkesinde ana halk sağlığı önceliği olmaya devam etmektedir. MRSA suşlarının neden olduğu enfeksiyonlar genellikle iki gruba ayrılır: hastane ile ilişkili MRSA (HA-MRSA) ve toplumla ilişkili MRSA (CA-MRSA). Bu enfeksiyonları gruplandırmak için farklı kılavuzlar benimsenmiştir (Li *et al.* 2019). Genel olarak, bu gruplandırmalar, MRSA enfeksiyonuyla mücadele etmek için gereken antibiyotik rejimini belirlemek için gereklidir. HA-MRSA enfeksiyonları, CA-MRSA enfeksiyonlarına kıyasla daha kapsamlı ve geniş spektrumlu antibiyotik tedavisine ihtiyaç duyar. Başlangıçta HA- MRSA suşları ile CA-MRSA suşlarının epidemiyolojik olarak birbirinden farklı olduğu düşünülmüştür (Kramer *et al.* 2019).

Ancak USA300 gibi CA-MRSA suşları hastaneye taşınmış ve hastaneyle ilişkili bir suş olarak kendini kanıtlamıştır. HA-MRSA suşları invaziv enfeksiyonlara neden olurken, CA-MRSA suşları deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından büyük ölçüde sorumludur (Li *et al.* 2019). Bununla birlikte, CA-MRSA suşları daha invaziv enfeksiyonlarda da endikedir. HA-MRSA ve CA-MRSA enfeksiyonlarından sorumlu *S. aureus* suşları, onları birbirinden benzersiz kılan belirli özelliklere sahiptir. CA- MRSA suşlarının P — laktam antibiyotikler dışındaki antimikrobiyallere karşı artanduyarlılığı, bu suşların bir stafilokokal kaset kromozomu *mec* (SCCmec) elemanı (tip IV) içermesidir. Öte yandan HA-MRSA suşları tip I, II ve III SCCmec içerir. Ayrıca CA- MRSA suşları, HA-MRSA suşlarında bulunmayan Panton-Valentine lökositini (PVL) kodlayan genlere sahiptir (Lund *et al.* 2018).

S. aureus'un bulaşıcı bir mikrop olarak başarısı, bir dizi yeteneğe sahip olduğunu yansıtır. Bu yetenekler, cansız nesneler üzerinde uzun süre hayatta kalmalarını, etkin bir şekilde kolonileşmelerini ve konukçusunda asemptomatik bir mikrop olarak var olmalarını sağlar. Ayrıca, virülans faktörlerinin ifadesi, konak savunma sisteminin etkilerini azaltırken virülansını artırabildiğini ima eder (Gao *et al.* 2018).

2.4.3 *S. aureus*'un moleküler yazımı

S. aureus izolatlarının karakterizasyonu, özellikle MRSA suşları için epidemik yayılım araştırması sırasında genetik akrabalıklarını belirlemek ve müdahale geliştirmek için önemlidir. *S. aureus* oldukça klonal bir tür olduğundan, kromozom üzerindeki kodlayan veya kodlamayan bölgelerdeki polimorfizmler, izolatların farklı klonal kompleksler halinde büyük ölçüde uyumlu bir şekilde sınıflandırılmasına izin verecektir (Pal *et al.* 2020). Son moleküler teknolojinin gelişmesiyle birlikte, geleneksel fenotip tiplemenin yerini alacak daha fazla moleküler tipleme yöntemi geliştirilmiştir (Abdulgader *et al.* 2015). Uygun bir moleküler yazım yönteminin (veya yöntemlerinin) seçimi, büyük ölçüde çalışma sorusuna, epidemiyolojik arka plana, zamana ve gerekli olan coğrafi çözünürlüğe bağlıdır (Gomes–Fernandes *et al.* 2017).

Salgın araştırmaları için, darbeli alan jel elektroforezi (PFGE), çoklu lokusdeğişken sayı tandem tekrarı (VNTR) analizi/parmak izi, spa tiplemesi, tam genom dizilimi (WGS) gibi oldukça ayrımcı yöntemler önerilmiştir. PFGE'nin MLVA ile değiştirilmesi eğilimi mevcuttur. Son yıllarda *S. aureus* için sadece yüksek bir ayırt etme yeteneği sağlamakla kalmayıp aynı zamanda filogenetik sonuçlara da izin veren iyileştirilmiş MLVA yöntemleri geliştirilmiştir (Quadri and Hock 2016). *Spa* yazarak yazma, çok yönlü klinik kullanıma sahip, kolay, ucuz ve hızlı bir yazma yöntemidir. Hastane laboratuvar personeli, spa tipleme sonuçlarına göre kendi veri tabanlarını oluşturabilir. Geçen yıl, WGS kullanan hastanelerde MRSA salgınlarına ilişkin birkaç çalışma rapor edilmiştir. Bu çalışma, bir salgın sırasında bakterilerin hastalar arasında yayılmasını tanımlayabilmek için *S. aureus* genomları arasında yeterli varyasyonu tanımladı (Kramer *et al.* 2019).

Bölgesel (ülke içi) düzeyde, suşların farklı hastaneler arasındaki dağılımının anlaşılması, tek kurumlarda mikro epidemiyoloji araştırmasını tamamlamaktadır. Bu amaçla, MLST ve spa tiplemesi yeterli ayrıntıyı sağlayacaktır. Maliyet nedenleriyle kaplıca yazımı, bölgesel ve ulusal MRSA sürveyans şemaları için birincil tiplendirme yöntemlerinden biri haline gelmiştir (Samadi *et al.* 2019).

MLST, temizlik genleri içindeki genomik varyasyonun değerlendirilmesine dayanan moleküler bir yazım yöntemidir. *S. aureus* izolatlarının karakterizasyonu için MLST, karbamat kinaz (arcC), shikimat dehidrojenaz (aroE), gliserol kinaz (glpF), guanilat kinaz (gmk), fosfataz asetiltransferaz (pta), triosesfonat izomeraz (tpi) ve asetil \ koenzim A asetiltransferaz (yqiL) olmak üzere yedi temizlik geninin yaklaşık 450-500 bp dahili fragmanının dizilenmesine dayanır (Kim *et al.* 2020). Yedi gen için alelik sayılarının kombinasyonu, her *S. aureus* izolatı için dizi tipi (ST) adı verilen benzersiz bir alelik profili verir. Grupla ilgili ST'lere yönelik daha fazla analiz ve MLST klonal komplekslerine (MLSTCC) atama, eBURST kullanılarak gerçekleştirilir (Wang and Muir 2016).

Spa yazımı, *S. aureus* izolatlarının *spa* genindeki varyasyonlara dayanan bir moleküler tiplendirme yöntemidir. Bir moleküler yazım yöntemi olarak *spa* yazımının kullanılması,

tek bir genin dizilerinin amplifikasyonuna dayandığından basitliği nedeniyle oldukça çekicidir. Ayrıca, MLST'ye kıyasla ucuz ve daha az zahmetlidir. *spa* geni, bir sinyal dizisinden, IgG bağlanma alanlarından ve polimorfik X bölgesinden oluşan Stafilokok Protein A'yı kodlar. X bölgesi, genellikle 24bp uzunluğunda ardışık tekrarlardan oluşur. Bu tekrarlardaki farklılıklar, silmelere, tekrarlara ve nokta mutasyonlarına bağlanabilir. Bu genetik farklılıklar, *S. aureus* izolatlarını karakterize etmek için kullanılan benzersiz *spa* profilleri oluşturur. *Spa* tiplerinin genetik ilişkililiği, spa türlerini spa-klonal kompleksler (spa-CC'ler) halinde kümeleyen 'bazlı tekrarlama modeli' (BURP) algoritması kullanılarak çıkarılır (Quadri and Hock 2016).

2.4.4 *S. aureus*'un genomik karakterizasyonu

S. aureus'un ilk tam genomları 2001'de dizilendi. O zamandan beri, en az 52 tam dizili genom, binlerce taslak veya eksik birleştirilmiş genomla birlikte kamu veritabanında kullanılabilir hale geldi. Çoğu *S. aureus* genomunun boyutu yaklaşık 2,8 Mbp'dir ve dizili tüm suşların genomları çok benzer bir mimariye sahiptir (Li *et al.* 2019). *S. aureus* genomu, — çekirdek genom ve tüm suşlarda değişken olan bir aksesuar genomu adlandıran tüm suşlarda bulunanyüksek derecede korunan bir genden meydana gelmektedir. Çekirdek genom yaklaşık 2,3 Mbp büyüklüğündedir vetemizlik genlerini, metabolik fonksiyonlar için gerekli genleri ve bir dizi korunmuş virülans genini içerir (Enany *et al.* 2017).

Üç genomik ada ailesi, ySaa, ySaP ve ySay, kromozom üzerinde bulunur ve neredeyse tüm *S. aureus* suşlarında bulunur (Prince 2013). γSaβ, bir serin proteaz kümesini (*spl* kümesi) ve bir enterotoksin kümesini kodlarken γSaα, setcluster şeklinde adlandırılan bir stafilokok süperantijen benzeri protein kümesini ve bir lipoproteinler kümesi (*lpl* kümesi) için kodlamaktadır. γSaγ genomik adaları, fenolde çözünür modülinleri (PSM'ler) kodlayan genleri ve γSaα'da açıklanana benzer yeni tip enterotoksin benzeri toksin (SEI) genleri kümesini içermektedir (Gomes—Fernandes *et al.* 2017).

2.4.5 Virülans faktörleri ve hücre dışı enzimler

Stafilokoklar, hastalık durumunun desteklenmesinde rol oynayan çok sayıda madde üretir. Bu virülans faktörleri, hem salgılanan toksinler gibi ekzoproteinleri hem de patogenezde çeşitli roller oynayan ancak yüzey proteinleri gibi konakçı dokulara doğrudan toksisite vermeyen faktörleri içerir. Stafilokoklarla genetik manipülasyon yapma yeteneğimiz geliştikçe, çeşitli virülans faktörlerine atfedilen roller hakkındaki anlayışımız da gelişti (Abdulgader *et al.* 2015). Yine de, bu anlayış eksik ve çoğu virülans faktörü için önerilen roller spekülatif kalır. En geniş anlamda, bir bakteri tarafından üretilen, büyüme için gerekli (veya yararlı) olmayan ancak simbiyotik olmayan bir şekilde konakçı organizma içinde veya üzerinde hayatta kalmasına izin veren herhangi bir faktör, bir virülans faktörü olarak kabul edilecektir (Pal *et al.* 2020).

S. aureus'un kolonizasyon sürecini başlatan konak hücre yüzeyine bağlanmasına birkaç yapıştırıcı aracılık eder (Kim *et al.* 2020). *S. aureus* yapıştırıcılarının bir ana sınıfı, spesifik olarak plazma veya hücre dışı matris (ECM) bileşenlerine bağlanan ve toplu olarak yapışkan matris moleküllerini tanıyan mikrobiyal yüzey bileşeni olarak adlandırılan hücre peptidoglikanlarına kovalent olarak sabitlenmiş proteinleri içerir. Bu moleküller, fibrinojen, fibronektin ve kollajenler dahil olmak üzere kan plazmasının en belirgin bileşenlerini tanır (Kim *et al.* 2020, Samadi *et al.* 2019).

Neredeyse tüm *S. aureus* suşları, nükleazlar, proteazlar, lipazlar, hiyalüronidaz ve kollajenaz dahil olmak üzere ekzotoksinler ve enzimler gibi bir grup ekzoprotein salgılar. Bu proteinlerin ana işlevi, lokal konak dokuyu bakteri gelişimiiçin gerekli besinlere dönüştürmek olabilir (Pal *et al.* 2020). *S. aureus*, aralarında α-hemolizin, β-hemolizin, γ-hemolizin, lökosidin ve Panton-Valentine lökosidin (PVL) bulunan birçok sitolitik toksin salgılar. α-hemolizin ökaryotik membrana sokulur ve ozmotik sitolize neden olan ve özellikle insan trombositleri ve monositlerine karşı sitolitik olan bir gözenek oluşturan bir β-namlusu içinde oligomerleşir, PVL lökositlere karşı yüksek bir afinite sergilerken, diğer iki bileşenli toksinler, γ-hemolizin ve lökosidin, sırasıyla eritrositler ve lökositler için sitotoksiktir (Wang and Muir 2016). *S. aureus*, toksik şok sendromu toksini-1 (TSST-1), stafilokokal enterotoksinleri ve eksfolyatif toksinleri içeren ek eksotoksin grubu üretir.

Bunlar arasında TSST-1 ve stafilokokal enterotoksinler, pirojenik toksin süperantijenleri olarak bilinen toksin grubuna aittir. Bu grubun en iyi karakterize edilen özelliği, bu toksinin T-lenfositlerin proliferasyonunu uyarma yeteneğini ifade eden süperantijenitedir (Lund *et al.* 2018).

S. aureus ayrıca doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık sistemi üzerinde derin etkileri olabilecek başka spesifik proteinlere de sahiptir. Bu tür proteinlerin örnekleri stafilokokal tamamlayıcı inhibitör, *S. aureus*'un kemotaksi inhibitör proteini, stafilokinaz, hücre dışı fibrinojen bağlayıcı protein, hücre dışı yapışma proteini ve formil peptit reseptörü benzeri-1 önleyici proteindir. *S. aureus*'un kemotaksi inhibe edici proteini ve formil peptit reseptörü benzeri-1 inhibitör proteini, kemo-çekici maddeler için nötrofil reseptörlerini bloke eder (Kobayashi *et al.* 2015). *S. aureus*'un virülansının genellikle çok faktörlü olduğu ve çeşitli virülans belirleyicilerininbirleşik etkisine bağlı olduğu kabul edilir. Bir istisna, sırasıyla toksik şok sendromu toksini, eksfolyatif toksinler A ve B ve farklı stafilokokal enterotoksinlerin neden olduğu toksin şok sendromu ve stafilokok gıda zehirlenmesi gibi toksinlerdir (Enany *et al.* 2017).

Stafilokokların insan plazması üzerindeki koagülaz aktivitesi, *S. aureus*'u *S. epidermidis*'ten ayırt etmek için ana kriter olarak alınmıştır, ancak bazı *S. aureus* suşları transkripsiyonel veya transkripsiyonel kusurların bir sonucu olarak koagülaz negatif patern gösterir (Mekonnen *et al.* 2019). Koagülaz protrombine bağlanır ve proteolitik olmayan bir şekilde onu stafilotrombin kompleksine dönüştürür ve bu daha sonra çözünür fibrinojeni fibrine dönüştürür. Koagülazın diğer fibrinojen bağlayıcı stafilokok topaklanma faktörlerinden farklı olduğu *S. aureus* suşları 8 serotipe ayrılmıştır. Bu serotiplerin tip özgüllüğü, 270'e kadar amino asit kalıntısını kapsayan N-terminal değişken bölgesinde bulunur. Bu bölge aynı zamanda protrombine bağlanmadan da sorumludur. 27 amino asit kalıntısının her biri 5 — 8 tekrar içeren C- terminal bölgesi daha sabittir ve fibrinojene bağlanmadan sorumludur (Prince 2013).

Stafilokoklar birkaç lipid hidrolize edici enzim üretir. Biyokimyasal olarak bu enzim grubu gliserol ester hidolazlardır. Bu lipoliz, lipaz, esterazlar ve fosfatidaz olarak

sınıflandırılan üç enzime bağlıdır, neredeyse tüm insan stafilokokları doğada lipolitiktir (Mekonnen *et al.* 2019).

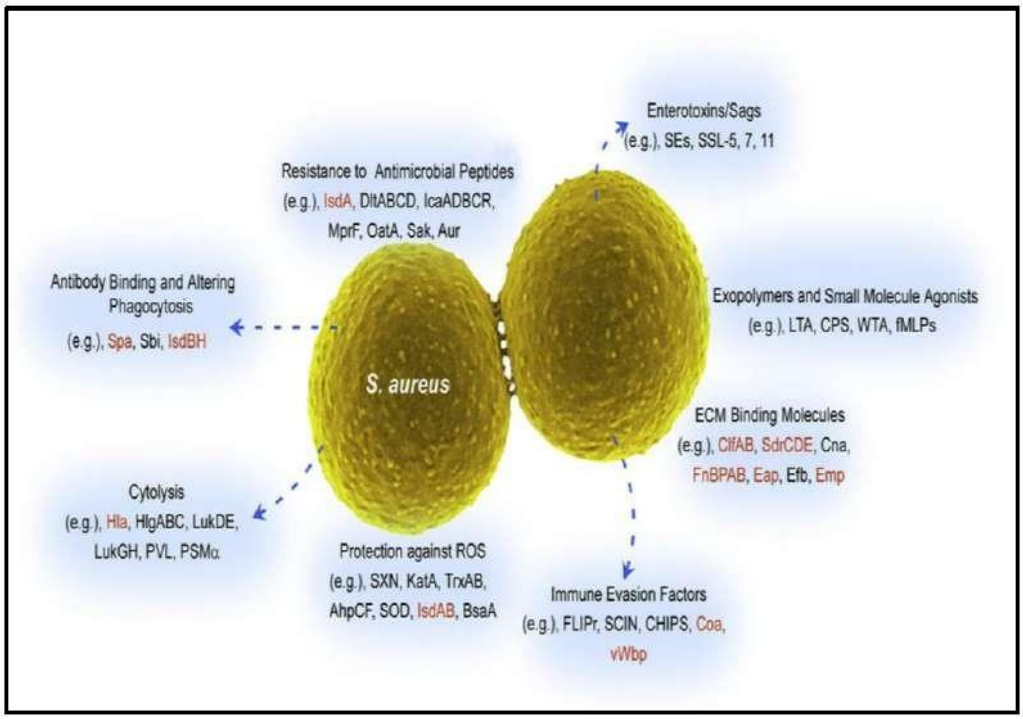
Stafilokok hücre dışı β – laktamazlar, moleküler kütle 28,8 kDa olan 257 amino asit içerir ve penisilinin β — laktam halkasını hidrolize ederek inaktif forma dönüştürerek stafilokokları penisiline dirençli hale getirir. β — laktamazlar ya membrana bağlı veya ortama salınmış olarak bulunur. Ayrıntılı yapısal analizlerden,β – laktamazların serin proteazlar gibi tripsin benzeri olduğu görülmektedir. Prensipolarak, β — laktamların laktam amid bağının bir serin-ester bağlı açil ara ürünü yardımıyla parçalanmasını katalize ederler (Li *et al.* 2019).

Toksik şok sendromu, *S. aureus*'un nadir görülen ancak hayatı tehdit eden bir komplikasyonudur ve ne yazık ki küçük çocuklardaküçük yanık vakalarında ortaya çıkar. Başlıca özellikleri ishal, döküntü, miyalji, hipotansiyon ve konfüzyondur. Her zaman TSS'nin farkına varınız çünkü erken tedavi edilmezse, bağışıklık sisteminin toksin tarafından aşırı aktivasyonu (TSST-1) ve bunun sonucunda birden fazla organ üzerindeki etkiler nedeniyle ölüm oranı çok yüksektir. Tedavisi, taze donmuş plazma, kan veya spesifik gama globülinden stafilokokları, sıvı dengesini ve hemodinamik desteği ve anti-TSS antikorlarını çıkarmak için antibiyotiklerle yapılır (Prince 2013).

2.4.6 Patogenez

Patogenez için gerekli olan *S. aureus,* bakterilerin polisakkarit kapsülü tarafından korunabildiği, tamamlandığında kavramayı önleyen ve böylece fagositozdan kaçan bir bakteridir. Ayrıca sitolitik toksinler ve doku bölücü enzimler de salgılayabilir (Mekonnen *et al.* 2019). Ek olarak, *Staphylococcus aureus*, konakçı hücreler ve hücre dışı matris (ECM) ile etkileşimlere aracılık eden çok sayıda yapışma faktörünü ifade ederek verimli kolonizasyona izin verebilir (Eibach *et al.* 2019). *Staphylococcus aureus,* antimikrobiyal peptitlere, takviye rejimine ve makrofaj hücre alımına ve eylemlerine karşı stratejiler geliştirmiştir ve bunların tümü, konağın doğal bağışıklık tepkisine karşı stratejilerdir (Lund *et al.* 2018).

Staphylococcus aureus, hastalığın virülansına ve patogenezine katkıda bulunan çok sayıda molekül türü üretebilir. Bu moleküllerin birçoğu kist oluşumu ile ilişkilendirilmiştir (Prince 2013). AhpCF, C ve F alkil hidroperoksit indirgeme alt birimleri; Ur, oreolisin. BsaA, glutatyon peroksidaz; Stafilokokal protein kemotaksisinin inhibitörleri olan pullar (Li *et al.* 2019). Bağlayıcı ajan, Clf Cna, kolajen yapıştırıcı. Coa bir kan pıhtısıdır. Kapsül, Eap Kapsül, Hücre Dışı Yapışma Proteini; Efb, hücre dışı fibrinojen bağlayıcı protein; FLIPr, formil reseptörü benzeri peptit benzeri inhibe edici protein 1; fMLP, N-formil-metionil-lusil-fenilalanin; FnBPAB, fibronektin A ve B bağlayıcı protein; Yaşasın hemoliziniz. HIgABC'nin A, B ve C alt birimleri ve gama-hemoliz; IcaADBCR, A, D, B, C ve R hücreleri arasındaki yapışkan alt birimler; Demir ayarlı yüzey işaretleri ISD; katalaz; LTA, lipoik asit; Locke, lucocidin. Bir polipeptit direnç maddesi olan MprF; OatA, O-asetiltransferaz A; PSM, fenolde çözünür modül; PVL, Pantone Valentine Locosidin; Reaktif oksijen türleri; Sac, stafilokinaz. stafilokokal bir IgG bağlayıcı protein olan Sbi; SCIN, bir stafilokokal takviye inhibitörüdür (Kim *et al.* 2020, Samadi *et al.* 2019). Şekil 2.3 *Staphylococcus aureus* virülans moleküllerini göstermektedir (Kobayashi *et al.* 2015).



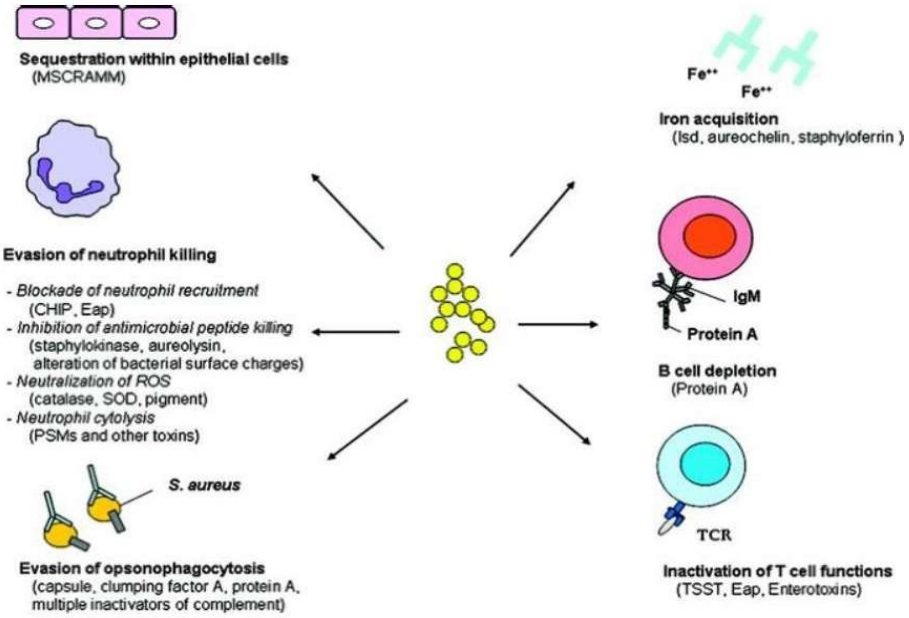
Şekil 2.3 *Staphylococcus aureus* virülans molekülleri (Kobayashi *et al.* 2015)

Harici bir kaynaktan edinilen *S. aureus,* açık bir yaraya aşılandığında enfeksiyon nedeni olabilir. Daha yaygın olarak, insan konakçı, cildini veya mukozal yüzeyini kolonize eden bakteriler tarafından enfekte edilir (Kates *et al.* 2018). *S. aureus*'u barındıran mukozal yüzeyler arasında burun, boğaz, vajinal duvar ve GI yolu bulunur. Burun taşıma muhtemelen en önemlisidir, çünkü burun toplama bakteriyi diğer vücut yüzeylerine ve diğer konakçılara etkili bir şekilde yayabilir (Wang *et al.* 2015). Dikkat çekici bir şekilde, bireylerin %20'si kalıcı olarak burundakolonizedir ve %30'u geçici olarak kolonizedir. Kalıcı ve geçici taşıyıcılığın tanımı çalışmaya göre değişir, ancak genellikle bir burun sürüntüsü üzerinde tek bir pozitif kültür (geçici) ile 1 hafta arayla en az iki ardışık pozitif kültür (kalıcı) olarak tanımlanır. Kolonizasyon ayrıca küçük çocuklar ve HIV ve diyabetli hastalarda daha sık görülür (Enany *et al.* 2017).

Kolonizasyon bir kişiyi *S. aureus* enfeksiyonuna yatkın hale getirse de, bir çalışma hastane enfeksiyonundan sonra kolonize bireylerin kolonize olmayan bireylere kıyasla daha az şiddetli *S. aureus* hastalığına sahip olduğunu göstermektedir (Mekonnen *et al.* 2019). Bu, kolonizasyonun, sonraki enfeksiyonların daha hafif hale gelmesi için düşük seviyeli adaptif bağışıklığı indükleyip indükleyemeyeceği sorusunu akla getiriyor. Bu görüşü destekleyen bir çalışma, Toksik Şok Sendromu Toksini (TSST) barındıran *S. aureus*'un taşınmasının, toksine karşı antikor üretimi ve bakımı ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Lehman *et al.* 2019). *S. aureus* için, insan burnunun kolonizasyonu, yalnızca nazal epitel hücrelerine yapışmayı değil, aynı zamanda konakçı savunması ve rekabet eden yerleşik mikroorganizmalarla başa çıkma yeteneğini de gerektiren önemli bir zorluk sunar. *S. aureus*, toplu olarak yapışkan matris moleküllerini tanıyan mikrobiyal yüzey bileşenleri olarak adlandırılan çeşitli molekülleri kullanarak konakçı epitel hücrelerine yapışır ve onları istila eder (Prince 2013). Bir dizi bakteriyel ürünün (MSCRAMM dahil) nazal epitel hücrelerine yapışma ve tutunma için önemli olduğu öne sürülmüştür, ancak iki faktörün (topaklanma faktörü B ve duvarla ilişkili teikoik asit) insanların ve sıçanların nazal kolonizasyonunda şimdiye kadar kanıtlanmış rolleri vardır. (Kramer *et al.* 2019).

Kolonizasyon sağlandıktan sonra, *S. aureus* boğaz, kulak, ağız ve sinüsün yakınına yerleştirilir; yine de, şaşırtıcı bir şekilde nazal taşıyıcılık nadiren bu bölgelerin açık

enfeksiyonuna yol açar. *S. aureus* düzenlemesi çalışmaları, kolonizasyon sırasında birçok *S. aureus* virülans geninin aşağı regüle edilebileceğini göstermektedir (Goudarzi *et al.* 2016). *S. aureus* kolonizasyonunu ve virülansını kontrol eden genler arasında en iyi bilinen küresel düzenleyici, birçok mükemmel incelemede ayrıntılı olarak açıklanan aksesuar gen düzenleyici agr'dir (Wang *et al.* 2015). Kısaca, *agr*, bir dizi virülans ve kolonize edici faktörlerin ifadesini doğrudan kontrol eden bir çekirdek algılama lokusudur. *agr*'nin aşağı regülasyonu, konak istilası ile *agr*'nin kolonizasyonu ve aktivasyonu ile ilişkilidir. O zaman kritik bir soru, enfeksiyonu başlatmak için *S. aureus* virülans genlerinin aktivasyonunu neyin tetiklediğidir (Wang *et al.* 2015). *S. aureus*'un genel olarak hem konakçı hücrelerin içinde hem de dışında iyi bir şekilde hayatta kaldığı kabul edilmiştir. Hücre dışı ortamda, *S. aureus*, doğrudan veya dolaylı olarak *S. aureus*'un öldürülmesine veya Fc veya kompleman reseptörleri yoluyla fagositler tarafından alınmasına yol açan kompleman ve antikorlar tarafından opsonizasyonun üstesinden gelmelidir. *S. aureus*, yüzeyinde bir kapsül, kümelenme faktörü A, protein A ve bir dizi kompleman inhibitörünü eksprese ederek opsonofagositozdan kaçınır; bunların tümü, konakçı opsoninlerin bakteriye bağlanmasını veya yıkım için hedeflemesini inaktive eder veya engeller (Şekil 2.4) (Gomes – Fernandes *et al.* 2017).



Şekil 2.4 Enfeksiyon esnasında *S. aureus* hayatta kalma stratejileri (Gomes-Fernandes *et al.* 2017)

S. aureus epitel hücreleri, endotel hücreleri ve hatta makrofajlar içinde barınabilir (Eibach *et al.* 2019). Buna karşılık, nötrofiller, nötrofil işlev bozukluğu olan hastalarda (örneğin, kronik granülomatöz hastalık ve lökosit adezyon eksikliği) artan invaziv *S. aureus* enfeksiyonları insidansının kanıtladığı gibi, *S. aureus*'a karşı daha zorlu bir mücadele sunar. *S. aureus*, nötrofil öldürmeye direnmek için bir dizi strateji uygular (Gao *et al.* 2018). İlk olarak, sırasıyla kemotaktik faktörlerin nötrofil tanımasını ve endotelyal yapışma molekülü ICAM-1'e nötrofil bağlanmasını bloke eden kemotaksi önleyici protein (CHIP) ve hücre dışı yapışma proteini (Eap) olmak üzere iki molekül salgılar (Zarazaga *et al.* 2018). ICAM-1 bağlanmasının inhibisyonu, lökosit yapışmasını, diyapadezi ve kan dolaşımından enfeksiyon bölgesine ekstravazasyonu önler (Pal *et al.* 2020).

Konağın immün savunmasından kaçınmanın yanı sıra, insan konakta bakteriyel hayatta kalma, besinlerin, özellikle de demirin başarılı bir şekildeedinilmesine bağlıdır (Kates *et al.* 2018). Enfeksiyon sırasında demirin %95'i konakçı hücrelerde sekestre edilir ve serum demiri çoğunlukla kolayca erişilemeyen konak proteinlere bağlanır. *S. aureus*, demir açlığı sırasında yüksek afiniteli demir bağlayıcı bileşikler (aureochelin ve staphyloferrin) salgılar (Abdulgader *et al.* 2015). Ek olarak, düşük demiri algıladıktan sonra, *S. aureus*, hücre yüzeyinde hem ve haptoglobinin yakalanmasına, demir kompleksinin plazma zarı boyunca taşınmasına ve ardından sitoplazma içinde heme'nin oksidatif bozunmasına izin veren bir demir edinme programının (isd) transkripsiyonunu başlatır (Li *et al.* 2019).

MRSA, farklı epidemiyoloji, özellikle morbidite ve mortalite ile ilişkili olduğundan, *S. aureus* patogenezinde ayrı bir değerlendirmeyi hak etmektedir. Dikkat çekici bir şekilde, 2005 yılında MRSA'ya atfedilebilen istilacı hastalık ve ölümlerin sayısının, HIV'e atfedilen ölüm oranını geride bırakarak, Amerika Birleşik Devletleri'nde 94360 ve 18650 olduğu tahmin edilmektedir. MRSA, farklı ancakörtüşen popülasyonları hedef alan ve farklı hastalıklara neden olan, genotipik olarak farklı iki bakteri grubu olan HA-MRSA ve CA-MRSA'ya ayrılabilir (Arias *et al.* 2017).

MRSA ilk olarak 1960'larda ortaya çıktı, ancak 1990'larda özellikle hastane enfeksiyonlarının önemli bir nedeni haline geldiği yoğun bakım ünitesi ortamlarında giderek daha sorunlu hale geldi (Richards *et al.* 2015). HA-MRSA, bir (SCCmec tip I) veya çoklu antibiyotik direnç genlerini (SCCmec tip II ve III) kodlayan büyük stafilokok kromozom kasetlerini (SCCmec tip I-III) barındırır. Antibiyotiklere direnç, bakterinin antibiyotik kullanımının sık olduğu bir ortamda hayatta kalmasına izin vermiş olabilir (Kramer *et al.* 2019). İlginç bir şekilde, sağlık hizmeti ortamından çıkarıldığında HA-MRSA, predispozan koşulları olmayan bireylerde nadirenhastalıklara neden olur. Bu nedenle HA-MRSA'nın, yalnızca bakteriyel rekabetin antibiyotik basıncı ile sınırlı olduğu ortamlarda hayatta kalabilen daha az sağlam *S. aureus* suşlarını temsil ettiği öne sürülmüştür (Wang and Muir 2016).

Bu bakış açısını desteklemek için, HA-MRSA, metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) ile karşılaştırıldığında daha uzun bir üretim süresi gösterir (HA-MRSA için 30 dakikaya karşılık MSSA için 23 dakika). Küçük bir çalışmada, HA-MRSA suşları, nötrofiller tarafından öldürmeye karşı artan duyarlılık göstermiş olup farelere sistemik olarak uygulandığında daha az patojenikti. Bu genotipler, HA-MRSA'nın immünokompetan konakçılara yönelik görece patojenik olmayan doğasını açıklayabilse de, sağlık hizmeti ortamında HA-MRSA'nın hayatta kalması için bir agr^- veya karma agr^+ ve agr^- genotipinin faydalı olması mümkündür; agr^- genotipi, örneğin plastik borularda biyofilm oluşumunu ve proliferasyonu kolaylaştırabilir (Enany *et al.* 2017). Hekimler HA-MRSA'nın ortaya çıkardığı antibiyotik direnci sorunuyla boğuşmaya çalıştıkça, sağlık hizmeti ortamına sızan daha öldürücü CA-MRSA'nın raporları giderek artmaktadır. Bu göçün etkisi, daha agresif ve farklı kontrol ve tedavi stratejileri gerektirebileceğinden daha dikkatli bir izleme gerektirir (Kates *et al.* 2018).

1990'ların sonlarına kadar, MRSA enfeksiyonları büyük ölçüde bağışıklığı baskılanmış veya sağlık hizmetine maruz kalan bireylerle sınırlıydı. 1997'de dört sağlıklı çocuğun MRSA pnömonisi ve sepsisten ölümü, yeni bir MRSA tipinin gelişini müjdeledi (Richards *et al.* 2015). Kısa bir süre sonra, MRSA vakaları kıtalar arasında filizlendi; vakaların çoğu, HA-MRSA'dan belirgin şekilde farklı olan, küçük boyutlu bir Tip IV SCCmec kasetini paylaşan ve *Panton-Valentin Lökosidin* (PVL) için genleri kodlayan

birkaç klonal soyla sınırlıydı (Arias *et al.* 2017). CA-MRSA suşları, özellikle deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının insidansında dramatik bir artıştan sorumluydu ve nekrotizan pnömoni, nekrotizan fasiit ve miyozit gibi olağandışı derecede şiddetli birçok enfeksiyonun nedeniydi (Zarazaga *et al.* 2018). *S. aureus*'un klinik belirtilerindeki değişiklik, CA-MRSA enfeksiyonlarının daha virülent suşlar tarafından enfeksiyonu yansıttığı yönünde spekülasyonlara yol açtı. CA-MRSA ile MSSA virülansının karşılaştırmalı birkaç çalışması yapılmış olup tüm CA-MRSA klonlarının daha virülan olup olmadığı açık değildir (Richards *et al.* 2015). Bununla birlikte, bir CA-MRSA klonu olan USA300'ün özellikle başarılı olduğu kanıtlanmıştır, hızla yayılarak Amerika Birleşik Devletleri'nin çoğu bölgesinde baskın klon haline gelmiş olup Kanada ve Avrupa'da ortaya çıkmıştır. Birçok rapor USA300'ü kemik,deri ve yumuşak dokuda daha ciddi enfeksiyonlarla ilişkilendirmiştir (Dayan *et al.* 2016).

Epidemiyolojik bulgular, daha öldürücü bir fenotipi düşündürse de, dikkatle yorumlanmalıdır. Spesifik olarak, artan CA-MRSA hastalığı insidansı, 1) artan çevresel hayatta kalma (fomitler, evcil hayvanlar), 2) artan bulaşma, 3) daha sağlam kolonizasyon, 4) virülans genlerini aktive etmek için bakteri eşiğinin düşürülmesi ve 5) enfeksiyon esnasında artan patojeniteye bağlanabilir. USA300 salgınlarının çoklu analizleri, CA-MRSA klonunun cilt-cilt teması veya cilt-fomit teması yoluyla bulaşmayı arttırmış olabileceğini düşündürmektedir (Wang and Muir 2016, Li *et al.* 2019). CA-MRSA salgınının ana belirleyicisi olduğu öne sürülen varsayılan virülans faktörleri arasında en kapsamlı şekilde çalışılan PVL'dir. Birçok vaka serisinde şiddetli nekrotizan pnömoni, furunküloz ve şiddetli osteomiyelit ile ilişkilendirilmiştir (Zarazaga *et al.* 2018).

2.5 Biyofilm Dağılımı

Hücrelerin ayrılması, bir biyofilmin yaşam döngüsünün son adımıdır ve *S. aureus*'un yeni nişleri kolonize etmesine izin verir. Artan sıvı kayması gibi çevresel koşullardaki bozulmalar, biyofilm hücrelerinin kasıtsız bir şekilde dağılmasına neden olabilir. Bununla birlikte, *S. aureus* normalde biyofilm hücrelerinin çevreye salınmasını kolaylaştıran hem geniş spektrumlu hem de spesifik mekanizmalar dahil olmak üzere

kendi kendini kontrol eden süreçleri kullanır. Merakla, bumekanizmaların her birinin etkinliği, büyük ölçüde polimerik matrisin bileşimine bağlıdır (Dayan *et al.* 2016).

S. aureus'un geniş spektrumlu bir dağılım mekanizması, geç durağan faz sırasında d-amino asitlerin üretimidir. d-amino asitler, peptidoglikana dahil edilmekte olup ana matris proteini TasA'nın hücre duvarına bağlanmasını bozar (Eibach *et al.* 2019). Sonuç olarak, *ica* azalır ve biyofilm hücrelerinin kümeleri dağılır. D-amino asitlerin polimerik yüzeylere uygulanması da laboratuar ortamında *S. aureus* biyofilm oluşumunu azaltmak için yüksek bir etkinlik göstermiştir (Lehman *et al.* 2019).

2.6 *S. aureus* Arasında Antibiyotik Direnci

Birçok insan patojeninde olduğu gibi, antibiyotiğe dirençli *S. aureus*'un ortaya çıkması veya tanımlanması genellikle belirli bir antibiyotiğin ilk klinik veya tarımsal kullanımını takiben kısa bir süre içinde ortaya çıkar. Bakteriler, antibiyotik direnç genlerinin edinilmesine izin veren yatay gen transferinde etkili olduğu için bu şaşırtıcı değildir (Rolo *et al.* 2017). Ek olarak, antibiyotikler insanlar için yeni olsa da,bakteriler binlerce yıldır bu kimyasal savaş biçimine giriyor. Bir antibiyotik direnç fenotipine dayalı *S. aureus* suş tanımlamasının ilk ana tanımı, antibiyotik metisilineyanıt olarak olmuştur (Yahav *et al.* 2020).

Bugün, bir *S. aureus* izolatında başka bir özellik bildirilmediyse, mutlaka metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) veya metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) olarak belirlenecektir. Not olarak, MRSA genellikle yanlışlıkla "çoklu dirençli" olarak adlandırılmaktadır. Metisilin antibiyotik ilk olarak 1959'da tanıtılmış olup sadece 2 yıl sonra, 1961'de bir hastaneden ilk klinik MRSA izolatı tanımlandı (Sivaraman *et al.* 2021). Daha sonra metisilin direncinin, alternatif penisilin bağlayıcı protein PBP2a'yı kodlayan mecA geninin edinilmesinden kaynaklandığı bulundu. Ek olarak, PBP2a, diğer P-laktam antibiyotiklere direnç sağlamaktadır. MRSA, ilk ortaya çıkışından bu yana önemli bir küresel sağlık sorunu haline gelmiştir (Arias *et al.* 2017).

MRSA'nın ortaya çıkması ve yayılmasına yanıt olarak, vankomisin 1958'de Gıda ve İlaç İdaresi tarafından hızla takip edilmiş olup ciddi ve doğrulanmış MRSA enfeksiyonları için tercih edilen ilaç haline gelmiştir. 1997'de, *S. aureus* için ikinci büyük antibiyotik direnci tanımlaması, Japonya'da vankomisin ara dirençli *S. aureus* (VISA) suşu Mu50'nin bildirilmesiyle ortaya çıktı. VISA suşları vankomisine orta derecede dirençlidir; bu, yeni genlerin edinilmesinden değil, bunun yerine hücre duvarı metabolizmasını etkilemede sıklıkla yer alan mevcut genlerdeki mutasyonlarla koreledir (Bulitta *et al.* 2019).

Bu mutantlar tipik olarak daha kalın bir hücre duvarına ve daha fazla D-Ala-D- Ala vankomisin hedefine sahiptir, bu da vankomisini potansiyel olarak alt-inhibitör konsantrasyonlara seyreltmektedir. Michigan Eyaleti Sağlık Bakanlığı tarafından vankomisine dirençli ilk *S. aureus* (VRSA) suşu 2002 yılına kadar izole edilmemiştir. Bu suş, bir koenfeksiyon sırasında vankomisine dirençli bir Enterokoktan Tn1546'da bulunan vanA geninin alınmasından kaynaklanan bir MIC V 1024 pg/mL'ye sahipti (Egorov *et al.* 2020).

S. aureus'taki β-laktam direncinden başlıca iki farklı direnç mekanizması sorumludur: (1) izoksazolil-penisilinler dışındaki penisilinlere direnç sağlayan blaZ kodlu bir β-laktamaz tarafından enzimatik inaktivasyon veya (2) gen tarafından hedef bölge değişimi neredeyse tüm β-laktamlara direnç sağlayan ve *S. aureus*'taki (MRSA) metisilin direncinin genetik temeli olan mecA veya mecC genlerinin ürünleridir (Rezai *et al.* 2017). BlaZblalblaRl operonu Tn552 transpozonunda tanımlanmıştır. Bu transpozon veya bunun parçaları, insan ve hayvanlardan alınan *S. aureus*'un plazmitlerinde ve kromozomal DNA'sında tespit edildi (Eibach *et al.* 2019). mecA ve mecC genleri de mobil bir genetik element üzerinde bulunur. Bunlar "Stafilokok Kaset Kromozomu mec" (SCCmec) adı verilen hareketli bir genetik adanın parçasıdır. Şu anda, insanlardan ve hayvanlardan MRSA'da en az 13 farklı anaSCCmec elemanı türü artı çeşitli alt tipler tanımlanmıştır (Yahav *et al.* 2020). İki mec geni (mecA ve mecC), insan ve veteriner tıbbında terapötik uygulamalar için şu anda mevcut olan hemen hemen tüm β-laktam antibiyotiklere büyük ölçüde azaltılmış bir afinite sergileyen alternatif penisilin bağlayıcı proteinleri kodlar (Mekonnen *et al.* 2019).

MecA genleri hakkındaki çok sayıda verinin aksine, yakın zamanda tanımlanan mecC geni hakkında şu anda daha az bilgi bulunmaktadır. MecC geni ilk olarak insanlardan ve sığırlardan alınan *S. aureus*'ta bulunmuştur. Bu gen için daha fazla tarama, onu Fransa'daki sığırlardan alınan *S. aureus*'ta ve Norveç'teki bir kedide tanımladı (Jiang *et al.* 2019). Birleşik Krallık'tan yapılan bir araştırma, onubir köpek, kahverengi sıçanlar, bir tavşan, bir liman foku, koyun ve bir ispinozdan izole edilen *S. aureus*'ta tanımlamıştır. Çok sayıda yayın, insanlar ve hayvanlar arasında hem mecA hem de mecC taşıyan aynı özelliklere sahip MRSA suşlarının varlığını tanımlayarak, bu izolatların zoonotik bir geçişini düşündürür (Dayan *et al.* 2016).

2.7 Stafilokokların Laboratuvar Tanısı

İzolatların özellikleri, *Staphylococcus aureus*'u koagülaz negatif Staphylococcus'tan (KNS) ayırt etmek için önemlidir. *S. aureus* bakterilerini tanımlamak için hücreye bağlı agregasyon faktörü A proteini, hücre dışı pıhtılaşma ve termostabil nükleaz üretimi dahil olmak üzere çeşitli testler kullanılabilir. Ayrıca, son zamanlarda moleküler yöntemler geliştirilmiştir. Farklı çalışmalarda testlerin performansını karşılaştırmak zor olabilir çünkü farklı *S. aureus* suşları ve farklı KNS suşları dahil edilmiştir ve bunlar farklı şekillerde davranabilirler (Enany *et al.* 2017). Testin kalite kontrolü, pozitif ve negatif kontrol suşları kullanılarak veya ticari düzenlemelerde belirtildiği şekilde yapılmalıdır. Kalsiyum yokluğunda pıhtılaşmanın serbest plazma pıhtılaşması (hücre dışı) için tübüler pıhtılaşma testi (Wang ve Muir 2016). 4 saat ve 24 saat inkübasyondan sonra tavşan plazma tübüler pıhtılaşma testi ve tüp testi. *Staphylococcus aureus*'un rutin tanımlanması için standart bir test. 4 saat sonra negatif olan testler 24 saat içinde tekrar kontrol edilmelidir çünkü suşların küçük bir yüzdesinin pıhtı oluşturması 4 saatten fazla sürer (Gomes-Fernandes *et al.* 2017).

Staphylococcus schleiferi ve Staphylococcus intermedius dahil olmak üzere diğer bazı stafilokoklar da tübüler pıhtılaşma testlerinde olumlu sonuçlar gösterebilir, ancak bunlar insan enfeksiyonundan yaygın izolatlar değildir (Hu *et al.* 2016). Ayrıca nadir bulunan *S. aureus* suşları da pıhtılaşma testlerinde negatiftir. Rutin testler için, özellikle lateks aglütinasyon testleri olmak üzere artık daha hızlı testler yaygın olarak kullanılmaktadır.

Slayt pıhtılaşma testi bloke etme faktörü (pıhtılaşmaile ilişkili), hücrelere bağlı olması ve sadece fibrinojen gerektirmesi bakımından serbest kan pıhtılaşmasından farklıdır (Pal *et al.* 2020). Aglütinasyon faktörü için slayt aglütinasyon testi çok hızlıdır, ancak *S. aureus* suşlarının %15'e kadarı negatiftir, bu nedenle negatif izolatlar tüp aglütinasyon testi kullanılarak slayt testlerinde doğrulanmalıdır. *S. schleiferi* ve *Staphylococcus lugdunensis* gibi daha az yaygın olan stafilokok türlerinden bazıları, slayt pıhtılaşma testinde olumlu sonuçlar verebilir. Test, kolayca emülsiyonlaşmayan izolatlar için uygun değildir ve bağlayıcı ajan, büyük miktarlarda kapsül ile inhibe edilebilir (Rolo *et al.* 2017). Lateks aglütinasyon testleri, *S. aureus* protein A ve/veya bağlayıcı ajan için ticari lateks aglutinasyon testlerinin erken versiyonlarını tespit etti. Bu testlerin, biraz agregasyon faktörü ve protein A üreten bazı MRSA mikropları ile sorunları vardı (Goudarzi *et al.* 2016). Daha sonra lateks sonrası test formülleri protein A ve/veya topaklanma faktörü içermesine rağmen aynı zamanda CoNS ile de geçerek testlerin duyarlılığını arttırır. Ancak geri tepme nedeniyle bazı mahremiyet pahasına. Ayrıca aglütinasyon faktörünü içeren herhangi bir test S. lugdunensis ve S. schleiferi ile yanlış pozitif sonuçlar verebilir (Jiang *et al.* 2019).

DNaz Nükleaz ve Refrakter Nükleaz Testleri Deoksiribonükleaz (DNase) plakaları, izolatları taramak için uygulanabilir, ancak CoNS farklı miktarlarda DNaz ürettiği için pozitiflerin ek testlerle doğrulanması gerekir. *S. aureus*'u tanımlamak için termostabil nükleaz testleri kullanılabilir, ancak bazı nadir suşlar koagülopati içinnegatif olabilir. Refrakter nükleaz metan kromatik agar difüzyon yöntemi, özellikle kanda doğrudan testlerde kullanılmıştır, ancak bu yöntem çevreye bağımlıdır (Kim *et al.* 2020). Bir refrakter nükleaz bazlı lateks aglütinasyon testi de tarif edilmiştir.

Ticari biyokimyasal testler, *S. aureus*'un tanımlanmasını içeren birkaç ticari grup ve robotik cihaz bulunmaktadır (Hu *et al.* 2016). Bu testler iyi çalışsa da, hemostaz ve lateks aglütinasyonu gibi testlerden daha yavaş, teknik olarak zaman alıcı veya daha pahalıdır. Bu nedenle, *S. aureus*'un spesifik tanımlanmasında kullanılmaları daha az olasıdır. Buna karşılık, Staphychrom II testi, protrombin ve proteaz inhibitörlerinedayanan iki saatlik bir kromojenik testtir. Bir çalışmada, tübüler trombozdan %98,6 daha iyi duyarlılık ve %100 daha iyi özgüllük bildirilmiştir (Kates *et al.* 2018).

2.8 Kültür ve Doğrudan Yöntem

Proliferatif bakteriyel kan kültürlerinde *S. aureus*'u tanımlamak için açıklanan eski yöntemler arasında, mikrokokal nükleaz (MN) aktivitesinin ölçümü, özellikle *S. aureus* tarafından MN salgılanmasıdır. MN bir disülfid bağı içermez ve ısı denatürasyonundan sonra orijinal aktif formuna yeniden oluşturulabilir, bu nedenle termosikl olarak da bilinir. Pozitif kan kültürlerinde kemosentetik olarak dirençli nükleaz aktivitesini ölçerek kan kültürlerinde *S. aureus* bakterisini tanımlayan testler 50 yılı aşkın bir süre önce tanımlanmıştır. O zamandan beri, çalışmalarda nükleaz aktivitesinin sadece bakterilerle kültürlenmesine rağmen, birkaç rapor bu yaklaşımın değerini belgelemiştir (Lund *et al.* 2018).

Bununla birlikte, *S. aureus* için kan kültürü testi, Gram lekeli kan kültürü şişelerinde gram pozitif küme kokların (GPCC) varsayımsal olarak tanımlanmasıyla başlar, bu da pozitif bir sonucu gösterir, son alt kültür belirlemesi ve inkübasyonuçoğu GPCC pozitif kan kültürü yaygın iken gece boyu beklemelidir (Enany *et al.* 2017). Bir kan kültürü kontaminantı olan *S. epidermidis* olarak pıhtılaştırıcı negatif stafilokok (KNS) olarak tanımlanmasına rağmen, geç teşhis sıklıkla GPCC için pozitif kan kültürü olan hastalara deneysel antibiyotik tedavisi verilmesine yol açar. *S. aureus*'un doğrudan GPCC pozitif kan kültürü şişelerinde tanımlanması, uygun tedavi sürecinin zamanında seçilmesine olanak tanıyan önemli tanısal bilgiler sağlayabilir. Çizelge 2.1, hızlı tespit için bazı kan kültürlerini göstermektedir (Kourtis *et al.* 2019).

Çizelge 2.1 Hızlı *S. aureus* testi için mevcut kan kültürü yöntemlerinden bazıları (Kourtis *et al.* 2019)

System (Manufacturer)	Principle	Time to Result (Hours)	Methicillin Resistance Detection [a]
Blood Culture-Independent Methods			
Septifast (Roche Molecular Diagnostics)	Multiplex real-time PCR	4-6	yes
MagicPlex (Seegene)	Multiplex real-time PCR	3-5	yes
SepsiTest (Molzym)	Broad range PCR + sequencing	8-12	no
VYOO (Analytic Jena)	Multiplex PCR + gel electrophoresis	7-8	yes
PLEX-ID Iridica (Abbott Molecular)	Multiplex PCR + ESI-MS	6-8	yes
T2Dx bacteria panel (T2 Biosystems)	PCR + magnetic resonance technology	6	no
Blood Culture-Dependent Methods			
Microflex (Bruker Daltonics)	MALDI-TOF	0.2-0.5	no
Vitek MS (bioMérieux)	MALDI-TOF	0.2-0.5	no
S. aureus/CNS PNA-FISH/Quick-FISH (AdvanDx)	FISH with PNA probes	0.5-3	no
Verigene Gram-positive blood culture (BC-GP) assay (Luminex)	Multiplex PCR + solid-microarray detection	2.5	yes
Prove-it Sepsis (Mobidiag)	Broad range PCR + microarray	3.5	yes
GeneXpert MRSA/SA BC Assay (Cepheid)	Multiplex real-time PCR	1	yes
BD Max StaphSR assay (BD)	Multiplex real-time PCR	1.5	yes
FilmArray BCID panel (BioFire; bioMérieux)	FilmArray BCID panel	1	yes
Eazyplex MRSA (Amplex BioSystems)	Loop-mediated isothermal amplification	0.5	yes
Accelerate Pheno System (Accelerate Diagnostics)	FISH (ID) + morpho-kinetic cellular analysis (AST)	1.5 (ID)7 (AST)	yes
Direct Tube Coagulase Test	Clot formation by rabbit plasma	2-24	no
BinaxNOW Staphylococcus aureus (BNSA) (Alere)	Immunochromatographic test	0.5	no

[a]Based on genotype (presence of *mecA*; presence both of *mecA* and *mecC*) or phenotype analysis.

Alt kültürden sonra *S. aureus*'un tanımlanmasında rutin olarak kullanılan stabilize nükleaz, tübüler ve immünolojik pıhtılaşma yöntemleri, pozitif kan kültürü şişelerine doğrudan uygulanmasına rağmen farklı duyarlılık ve özgüllüklerle uygulanmıştır (Hu *et al.* 2016). Ek olarak, pozitif kan kültürlerinden *S. aureus* bakterilerini doğrudan tanımlamak için hibridizasyon koruması, floresan in situ hibridizasyon ve PCR gibi moleküler teknikler tarif edilmiştir. Genel olarak, tüm çalışmalar yalnızca tek bir kan kültürü ortamı üzerinde yürütülmüştür ve bu nedenle aslında farklı kan kültürü ortamlarının değişken sonuçları açıklayabilecek etkileşim olasılığını ele almamaktadır (Li *et al.* 2019). Ek olarak, çalışmaların hiçbiri, ortamda kullanıldığı gibi odun kömürü veya Plus ortamında kullanılan reçinelerle desteklenmiş kan kültürü ortamını içermedi. Bu takviyeler, pozitif kan kültürü organizmalarının doğrudan tanımlanmasına yönelik testlere müdahale edebilir (Gomes-Fernandes *et al.* 2017).

3. MATERYAL VE METOT

Bu bölümde ilk olarak çalışma tasarımı anlatılmaktadır. Sonrasında malzemeler ve yöntemler açıklanmaktadır.

3.1 Çalışma Tasarımı

1/12/2020 tarihinden 1/6/2021 tarihine dek olan dönem boyunca Kerkük şehrinde bir kesitsel çalışma gerçekleştirilmiştir. Kerkük ili Azadi Eğitim Hastanesi konsültasyon kliniklerinde uzman doktortarafından tıbbi gözetim altında yaşları 7-70 arasında değişen hastalardan toplam 100 solunum örneği (balgam, nazofaringeal sürüntü) toplanmış olup yaş, ikamet, altta yatan hastalıklar gibi bilgileri içeren anket formları Ek 1'de yer almaktadır.

3.2 Malzemeler

3.2.1 Gereçler ve ekipmanlar

Çalışmada kullanılan gereçler ve ekipmanlar Çizelge 3.1'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.1 Gereçler ve ekipmanlar

Malzemeler	**Şirket ve Menşei**
Otoklav	Marubeni (Japonya)
Santrifüj	Janetzki (Almanya)
Biyo güvenlik kabini	Marubeni (Japonya)
Bunsen brülörü	Shama scientific traders (Hindistan)
Damıtıcı	GFL (Almanya)
ELISA	Human, (Almanya)
Eppendorf tüpleri	Grenier (Almanya)
Kuluçka makinesi	Yamato (Japonya)
Işık mikroskobu	Olympus (Japonya)
PH ölçer	Martini (ABD)
Ocak	Memert (Almanya)
Soğutucu	Concord (Lübnan)
Hassas ve elektrikli tartı	Sartorius (Almanya)
Standard kablo döngüsü (1p)	Himedia (Hindistan)
Vitek II sistemi	Biomerieux (Fransa)
Vortex mikser	Cyan (Belçika)
Su banyosu	Marubeni (Japonya)
Mikrolitre pipetleri	Salmed (Almanya)
Mili gözenek filtre birimi	Milipore Grop (ABD)
Microtiter plaka	AFMA (Ürdün)
Tek kullanımlık petri kapları	Sun (Çin)
Test tüpü	Superestar (Hindistan)
Sterilize pamuk sürüntüler	Afco (Ürdün)

3.2.2 Kimyasal malzemeler

Çizelge 3.2'de gösterilen kimyasallar bu çalışma esnasında kullanılmıştır.

Çizelge 3.2 Kimyasal malzemeler

Malzemeler	**Şirket ve Menşei**
Alfa-naftol	BDH (İngiltere)
Agar	BDH (İngiltere)
Sukroz	BDH (İngiltere)
Etanol alkol	BDH (İngiltere)
KH2PO4	BDH (İngiltere)
Na2HPO4	BDH (İngiltere)
NaCl	BDH (İngiltere)
Gliserol (C3H3O3)	BDH (İngiltere
Tween20	BDH (İngiltere)
KOH	GCC (İngiltere)
Jelatin	GCC (İngiltere)
Yağsız süt tozu	Oxoid (İngiltere)
Kristal bozunma tozu	Fluka (İsviçre)
NaN3	Ajax (Avustralya)
H2O2	Fluka (İsviçre)
Glukoz	Merck (Almanya)
Asetik asit	BDH (İngiltere)
Metanol alkol	BDH (İngiltere)
Pepton	Fluka (İsviçre)
Tetra-Metil-P-Penilen Diamin DihidroKlorür	Himedia (Hindistan)
NaOH	BDH (İngiltere)
Macfarland solüsyonu	Biomerieux (Fransa)

3.2.3 Çalışmada kullanılan setler

Çalışmada kullanılan setler Çizelge 3.3'te verilmektedir.

Çizelge 3.3 Kimyasal malzemeler

Set	**Şirket / Menşei**
ABIOpureTM Total DNA	ABIOpure, ABD
Absolute Ethanol	ROMUL saf kimya, İngiltere
GoTag qPCR Master Mix, Nuclease Free Water, Quantifluor dsDNA Sistemi	Promega, ABD
Astarlar	Macrogen, Kore

3.2.4 Kültür medyası

Kültür medyası Çizelge 3.4'te verilmektedir. Hazır Ticari Medya şu şekilde listelenmektedir: 1) Beyin kalp infüzyon agar, 2) Beyin kalp infüzyon suyu, 3) İndol test ortamı, 4) Kligler demir ağarı (kıa), 5) Macconkey ağarı, 6) Manitol tuzlu agar, 7) Motilite testi ortamı, 8) Mrvp et suyu (metil kırmızı-voges-proskauer et suyu), 9) Muller-hinton ağarı, 10) Besin agar ve et suyu, 11) Yarı katı mannitol ortamı, 12) Sierra orta, 13) Simmon sitrat agar, 14) Yağsız süt agarı, 15) Üçlü şekerli demir agar, 16) Triptik soya agar. Ek bileşenli ticari medya şu şekilde listelenmektedir: 1) Kan agar ortamı, 2) Kongo kırmızısı agar, 3) Metil yeşilli DNaz test agarı, 4) Yumurta sarısı agar, 5) Besin jelatini, 6) Beyin kalp infüzyonu gliserol suyu, 7) Üreaz aktivite test ortamı.

Çizelge 3.4 Kültür medyası

Kültür medyası	**Sentetik şirket (Ülke)**
Kan agar ortamı	Bury, Lancashire (İngıltere)
Beyin-Kalp infüzyon agar ve et suyu	Himedia (Hindistan)
DNase Agar	Bioliff (İtalya)
Jelatin agar medyumu	Himedia (Hindistan)
Kligler Demir agar	Himedia (Hindistan)
MacConky agar	Bury, Lancashire (İngıltere)
Manitol tuz agar	Himedia (Hindistan)
Muller-Hinton agar	Himedia (Hindistan)
Besin agar ve et suyu	Bioliff (İtalya)
Yağsız süt agar	Himedia (Hindistan)
(TSI) Üçlü Şeker Demiri Agar	Himedia (Hindistan)
Tripton soya agar ve et suyu	Himedia (Hindistan)
Üre agar ortamı	Himedia (Hindistan)

3.2.5 Sterilizasyon

Bu çalışmada kullanılan tüm hazırlanan kültür ortamları ve diğer çözeltiler, 120°C'de 15 pound/inç basınçta 15 dakikalık bir süre boyunca bir Otoklav ile sterilize edildi. Yüksek sıcaklıktan etkilenen solüsyonlar 0,22 µm çapında Milipore filtreler kullanılarak sterilize edilirken, cam eşyalar fırında sterilize edilmiştir. 180°C'de iki saat elektrik verilmiştir (Brown and Smith 2017).

3.2.6 Reaktiflerin ve solüsyonun hazırlanması

Reaktifler ve solüsyonlar Brown ve Smith (2017)'ye göre hazırlandı. Katalaz Reaktifi, 5 mL hidrojen peroksit (H2O2) %6 konsantrasyonda 5 mL distile su ilekarıştırılarak %3 konsantrasyonda hazırlanmış ve kullanılıncaya kadar 4°C sıcaklıkta tutulmuştur (Brown and Smith 2017). Oksidaz Reaktifi, 0,05 gm Tetra Metil-P-fenilen Diamin Dihidroklorürün 5 mL damıtılmış su içinde çözülmesiyle anında %1 konsantrasyonda hazırlandı ve opak bir şişede saklandı. 0,144 g potasyum dihidrojen fosfat, 0,795 g sodyum monohidrojen fosfat ve 9 g sodyum klorürü 800 mL distile suda çözerek hazırlandı, pH'ı 7,4'e ayarlayıp hacmi bir litre Distile suya tamamlayıp, otoklavla sterilize edildi ve kullanılana kadar 4 °C sıcaklıkta tutuldu. Çözelti, 0,85 g sodyum klorürün 90 mL damıtılmış su içinde çözülmesiyle hazırlandı. 100 mL'ye hacmi ayarlayıp otoklav ile sterilize edilmiştir. Bu solüsyon birçok testte kullanılmıştır.

Macfarland stander solüsyonu için (France\Biomerieux) firmasından hazırlanan solüsyonu kullanınız. Bakteri hücrelerinin sayısını test etmek için bu solüsyonu kullanıp yaklaşık hücre sayısı 1,5 x 108 hücre/mL vermektedir. Kristal violat boya çözeltisi için yaklaşık 0,1 g menekşe kristali 90 mL distile suda çözülerek hacim distile suile 100 mL'ye tamamlanmış olup ardından 0,22 mikrometre çapında delikli membran filtre kullanılarak sterilize edilmiştir ve kullanıma kadar steril bir şişede 4'te saklandı: Bu solüsyon izolatların biyofilm oluşturma yeteneklerini araştırmak için kullanıldı (Brown and Smith 2017). Metilen Mavisi Çözeltisi için solüsyon, 1 g metilen mavisi 10 mL distile su içinde çözülerek ve 0,22 gm çapında delikli ince bir filtre kullanılarak sterilize edilerek ve steril bir şişede uygun kullanımiçin 4 °C sıcaklıkta tutularak hazırlanan metilen mavisi süt suyunun bir ortamını hazırlamak için kullanıldı.

3.2.7 Boyalar

Gram Boyası gram pozitif ve gram negatif bakterileri ayırt etmek için kullanılır. Hindistan mürekkebi boyası ıslak montaj hazırlığında kapsül boyama için kullanılır. Modifiye %1 kongo kırmızısı boyası biyofilm oluşumu için kullanılır. Metilen mavisi:

İzolatların metilen mavisi içeren ortamda üreme yeteneği için kullanılır. Mevcut çalışmada Çizelge 3.5'te listelenen boyalar kullanılmıştır.

Çizelge 3.5 Çalışmada kullanılan boyalar

Boya	**Şirket ve Menşei**
Gram boya seti, Kristal Mor İyot Renksizleştirici Safranin	APCO (Ürdün)
Hindistan mürekkebi	BDH (İngiltere)
Metilen mavisi	APCO (Ürdün)
Kongo kırmızısı boyası	BDH (İngiltere)

3.2.8 Antibiyotik diskler

Antibiyotik hassasiyet testlerinde kullanılan tüm antibiyotikler Çizelge 3.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.6 NCCL'ler kılavuzuna göre mevcut çalışmada kullanılan antibiyotik diskleri

Antibiyotikler	Sembol	Güç µg/disk	Engelleme alanı çapı (mm)		
			Dirençli	Orta	Hassas
Ampisilin (Bioanalyse)	AMP	10	< 13	14 - 16	> 17
Karbenisilin (Bioanalyse)	CAR	100	< 14	15 - 16	> 17
Sefalotin (Bioanalyse)	KF	30	<14	15 - 17	>18
Streptomisin (Himedia)	S	10	< 12	13 - 14	> 15
İmipenem (Bioanalyse)	IMI	10	< 19	20 - 22	> 23
Vankomisin (Liofilchem)	VA	30	< 14	15 - 16	> 17
Rifampisin (Bioanalyse)	RA	5	< 11	12 - 18	> 19
Slindamisin (Bioanalyse)	DA	2	< 14	15 - 16	> 17
Nalidiksik asit (Bioanalyse)	NA	30	< 13	14 - 18	> 19
Eş_Trimoksazol (Bioanalyse)	TS	25	< 14	15 - 20	>21
Kloramfenikol (Bioanalyse)	C	30	< 12	13 - 17	> 18
Cefotaksim (Bioanalyse)	CTX	30	< 14	15 - 18	> 19
Gentamisin (Himedia)	GM	10	< 12	13 - 14	> 15
Nitrofurantoin (Bioanalyse)	IN	300	< 14	15 - 16	> 17
Siprofloksasin (Bioanalyse)	CIP	5	< 15	16 - 20	> 21
Amikasin (Himedia)	AK	30	< 14	15 - 16	> 17
Metisilin	Met	10	< 13	14 - 16	> 17

3.2.9 Sentetik kültür medyası

İçerik olarak 37 gm beyin kalp nakil et suyu, 50 gm/L Sukroz, 10 gm/L Agar ve 0,8 mg/L Kongo kırmızısı boya yer almaktadır. Medyum, bu bileşenlerin Kongo kırmızısı boya hariç 900 mL steril suda çözündürülmesiyle hazırlanmış olup ardından Otoklav ile 121 °C sıcaklıkta 15 dakika sterilize edildi ve daha sonra 0,8 g Kongo kırmızısı boyası 100 mL damıtılmış suda çözülerek süzülerek sterilize edildikten sonra, 45 °C sıcaklığa soğumaya bırakıldıktan sonra boya solüsyonu steril ortama ilave edildi ve karışım iyice karıştırıldıktan sonra steril kaplara döküldü. Medyum 100 g yağsız süt tozunun 300 mL damıtılmış su içinde çözülmesi ve solüsyonun 121 °C sıcaklıkta 10 dakika süreyle Otoklav ile sterilize edilmesiyle hazırlanmıştır. 15 g besleyici agar 700 mL damıtılmış suda hazırlandı. Başka bir beherde Otoklav ile sterilize edip ardından hazırlanan süt solüsyonunu medyumaiyice çalkalayarak ekleyin ve sterilize edilmiş Petri kaplarına dökünüz (Atlas 2006). 12 g jelatini 100 mL sıvı besin ortamında çözüp pH'ı 7,2'ye ayarlayarak ve ardından ortamı steril test tüplerine tüp başına 5 mL oranında dağıtıp, otoklavlanıp oda sıcaklığında soğumaya bırakılarak Cruickshank vd. (1975) çalışmasında belirtilenlere göre hazırlanmıştır. İzolatların jelatinleşmeye duyarlılığını test etmek için medyumu kullanınız. Medyum 18 g sıvı kalp — beyin infüzyon ortamının bir litre distile su içinde çözülmesi ve buna 10 g glikoz eklenmesiyle hazırlandı ve ısıtıldıktan sonra pH 7'ye ayarlandı ve otoklav ile sterilize edildi. İzolatların büyümesini teşvik etmek için ortamı kullanınız.

3.3 Yöntemler

3.3.1 Solunum numunesinden bakterinin izolasyonu

Tüm hastalar örnekleme sırasında klinik olarak stabil olup 30 gün boyunca antibiyotik tedavisi almamıştır. Çalışma için farklı yaş gruplarındaki bireylerden balgam ve nazofaringeal sürüntüler steril plastik numune torbalarına alınmıştır. Sürüntüler, kanlı agar ortamı içeren Petri plakalarına aseptik olarak inoküle edilmiş olup plakalar, inkübatörde 24 saat süreyle 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra kolonilerin morfolojik ve mikroskobik incelemesi yapıldı. Mikroorganizmaların saf kültürünü elde

etmek için petri plakalarında elde edilen koloniler katı ortam üzerinde birkaç kez alt kültürlendi. Saf kültürler elde edildiğinde, mikroorganizmalar katı ortam üzerinde eğik olarak alt kültürlenmiş olup daha ileri araştırmalar için 4 °C'de saklanmıştır. Saf kültürdeki mikroorganizmalar, seçici ve diferansiyel ortamlarda morfolojik özelliklerine göre tanımlanmıştır. API 20E kitleri, mikroorganizmaların kimliğini doğrulamak için biyokimyasal testler için kullanılmıştır.

3.3.2 Teşhis

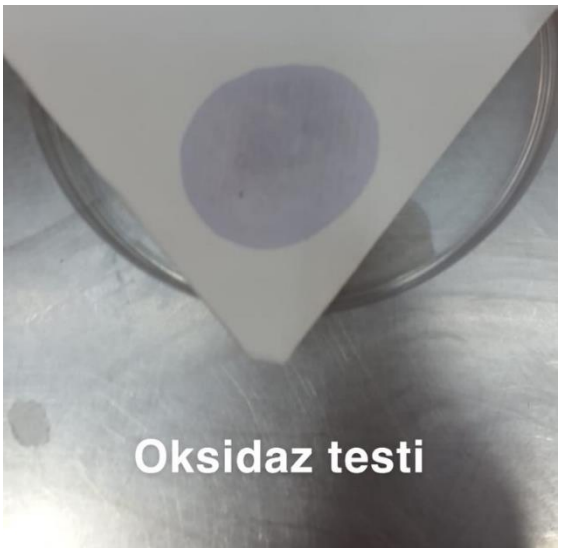
Medyada üreyen bakteriler, büyüyen kolonilerin renk, şekil, boyut, kenar ve yükseklik bazında teşhis edilmiştir ve koloniler birden fazla kez büyütülerek tek saf kültür elde edilmiş olup aşağıdaki kültür medyasında büyüyen kolonilerin yetiştirme özellikleri belirlenmiştir. Katı kan bazı medyumu için gelişmekte olan kolonilerin morfolojik özellikleri ve renkleri belirlenmiş olup ayrıca hemolizin enziminin bakteriyel üretimi vasıtasıyla araştırılmıştır. Katı Maconkey medyumu kolonilerin morfolojik özelliklerini incelemek ve fermente edilmiş laktoz kolonilerini diğerlerinden ayırmak için kullanılmıştır, çünkü fermente edilmiş laktoz kolonileri medyumunun yüzeyinde kırmızı veya pembe renklerde görünmesine rağmen fermente olmazlarsa, kolonileri şeffaf görünmektedir. Mannitol Tuz Agar *S. aureus*'un mannitol şekerini fermente etme kabiliyetini araştırmak için kullanılmış olup medyumun rengi pembeden sarıya değişmiştir. Katı krom medyumu üzerinde büyüyen koloninin rengine bağlı olarak bakteri üremesi için tanısal olup herbakteri üzerinde göründüğü belirli bir renge sahiptir. Mikroorganizmalardan *Enterococcus faecalis* açık mavi koloni*; Escherichia coli* pembe koloni*; Klebsiella pneumonieae* koyu mavi koloni*; Staphlococcus aureus* beyaz krem koloni şeklindedir.

Slaytın halkalı bölgesine öze dolusu distile su konularak gram boyama reaksiyonu yapılmıştır, az miktarda bakteri su ile karıştırılıp yayılmış olup smear havada kurutuldu ve daha sonra brülör alevi üç kez yakıldıktan sonra smear gram boyama ile boyanmış smear hızla geçirilerek ısıyla fikse edilmiştir ve smear yağa daldırılarak incelenmiştir.

Katalaz üretim testinde steril tahta çubuk kullanılarak temiz bir cam lam üzerine yirmi dört saatlik bakteri kolonisi yerleştirildi ve üzerine bir damla %3 H_2O_2 solüsyonu eklendi. Oksijen kabarcıklarının hemen serbest bırakılması, pozitif bir sonucu gösterir (Mahon *et al.* 2018). Oksidaz testinde Oksidaz reaktifi, %1 dimetil-p-fenilen-diamin-dihidroklorür ile doyurulmuş filtre kağıdı bir petri kabına yerleştirildi; test edilen organizmadan bir koloni, filtre kağıdına aktarıldı ve tek kullanımlık bir tahta çubukla reaktifin üzerine ovuldu. 10 saniyede bir renk gelişimi, pozitif bir reaksiyonu göstermektedir (Mahon *et al.* 2018). Şekil 3.1 ve 3.2 katalas ve oksidaz testini göstermektedir.

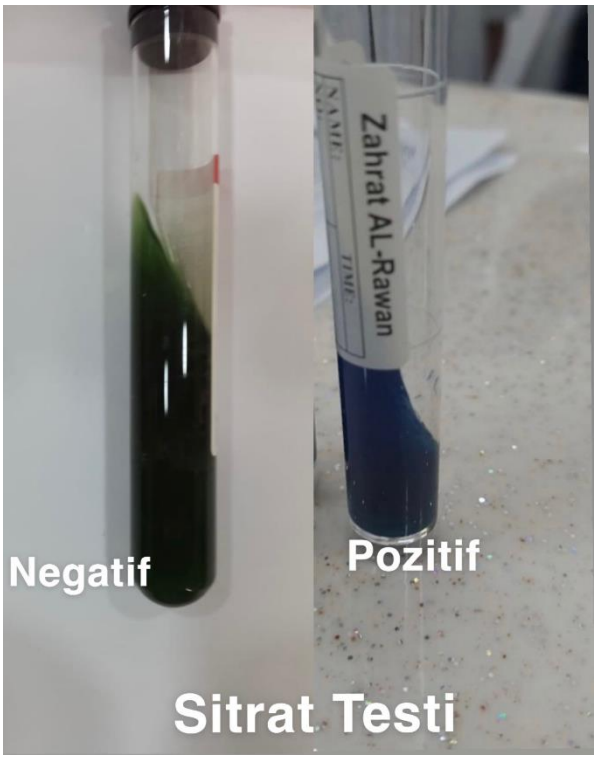


Şekil 3.1 Katalas testi



Şekil 3.2 Oksidaz testi

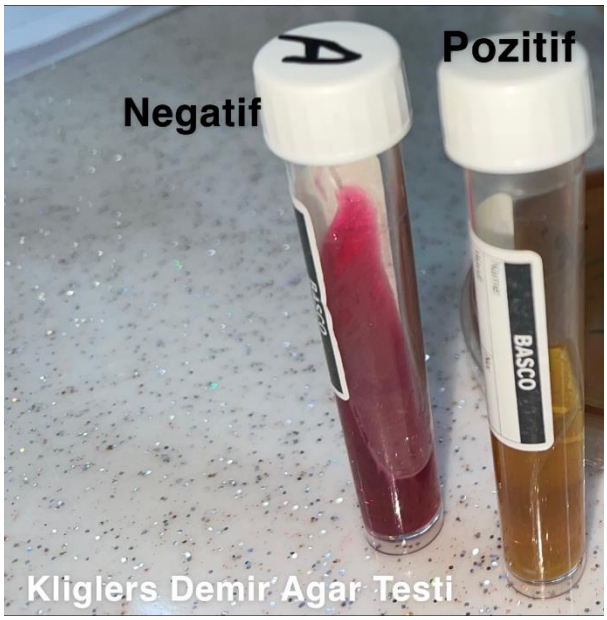
Voges-Proskauer testi Pepton et suyu medyumu, test edilen bakteri ile aşılandı ve 37 °C'de 48 saat süreyle inkübe edildi. Ardından sırasıyla 3 mL VP1 a-neftol %5 ve 1 mL VP2 %40 KOH et suyu kültürüne eklendi ve 30 dakika sonra incelenmiş olup pembeden kırmızıya renk oluşumu pozitif bir testi göstermektedir (Brown and Smith 2017). İndol üretim testi Peptonlu su et suyu tüpleri bakteri kültürü ile inoküle edildi ve 37 °C'de 24 — 48 saat inkübe edildi. Her tüpe birkaç damla Kovac reaktifi eklendi. Pembe halka oluşumu, pozitif bir testi göstermektedir (Mahon *et al.* 2018). Metil kırmızısı testi MR-VP et suyu, taze bir kültürle inoküle edildi ve 37 °C'de 24 saat inkübeedildi. Her tüpe birkaç damla metil kırmızısı solüsyonu eklendi. Rengin kırmızıyadeğiştirilmesi, şekerin tam hidrolizini ve pozitif sonuçlara yol açan asit üretimini göstermektedir. Sitrat kullanım testi Simmon sitrat slant aşılandı ve genç bir kültürle 37 °C'de 48 — 72 saat inkübe edildi. Ortamın yeşilden maviye renk değişimi olumlu bir sonucu göstermektedir (Mahon *et al.* 2018). Şekil 3.3 sitrat testini göstermektedir.



Şekil 3.3 Sitrat testi

Karbonhidratların fermantasyonu ve gaz üretimi için üçlü şekerli demir agar (TSIA) slantları, bıçaklama ve sürme yoluyla bakteri kültürü ile aşılandı ve 37 °C'de 24 saat

inkübe edildi. Popo ve eğimde renk değişimi, gaz ve H_2S üretimi pozitif sonuç vermektedir (Mahon *et al.* 2018). Üreaz (Christensen'in) üretim testi için üre agar slantları bakteri kültürü ile ekilmiş olup 37 °C'de inkübe edilmiştir. Sonuçlar 24 saat sonra ve 6 gün boyunca her gün okunmuştur. Ortamın renginin sarıdan mor pembeye değiştirilmesi olumlu bir sonucu gösterir (Mahon *et al.* 2018). Kliglers demir agar testi için bakteriler, aşılama iğnesi kullanılarak kligler medyuma bıçaklanır, medyumun yüzeyine yayılır ve 24 saat boyunca 35 °C'de inkübe edilmiştir (Mahon *et al.* 2018). Şekil 3.4 Kliglers demir agar testini göstermektedir.



Şekil 3.4 Kliglers demir agar testi

Mannitol fermantasyon testi için yarı katı bir mannitol ortamı, tek bıçaklama ile aşılandı ve 37 °C'de (24-48) saat inkübe edildi. Yeşilden turuncu sarıya renk değişimi mannitol fermantasyonunu göstermektedir; medyanın bıçak hattından uzaklaşması, hareketli bir organizmayı göstermiştir (Mahon et al. 2018).Şekil 3.5 yarı katı mannitol ortamını göstermektedir.



Şekil 3.5 Yarı katı mannitol ortamı

API Staph şeridi, susuz substratlar içeren 20 mikrotüpten oluşur. Bu mikrotüpler, testleri yeniden oluşturan API Staph Medium içinde hazırlanmış bir bakteri süspansiyonu ile aşılanmıştır. İnkübasyon sırasında metabolizma, kendiliğinden olan veya reaktiflerin eklenmesiyle ortaya çıkan renk değişiklikleri üretir. Reaksiyonlarokuma tablosuna göre okunmuş ve analitik profil indeksi referans alınarak tanımlama yapılmıştır. Şeridin aşılanması için bir pipet kullanılarak mikrotüpler aşılanmış API staph medyumu ile dolduruldu. Mikrotüplerin sadece tüp kısmı dolduruldu. Tüplerin tabanında kabarcık oluşumunu önlemek için, şerit hafifçe öne eğildi ve pipetin ucu, kupülün kenarına karşı yerleştirildi. Testlerde anaerobiyoz, dışbükey bir menisküs Şekil 3.6'yı oluşturacak şekilde kupuleler mineral yağ ile doldurularak onaylanmıştır. İnkübasyon kutusu kapatıldı. 36 °C ± 2 °C'de 18 – 24 saat süreyle inkübe edildi. Şeridi okuma aşamasında inkübasyon periyodundan sonra: sonuçlar sonuç sayfasına kaydedildi ve ardından tüm reaksiyonlar EK 2'deki okuma çizelgesi referans alınarak okundu.

Vitek 2, büyümeye dayalı biyoteknolojiyi kullanan otomatik bir mikrobiyoloji sistemidir. Sistem, artan kapasite ve otomasyon seviyelerinde farklılık gösteren üç formatta (Vitek 2 kompakt, Vitek 2 ve Vitek 2 XL) mevcuttur. Şekil 3.6, Vitek 2 kompakt sistemini

göstermektedir. Her üç sistem de otomatik olarak inkübe edilen ve yorumlanan aynı kolorimetrik reaktif kartlarını barındırır. Vitek sistemi hem klinik alanda hem de endüstriyel kalite kontrollerinde mevcut bakteriyolojik kısıtlamalara mükemmel bir şekilde karşılık gelir: otomasyon daha fazla güvenlik sağlar ve tekrarlayan manuel işlemleri ortadan kaldırır ve yanıt süresi, sonuçların manuelden daha hızlı sağlanabileceği anlamına gelir. Vitek, tanımlama ve duyarlılık testlerini gerçekleştirmek için gereken tüm adımları Vitek kartlarını kullanarak otomatik hale getirir. Bir doldurucu/kapatıcı, bir kuluçka makinesi/okuyucu, bir bilgisayar ve bir yazıcıdan oluşur. Doldurucu/kapatıcı, kartların birkaç dakika içinde aşılanmasını sağlar. İnkübatör/okuyucu aynı anda inkübe eder ve kartları okur ve modele bağlı olarak 32 ile 480 kart arasında kapasiteye sahiptir. Vitek yazılımına sahip bilgisayar, işlemi sürekli olarak izler, değerleri depolar, işler ve sonuçları yorumlar.



Şekil 3.6 Vitek 2 kompakt (BioMérieux, Fransa)

Farklı organizma sınıflarının tanımlanması için şu anda dört reaktif kartı bulunmaktadır: 1) GN - Gram-negatif fermente eden ve fermente etmeyen basiller, 2) GP - Gram pozitif koklar ve spor oluşturmayan basiller. Süspansiyon hazırlama aşamasında saf kültürün yeterli sayıda kolonisini aktarmak ve mikroorganizmayı 12 x 75 mm'likbir boyutta

şeffaf plastik (polistiren) test tüpü 3,0 mL steril salin (sulu %0,45 ila %0,50 NaCl, pH 4,5 ila 7,0) içinde süspansiyon haline getirmek için steril bir çubukveya aplikatör çubuğu kullanılır. Bulanıklık buna göre ayarlanır ve DensiChek TM kimlik kartları adı verilen bir bulanıklık ölçer kullanılarak ölçülür ve entegre bir vakum aparatı kullanılarak mikroorganizma süspansiyonları ile aşılanır. Mikroorganizma süspansiyonunu içeren bir test tüpü özel bir rafa (kaset) yerleştirilir ve transfer tüpü ilgili süspansiyon tüpüne yerleştirilirken kimlik kartı komşu yuvaya yerleştirilir. Kaset, 10'a kadar veya 15'e kadar testi barındırabilir. Doldurulan kaset ya manuel olarak (Vitek 2 kompakt) yerleştirilir ya da otomatik olarak (Vitek 2 ve Vitek 2 XL) bir vakum odası istasyonuna taşınır. Vakum uygulandıktan ve istasyona hava yeniden verildikten sonra, organizma süspansiyonu transfer tüpünden tüm test kuyularını dolduran mikro kanallara zorlanır. İnoküle edilmiş kartlar, transfer tüpünü kesen ve carousel inkübatöre yüklenmeden önce kartı kapatan bir mekanizma tarafından geçirilir. Döner kuluçka makinesi 30'a kadar veya 60'a kadar kart alabilir. Tüm kart türleri on-line olarak 35,5 ± 1,0°C'de inkübe edilir. Her kart her 15 dakikada bir döner inkübatörden çıkarılır, reaksiyon okumaları için optik sisteme taşınır ve daha sonra bir sonraki okuma zamanına kadar inkübatöre geri gönderilir. Vitek 2 kompakt örneği EK 3'te gösterilmiştir.

3.3.3 İzolatların korunması ve bakımı

Kısa süreli muhafaza olarak izolatlar, vidalı kapaklı kaplarda katı besiyerlerinin eğimli kısımlarında kültüre edilerek korundu ve 5 mL nütrient agarın bir dip oluşturacak şekilde bir açıyla ayarlanmasına izin verildi ve 4°C'de saklandı, ardından yaklaşık olarak bir aylık bir süre tutuldu. Bu süreç, çalışma süresince her bir ayda bir tekrarlanmıştır (Mahon *et al.* 2018). Uzun süreli koruma açısından bakteriyel izolatı beyin kalp nakil et suyuna inoküle edildi. Bir gece 37 °C'de inkübe edildi. Daha sonra et suyu kültürü, %20'lik bir nihai konsantrasyona gliserol eklenerek korundu ve -20 °C'de 12 – 18 ay süreyle saklandı (Mahon *et al.* 2018).

3.3.4 Antimikrobiyal ajanlara bakteriyel duyarlılık testi

Bu çalışmada disk difüzyon testi kullanılmış ve modifiye Kirby-Bauer yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Saf inokulum, bir agar plakasından safkoloni seçilerek elde edildi. Bulanık bir süspansiyon elde etmek için et suyu içinde süspanse edildi ve et suyunda gözlemlenebilir bulanıklığın gösterdiği gibi, iyi aktif büyüme elde etmek için kültür, inoküle edilen et suyu, 3 ila 5 saat inkübasyona bırakıldı ve McFarland bulanıklık standartları kullanıldı. Bakteriyel süspansiyon başlangıçta standardın bulanıklığına uymuyorsa, süspansiyon normal salinle seyreltildi veya gerektiğinde daha fazla organizma ile desteklendi. Tek kullanımlık steril öze, koloniyi plakadan almak ve çapı neredeyse McFarland'ınkine eşit olan steril bir test tüpüne aktarmak için kullanıldı (Leber 2016).

Mueller-Hinton ortamı kullanıldı ve üreticinin talimatlarına göre hazırlandı ve otoklav ile sterilizasyondan sonra ortam 45 °C'de soğumaya bırakıldı ve yaklaşık 4 mm kalınlığa kadar petri kaplarına döküldü. Katılaşan plakalar, fazla nemin buharlaşması için 37 °C'de 15—30 dakika inkübe edildi (Leber 2016). Plakalar, steril bir sürüntünün inokuluma daldırılmasıyla aşılandı, fazla inokulum, sürüntünün sıvı seviyesinin üzerinde tüpün yan duvarına sıkıca bastırılması ve döndürülmesiyle çıkarıldı, daha sonra sürüntü, her uygulamadan sonra plağı 60 derecelik bir açıyla 3 kez döndürdü ve son olarak swab agar yüzeyinin kenarından geçen medyanın tüm yüzeyi üzerinde ovuldu. Plaka, kapağı kapalı olarak birkaç dakika oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. 15 dakikalık inokülasyondan sonra antibiyotik diskler uygulandıve agar yüzeyinde nem birikmesini önlemek için plaklar inkübasyon için ters çevrildi (Leber 2016).

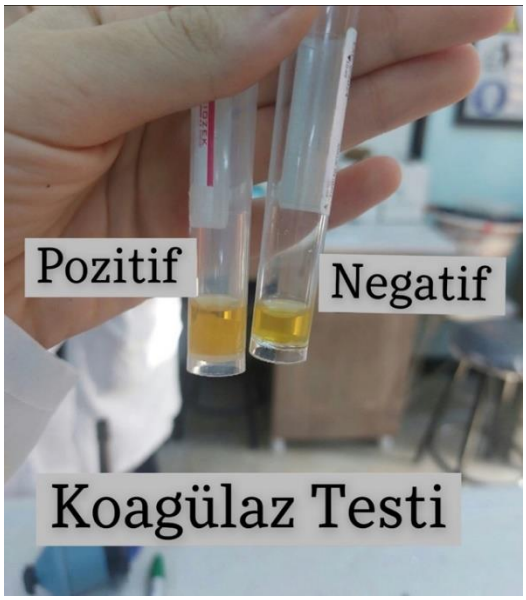
3.3.5 Virülans faktörlerini belirlemek için testler

Hemolisin üretiminin belirlenmesi için yapılan test, bakterilerin kanlı agar baz ortamını kullanarak hemolitik enzimi üretme kabiliyetini bilmek amacıyla yapılmıştır. Çalışılan izolatlar medyumun yüzeyinde planlama yöntemiyle inoküle edildi ve 37 °C'de 48 saat inkübe edildi. Daha sonra, koloniler etrafındaki ayrışma tipi, beta tipi ile dolu, alfa tipi kısmi veya hemolitik olmayan tipte gama olup olmadığı not edilerek sonuçlar okundu.

Bakteri izolatları yağsız süt Agar medyum üzerine inoküle edildi ve kaplar 24—48 saat 37 °C sıcaklıkta inkübe edildi. Gelişen koloniler etrafındaki şeffaf ve açık alanlarının görünümü tahlilin pozitifliğinin bir göstergesidir. Bu tahlil, bakteri izolatlarının ekstrasellüiar proteaz üreterek sütte bulunan kazen proteinini tüketme yeteneği üzerinde kullanılmıştır (Kumar *et al.* 2012).

Jelatin üretiminin tespiti, hazırlanan medyumu içeren test tüplerinin bıçaklama yöntemiyle bakteri izolatları ile aşılandığı, inoküle edilen tüplerin galatinaz üretme yeteneklerinin değerlendirilmesi için yapılmıştır. 37 °C'de 3 gün, daha sonra 4 °C sıcaklıkta 30 dakika süreyle yerleştirilir. Jelatinin çözünmesi ve sıvıya dönüşmesi, bakteri ile aşılanmamış kontrol tüpü ile sonuçları karşılaştırdıktan sonra pozitif sonucun bir göstergesidir (Kumar *et al.* 2012).

Koagülaz, fibrinojeni fibrine dönüştürerek plazmanın pıhtılaşmasına neden olur. Çoğu *S. aureus* suşu tarafından iki tip koagülaz üretilir: 1) Plazmada bulunan koagülazla reaksiyona giren bir faktörü aktive ederek fibrinojeni fibrine dönüştüren serbest koagülaz. Tüp testinde pıhtılaşma ile serbest koagülaz saptanır. 2) Bir koagülaz reaksiyon faktörü gerektirmeden fibrinojeni doğrudan fibrine dönüştüren bağlı koagülaz (kümelenme faktörü). Bakteri hücrelerinin kümelenmesiyle tespit edildi (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 *Koagülaz Testi*

Üreaz testi için test organizması, üre ve fenol kırmızısı indikatörü içeren bir ortamda kültürlenir (Şekil 3.8). Suş üreaz ürettiğinde, enzim üreyi (hidroliz yoluyla) parçalayarak amonyak ve karbon dioksit verir. Amonyak salınımı ile indikatörün renginin pembe-kırmızıya değişmesiyle gösterildiği gibi ortam alkali hale gelir (Kumar *et al.* 2012). Kapsül tespiti için Hint mürekkebi yöntemi, bakteri izolatlarının bir kapsül oluşturma kabiliyetini tespit etmek için kullanıldı. Temiz bir cam lam üzerine bir damla Hint mürekkebi boyası yerleştirildi ve steril bir vektör (loop) tarafından bir bakteri izolatları kolonisi alındı ve iyice karıştırıldı ve lamları kuruması için havada bıraktı ve mevcudiyetini not etmek için bir yağ lensi ile incelendi (Kumar *et al.* 2012).

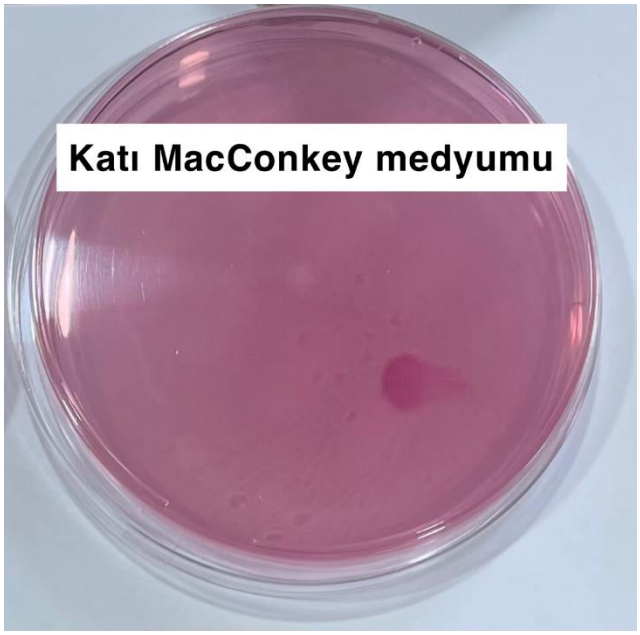


Şekil 3.8 Üreaz testi

Lesitinaz üretimi bakteri izolatları %5 yumurta sarısı agar üzerine sürme yöntemiyle ekildi ve 48 ila 72 saat süreyle inkübe edildi. Her gün plakanın kapağı çıkarıldı ve koloni etrafındaki ortamdaki değişiklikler açısından incelendi. Lesitinaz için pozitif bir reaksiyon, kolonilerin çevresinde opak bir opak zonun ortaya çıkmasıyla belirtilmiştir (Kumar *et al.* 2012). Lipaz üretiminin tespiti için bakteriyel izolatlar karbon kaynağı olarak Tween 20 içeren katı medyumda kültürlendi ve kaplar 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Bakteriizolatlarının lipaz enzimi üretme yetenekleri gözlemlenerek araştırıldı.

Gelişmekte olan kolonilerin etrafında oluşan hale. Bu, bakteriler tarafından üretilen lipaz enzimi tarafından Tween 20'nin bozunmasının kanıtıdır.

Hızlı iyodometrik yöntemle β-laktamaz tespiti için MacConky agar (kristal menekşe içermeyen) bakteri ile aşılandı ve 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Birkaç koloni bir öze ile toplandı ve 100 uL penisilin G içeren Eppindorff tüpüne aktarıldı ve ardından 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi. 50 uL nişasta çözeltisi alikuotu ilave edildi ve diğer içeriklerle iyice karıştırıldı. Tüpe 20 uL İyodür solüsyonu eklendi ve ardından 1 dakika karıştırıldı (koyu mavi renk oluştu). Hızlı renk değişimi (maviden beyaza) meydana geldiğinde sonuç pozitif olarak kabul edildi. 5 dakika sonra gecikme pozitif sonuç alındığında test tekrarlandı. Şekil 3.9 katı MacConkey medyumunu göstermektedir.



Şekil 3.9 Katı MacConkey medyumu

Metisilin direnç testi için metisilin dirençli stafilokokları saptayabilir, inokulum, taze gecelik plakadan koloniler kullanılarak doğrudan yöntemle hazırlanmıştır. %4 NaCl içeren Muller - Hinton agar ve antibiyotik disk metisilin 10 pg, 0,01 mL öze kullanarak kolonilerin 0,5 McFarland standardına kıyasla yoğunluğa doğrudan süspansiyonunu sağlar. Süspansiyona batırılmış bir sürüntü ile şerit kadran, plağı 37 °C'de 24 saat inkübe edip ikinci gündisk etrafındaki bölgenin varlığı incelenmiştir. Vankomisin direnç

testi için yukarıdaki metisilin prosedüründe olduğu gibi, vankomisin dirençli staphylococci belirleyebilir, aynı prosedür uygulanmıştır (Şekil 3.10).



Şekil 3.10 Muller Hinton agarı

3.3.6 Biyofilm oluşum testi

Kongo kırmızısı agar yönteminde teşhis edilen bakterileri içeren BHI beyin-kalp infüzyonundan steril bir lob kampanyası alındı, ardından kanlı agar ile aşılandı ve 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. 37 °C sıcaklıkta 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sona erdikten sonra medyumun renginin siyaha çevrilmesi ve kolonilerin kristal siyah renkte görünümü ile izolatların biyofilm oluşturma yetenekleri ortaya çıkarken, kırmızı renkte görünenlerin biyofilm oluşturmadığı kabul edilmektedir (Sultan and Nabiel 2019).

Tüp yönteminde steril bir öz kullanılarak, teşhis edilmiş bakterileri içeren ve kanlı agar ile aşılanmış beyin-kalp infüzyon medyumnden öze kampanyası alındı ve ortam, 24 saat boyunca 37 °C sıcaklıkta inkübe edildi (Şekil 3.11). İnkübasyon süresinden sonra

gelişenkoloninin bir kısmı alınarak, daha önce hazırlanan %1 glikoz eklenmiş steril BHI içeren bir test tüpüne inoküle edildikten sonra 37 °C sıcaklıkta 24 saat inkübe edildi. C, inkübasyon süresinin bitiminden sonra ortam döküldü. Ardından tüpler bir fosfat tampon çözeltisi ile yıkandı ve kuruması için ters çevrildi. Ardından her tüpe %1 kristal viyole eklendi ve 15 dakika boyunca deiyonize su ile yıkandı. Daha sonra kurutmak için ters çevrilmiş ve ardından her tüpte biyofilm oluşumu gözlemlenmiştir (Sultan and Nabiel 2019).



Şekil 3.11 Kan agar ortamı

Mikrotiter plaka yönteminde aşağıdaki aşamaları içeren araştırmacının yöntemi benimsenmiştir. 1) Kanlı agar medyumnde çalışılan bakteri izolatlarının aktivasyonu; 2) Bakteri izolatlarının genç kolonileri %1 glikoz hazırlanmış BHI et suyumedyumunda inoküle edildi ve 37 °C'de 24 saat inkübe edildi; 3) 180 µL taze BHI medyum et suyu alındı ve 20 uL bakteri üremesi 24 saatte eklendi ve 0,5 McFarland standart bulanıklık ile karşılaştırıldı; 4) 200 mikrolitre bakteri süspansiyonu tek başına BHI ortamı içeren negatif kontrol çukurları kullanılarak bir mikrotitre plakasına aktarıldı ve 37 °C'de 24 saat inkübeedildi; 5) Çukurların içeriği çıkarıldı ve yapışmayan hücreleri çıkarmak için üç kez bir fosfat tampon tampon çözeltisi ile yıkandı, ardından havayla kurutuldu; 6) Biyofilm 150 µL metanol alkol eklenerek 20 dakika sabitlendi; 7) Çukurların içindekileri boşaltın ve 30 dakika kuruması için baş aşağı yerleştirin; 8) Çukurlar %0,1 konsantrasyonda Kristal Violat boyası eklenerek 15 dakika boyandı; 9) Bulaşıklar

damıtılmış su ile yıkanarak fazla lekelerin çıkması sağlandı ve kurutuldu; 10) 150 µL %33 asetik asit her deliğe 30 dakika çalkalanmadan eklendi, ardından ELISA Mikroplaka okuyucu için bir spektrofotometre kullanılarak 570 nm dalga boyunda absorbans ölçüldü.

Çizelge 3.7'de görüldüğü üzere bakteriyel izolatlar, optik yoğunluğa (OD) göre biyofilm için üretken (güçlü, orta, zayıf) veya üretken olmayan olarak ayrıldı.

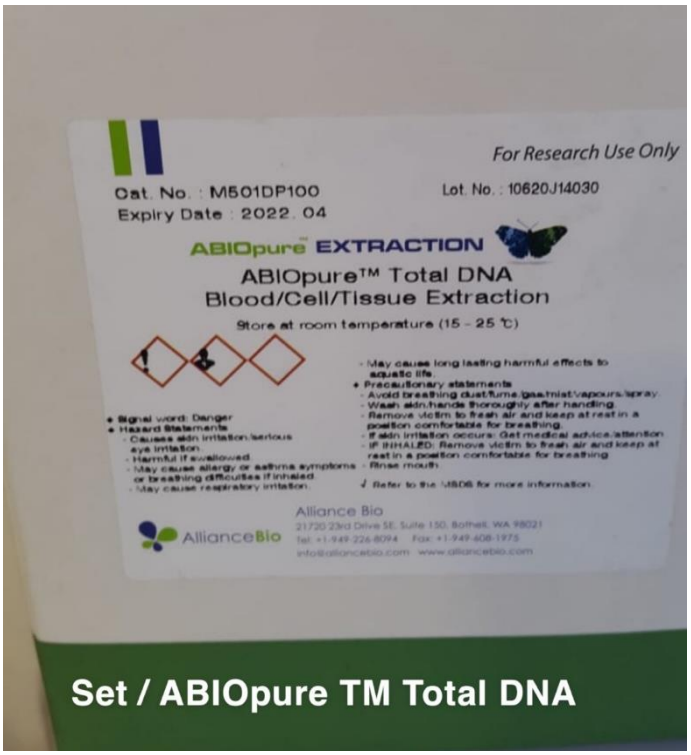
Çizelge 3.7 Bakteriyel izolatların sınıflandırılması

OD Değeri	**Biyofilm oluşumu**
O.D 570 <= 0,5	Yapışkan değil
O.D 570 (1-2)	Orta
O.D 570 > 2	Güçlü

3.3.7 PCR yoluyla gen belirleme

Genomik DNA, aşağıdaki adımlarla ABIOpure Ekstraksiyonu protokolüne göre bakteri üreme süspansiyonundan izole edildi. Pelet hücreler için, 13000 rpm'de 2 dakika boyunca 1 mL gece kültürü. Daha sonra süpernatant atıldı. Hücre peleti 200 µL Tampon CL içinde tamamen yeniden süspanse edildi. Protein sindirimi ve hücre lizizi için, 200 µL Tampon CL ve hücre peletine 20 µL Proteinaz K solüsyonu 20 mg/mL ilave edildi, ardından tüp vorteks kullanılarak kuvvetlice karıştırıldı ve 56 °C'de 30 dakika daha inkübe edildi. liziz, 70°C'de 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra numuneye 200 µL Tampon BL eklendi ve tüp vorteks ile kuvvetlice karıştırıldı ve 70°C'de 30 dakika inkübe edildi. Numuneye mutlak etanolden 200 µL eklendi, numuneyi iyice karıştırmak için pulse-vorteks kullanıldı. Tüm karışımlar dikkatli bir şekilde mini kolona aktarıldı, ardından 6000 x g üzerinde > 8000 rpm 1 dakika santrifüjlendi ve toplama tüpü yenisiyle değiştirildi. Tampon BW 600 µL'den mini kolona eklendi, ardından 1 dakika boyunca 6000 x g üzerinde > 8000 rpm santrifüjlendi ve toplama tüpü yenisiyle değiştirildi. Tampondan TW 700 µL uygulandı. 1 dakika boyunca 6000 x g üzerinde > 8000 rpm santrifüjlendi. Geçiş atıldı ve mini kolon tekrar toplama tüpüne yerleştirildi. Mini kolon, kalan yıkama tamponunu çıkarmak için 1 dakika boyunca tam hızda >13000 x g

santrifüjlendi, ardından mini kolon, yeni bir 1,5 mL'lik tüpe yerleştirildi. Tampon AE 70 µL eklenip oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildikten sonra 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi (Şekil 3.12 ve Şekil 3.13).



Şekil 3.12 Toplam DNA ekstraksiyon kiti



Şekil 3.13 DNA ekstrasiyonuda tampon kullanımı

Kuantus Florometre, sonraki uygulamalar için numunelerin kalitesini tespit etmek amacıyla ekstrakte edilen DNA konsantrasyonunu tespit etmek için kullanıldı. 1 µL DNA için, 199 µL seyreltilmiş Quantifluor Boya karıştırıldı. Oda sıcaklığında 5 dakikalık inkübasyondan sonra DNA konsantrasyon değerleri tespit edildi.

Astarlar Macrogen Company tarafından liyofilize formda sağlandı. Liyofilize astarlar, bir stok solüsyonu olarak 100 pmol/µL'lik bir nihai konsantrasyon verecek şekilde nükleaz içermeyen bir su içinde çözündürüldü. Bu astarların bir çalışma solüsyonu, 100 pmol/µL'lik bir çalışma astar solüsyonu elde etmek için 90 µL nükleaz içermeyen suya 10 µL astar stok solüsyonu -20°C'de saklanan eklenerek hazırlandı. Çizelge 3.8 qPCR primer ve prob dizilerini göstermektedir.

Çizelge 3.8 qPCR primer ve prob dizileri

Hedef	**Astar**	**Dizi**
Staphylococcus 16S rRNA	STPYF STPYR2	ACGGTCTTGCTGTCACTTATA TACACATATGTTCTTCCCTAATAA
femA-SA	F femA- R femA-	TGCCTTTACAGATAGCATGCCA AGTAAGT AAGCAAGCTGCAAT
	P femA-	GACC TCATTTCACGCAAACTGTTGGC CACTATG

Çizelge 3.9, 3.10 ve 3.11'de reaksiyon ayarı ve termal döngü rotokolü PCR bileşen hesaplama bilgileri verilmektedir. Şekil 3.14 PCR yoluya gen belirleme DNA çıkarımını göstermektedir. Şekil 3.15 gerçek zamanlı PCR makinesini göstermektedir. Şekil 3.16 *S. aureus* gerçek zamanlı PCR sonuçlarını göstermektedir.



Şekil 3.14 PCR yoluya gen belirleme DNA çıkarımı

Çizelge 3.9 Reaksiyon ayarı

Reaksiyon Sayısı	**5**	rxn	Astarların tavlama sıcaklığı	**56**
Reaksiyon Hacmi / tur	**10**	µL	Astar sayısı	**7**
Güvenlik Marjini	**5**	%	PCR Döngü Sayısı	**40**



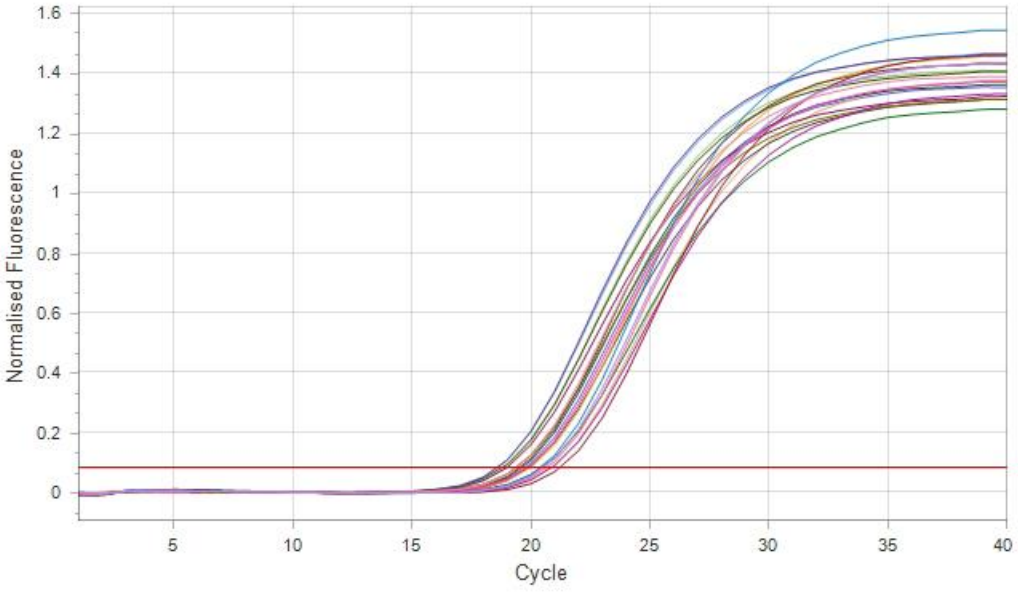
Şekil 3.15 Gerçek zamanlı PCR makinesi

Çizelge 3.10 Master karışım bileşenleri

	Stok	**Birim**	**Final**	**Birim**	**Hacim**	
					1 Numune	5,05 Numune
Master karışım	2	X	1	X	5	25,3
İleri astar	10	µM	1	µM	0,5	2,5
Geri astar Nükleaz İçermeyen Su	10	µM	1	µM	0,5 3	2,5 15,2
DNA		ng/µL		ng/µL	1	
Toplam hacim					10	
Tek rxn başına alikot	Tüp başına 9 µL Master karışım ve 1 µL Taslak ekleyin.					

Çizelge 3.11 Gerçek zamanlı PCR programı

Aşamalar	°C	m:s	Döngü
İlk denatürasyon	95	05:00	1
Denatürasyon	95	00:20	40
Tavlama	56	00:20 **Yeşil üzerinde edinme**	
Uzatma	72	00:20	



Şekil 3.16 *S. aureus* gerçek zamanlı PCR sonuçları

3.4 İstatistiksel Analiz

Bilgisayarlı istatistiksel analiz, IBM SPSS ver. 23.1 istatistik programı kullanılarak yapıldı. Karşılaştırma Ki-kare (X2) ve T-Testi kullanılarak yapıldı. P. değeri > 0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilirken, P. değeri > 0,05'ten büyük olanlar için istatistiksel olarak anlamsız kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Nazofaringeal Sürüntü Kültürü

Mevcut çalışmada Çizelge 4.1'de görüldüğü üzere hastalardan alınan 100 nazofarengeal numune bakteriyal kültürün belirlenmesi için test edilmiş olup %95'i pozitif bakteri kültürü göstermiştir.

Çizelge 4.1 Nazofarengeal sürüntü kültürü

Durum	**Çalışılan hastalar**	
	Adet	**%**
Pozitif	95	95
Negatif	5	5
Toplam	100	100

4.2 İzole Bakterilerin Dağılımı

İzole edilen bakterilerin çalışma grupları arasındaki dağılımına göre Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi en sık izole edilen bakteri %46,88 ile *S. aureus* olup, bunu %14,06 ile *S. epidermidis* ve %10,94 ile *E. coli* izlemiştir. Ayrıca Çizelge 4.3'te görüldüğü üzere çalışma vakaların %32,03'ünün sadece *S. aureus* kültürü ile olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.2 Çalışılan vakalar arasında izole bakterilerin dağılımı

İzole Bakteriler	**No**	**%**
Staphylococcus aureus	60	46,88
Streptococcus pneumoniae	10	7,81
H. influenzae	9	7,03
E. coli	14	10,94
P. aeruginosa	3	2,34
S. pyogenes	6	4,69
K. pneumoniae	8	6,25
Staphylococcus epidermidis	18	14,06
Toplam	128	100

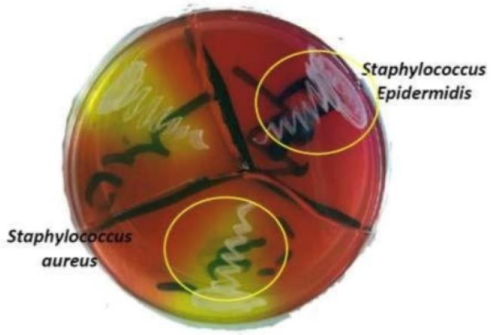
Çizelge 4.3 Çalışmadaki kültürlerin türleri

Kültürün türü	**No**	**%**
S. aureus ile	41	43,16
Karışık kültürlerle	19	20
S. aureus enfeksiyonsuz	35	36,84
Toplam	95	100

Şekil 4.1 kan agarı *üzerinde Staphylococcus aureus*'u, Şekil 4.2 mannitol tuz agar üzerinde *S. aureus* ve S. *epidermidis*'i göstermektedir. Şekil 4.3 kan agar üzerinde Klebsiella spp. büyümesini; Şekil 4.4 MacConkey agar üzerinde Klebsiella spp. büyümesini; Şekil 4.5 MacConkey agar üzerinde E. Coli kolonilerini; Şekil 4.6 kan agar üzerinde E. Coli kolonilerini; Şekil 4.7 jelatin testini; Şekil 4.8 Mannitol tuz agar üzerinde S. aureus'u; Şekil 4.9 Api Staph. yoluyla teşhis edilen S. aureus'u göstermektedir.



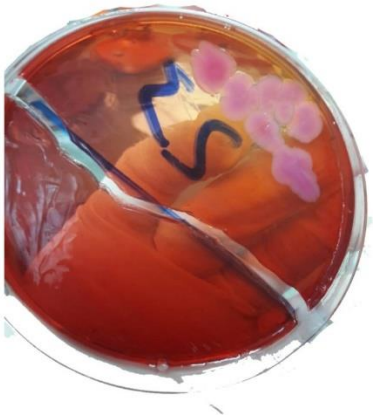
Şekil 4.1 Kan agarı üzerinde Staphylococcus aureus



Şekil 4.2 Mannitol tuz agar üzerinde *S. aureus* ve S. *epidermidis*



Şekil 4.3 Kan agar üzerinde Klebsiella spp. büyümesi



Şekil 4.4 MacConkey agar üzerinde Klebsiella spp. büyümesi



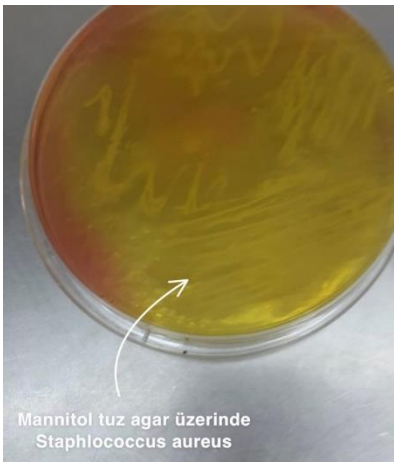
Şekil 4.5 MacConkey agar üzerinde E. Coli kolonileri



Şekil 4.6 Kan agar üzerinde E. Coli kolonileri



Şekil 4.7 Jelatin testi



Şekil 4.8 Mannitol tuz agar üzerinde S. aureus



Şekil 4.9 Api Staph. yoluyla teşhis edilen S. aureus

4.3 Yaşa Göre *S. aureus* Enfeksiyonlu Hastaların Dağılımı

Çizelge 4.4 yaşa göre *S. aureus* enfeksiyonlu hastaların dağılımını göstermektedir. Çalışma, *S. aureus* enfeksiyonunun yüksek oranının daha yaşlı hastalarda kaydedilmiş olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.4 Yaşa göre *S. aureus* enfeksiyonlu hastaların dağılımı

Yaş grupları	**Toplam +ve kültürlü hastalar**	***S. aureus*'lu hastalar**	
		Adet	**%**
7 – 10	15	5	8,33
11 – 20	16	4	6,67
21 – 30	12	3	5,00
31 – 40	9	8	13,33
41 – 50	11	9	15
51 – 60	17	14	23,33
61 – 70	15	17	28,33
Toplam	95	60	100

4.4 Cinsiyete Göre *S. aureus* Enfeksiyonlu Hastaların Dağılımı

Çizelge 4.5'te görüldüğü üzere çalışma, *S. aureus* enfekte hastaların çoğunun erkek (%60) olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.5 Cinsiyete göre *S. aureus* enfeksiyonlu hastaların dağılımı

Cinsiyet	***S. aureus* enfeksiyonlu hastalar**	
	Adet	**Adet**
Erkekler	36	60
Kadınlar	24	40
Toplam	60	100

4.5 *S. aureus* Enfeksiyonu ile Değişik Risk Faktörlerinin İlişkisi

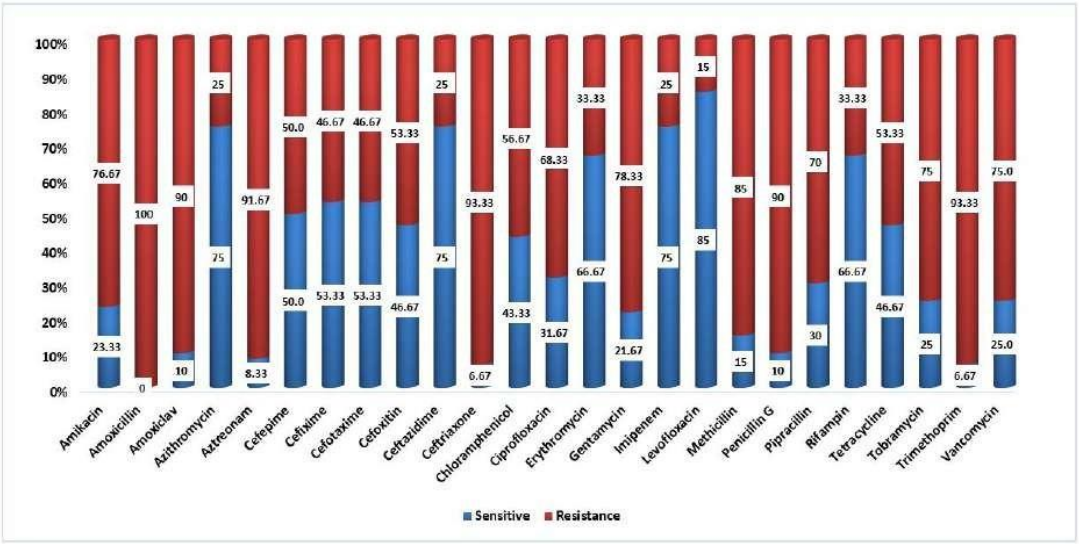
Çizelge 4.6 çeşitli risk faktörlerinin *S. aureus* enfeksiyonu ile ilişkisini göstermektedir. Çalışma, incelenen *S. aureus* enfeksiyonlu hastaların %36,67'sinin sigara içtiğini, %38,33'ünün tip 2 diyabetli olduğunu, %66,67'sinin solunum yolu enfeksiyonu olduğunu, %16,67'sinin astım olduğunu ve %5'inin farklı kanser türlerine sahip olduğunu gösterdi.

Çizelge 4.6 *S. aureus* enfeksiyonu ile değişik risk faktörlerinin ilişkisi

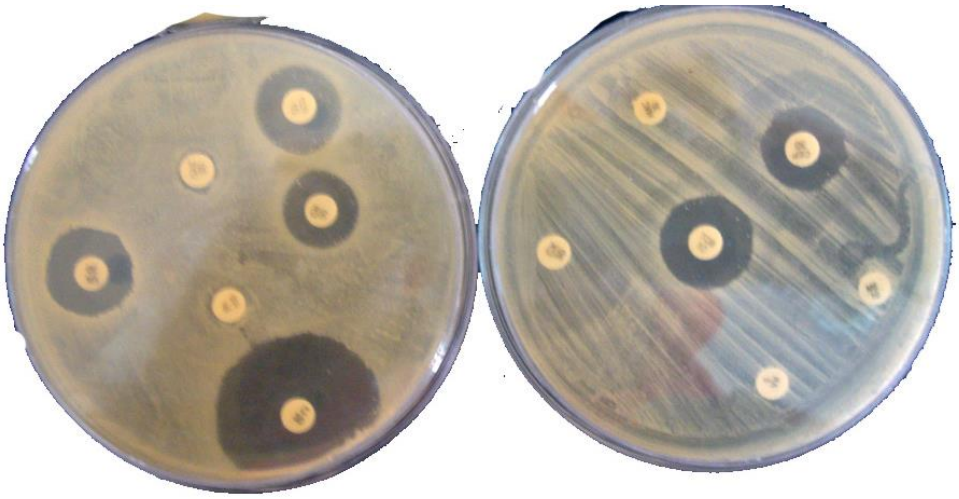
Risk Faktörü		***S. aureus*lu hastalar**	
		Adet	**%**
Sigara İçenler	Mevcut	22	36,67
	Yok	38	63,33
Tip 2 Diyabetler	Mevcut	23	38,33
	Yok	37	61,67
Solunum enfeksiyonu	Mevcut	40	66,67
	Yok	20	33,33
Astım	Mevcut	10	16,67
	Yok	50	83,33
Kanser	Mevcut	3	5
	Yok	57	95

4.6 *S. aureus*'un Antibiyotik Hassasiyetinin Dağılımı

Şekil 4.10'da görüldüğü üzere bu çalışmada *S. aureus*, levofloksasin %85, zitromisin, seftazidim ve imipeneme %75, rifampin ve eritromisine %66,67, sefiksim ve sefotaksim'in her biri için %53,33, amoksisiline %100 dirençli sefepim ve tetrasiklinin her birisi için %50 gibi yüksek oranda duyarlılık göstermiştir. Şekil 4.11 antibiyotik hassasiyet testi örneğini göstermektedir. Şekil 4.12 antibiyotik hassasiyetinin okumasını göstermektedir.



Şekil 4.10 *Staphylococcus aureus* izolatlarının antibiyotik hassasiyeti



Şekil 4.11 Antibiyotik hassasiyet testi örneği



Şekil 4.12 Antibiyotik hassasiyetinin okuması

4.7 Çalışılan Vakalardan *Staphylococcus aureus*'un Virülansının Dağılımı

S. aureus'un virülans faktörleri ile ilgili olarak Çizelge 4.7, tüm *S. aureus* izolatlarının koagülaz ve DNaz pozitif olduğunu, izolatların %95'inin beta-hemoliz, izolatların %86,67'sinin lesitinaz ve %35'inin ise proteaz üretimi olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.7 Çalışılan vakalardan *Staphylococcus aureus*'un virülansının dağılımı

Virülans Faktörü	***Staphylococcus aureus***	
	Adet	%
Koagulaz	60	100
Beta-hemoliz	57	95
Kapsül üretimi	50	83,33
Üreaz	60	100
Beta-laktamaz üretimi	42	70
Dnaz üretimi	60	100
Lesitinaz üretimi	52	86,67
Lipaz üretimi	44	73,33
Jelatinaz üretimi	60	100
Proteaz üretimi	21	35

4.8 *S. aureus*'un Virülans Faktörleri Olarak Antibiyotik Direncinin Dağılımı

Çizelge 4.8, *S. aureus* izolatlarında virülans faktörü olarak yüksek vankomisin direnci oranının %75, Beta-laktam ve metisiline dirençlerinin *S. aureus* izolatlarında sırasıyla %70 ve %85 olarak yüksek oranda kaydedildiğini göstermektedir.

Çizelge 4.8 *S. aureus*'un virülans faktörleri olarak antibiyotik direncinin dağılımı

Virülans Faktörü	***Staphylococcus aureus***	
	Adet	**%**
Vankomisin direnci	45	75
Beta – Laktam direnci	42	70
Metisilin direnci	51	85

4.9 Değişik Yöntemler Yoluyla Biyofilm Üretimine Bağlı Olarak *S. aureus* İzolatlarının Dağılımı

Çalışma, *S. aureus* izolatlarının Doku kültürü plak yöntemi ile %45'inin güçlü biyofilm üreticisi, tüp yöntemi ile %41,67 güçlü biyofilm üreticisi, CRA yöntemi ile %28,33 güçlü ve CRA ile %45 orta biyofilm üreticisi olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9 Değişik yöntemler yoluyla biyofilm üretimine bağlı olarak *S. aureus* izolatlarının dağılımı

Biyofilm yöntemi	**Sonuç**	**Adet**	**%**
Mikrotiter Plaka Yöntemi (MTP)	Negatif	21	35
	Orta	12	20
	Güçlü	27	45
	Toplam	60	100
Tüp yöntemi	Negatif	24	40
	Orta	11	18,33
	Güçlü	25	41,67
	Toplam	60	100
Kongo kırmızısıagar (CRA)	Negatif	16	26,67
	Orta	27	45
	Güçlü	17	28,33
	Toplam	60	100

X^2: 7,71 P. değeri: 0,034

4.10 Gerçek Zamanlı PCR Yoluyla *S. aureus* Genlerinin Moleküler Belirlemesi

Çizelge 4.10 ve 4.11'de görüldüğü üzere çalışma, hastaların solunum sisteminden izole edilen tüm *S. aureus* bakterilerinin, gerçek zamanlı PCR ile tespit edildiği üzere, *S. aureus 16S rRna* geni ile karakterize edildiğini ve %50 *S. aureus*'un *femA* genleri ile karakterize edildiğini göstermiştir.

Çizelge 4.10 Gerçek zamanlı PCR yoluyla belirlenen *S. aureus 16S rRna* geni

Belirlenen genler		***Staphylococcus aureus* izolatları**	
		Adet	**%**
S. aureus 16S rRNA	Pozitif	100	100
	Negatif	0	0
	Toplam	100	100

Çizelge 4.11 Gerçek zamanlı PCR yoluyla belirlenen *S. aureus* femA geni

Belirlenen genler		***Staphylococcus aureus* izolatları**	
		Adet	**%**
S. aureus femA	Pozitif	30	50
	Negatif	30	50
	Toplam	60	100

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

5.1 Nazofaringeal Sürüntü Kültürü

Bu çalışmada, hastalardan alınan 100 nazofaringeal örnek bakteri kültürü tespiti için test edildi, %95'i pozitif bakteri kültürü göstermiştir. İzole edilen bakterilerin çalışma grupları arasındaki dağılımına göre Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi en sık izole edilen bakteri %46,88 ile *S. aureus* olup, bunu %14,06 ile *S. epidermidis*, %10,94 ile *E. coli* izlemiştir. Çalışma ayrıca vakaların %32,03'ünün sadece *S. aureus* kültürüne sahip olduğunu gösterdi. Ahmed ve Salim (2016) bulgumuzla uyumlu olarak altı farklı bakteri türü izole etmiş olup toplam izolat 16 izolat iken en sık görülen bakteri %64 ile gram pozitif bakteri, *Staphylococcus aureus* olup bunu *Streptococcus pneumonia*'nın 3 izolatları %12 ile izlemiştir. Gram negatif bakteriler 4 bakteri türü, yani 2 Moraxella cattarhalis ve Escherichia coli izolatı her biri %8 ve her birinin bir izolatını içerir. İzolasyon sonuçları Manikandan ve Amsath (2013) tarafından yapılan çalışmalara yakındır. Zelelie ve Mekonnen (2019) ve Kousalya vd. (2010) ile uyumludur, çünkü *S. aureus* solunum yolu enfeksiyonu vakalarında en yaygın olanıdır. Mohammed (2013) tarafından Escherichia coli (%5,8), *Staphylococcus aureus* ve Streptococcus pyogenes sırasıyla %11,7 ve %4,9 bulunmuştur. Sonuçlardaki bu farklılıklar, örneklerin toplandığı sırada aynı hastaların antimikrobiyal tedavi altında olmasından kaynaklanıyor olabilir. Sonuçlarımız yaklaşık olarak Okesola ve Ige, 13 ile uyumludur, ancak diğer araştırmacılar tarafından bildirilen bulgulardan farklıdır (Özyılmaz *et al.* 2005, Liebowitz *et al.* 2003)

İnsan üst solunum yolu, zaman zaman bulaşıcı hastalıklara neden olan patojenlere dönüşen çeşitli *Streptococcus pneumoniae* (pneumococcus), *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* ve *Staphylococcus aureus* topluluğunun rezervuarıdır (Ieven *et al.* 2018). Solunum hastalığına neden olmak için, bakterilerin önce nazofaringeal nişi kolonize etmesi gerekir. Bu nişin kolonizasyonu dinamik bir süreçtir: türlerin edinilmesi ve ortadan kaldırılması, mikroplar ve mikroplar ile konak arasındaki etkileşimler ve çevresel faktörlerin müdahalesinin dinamik ve karmaşık bir mikrobiyal etkileşime neden olduğu ileri sürülmektedir. Dengeli bir durumda, tüm insan mikrobiyomunun bir parçası

olarak bu ekosistemin, insan konakçı için önemli bir yararlı rol oynadığı varsayılmaktadır (Chonmaitree *et al.* 2017).

Bununla birlikte, bu solunum mikrobiyal topluluğundaki dengesizlikler, yeni bir bakteriyel veya viral patojenin edinilmesine, çoklu potansiyel patojenik bakterilerin taşınmasına veya viral bir koenfeksiyona katkıda bulunabilir (Chonmaitree *et al.* 2017). Daha sonra, ekosistemdeki dengesizlikler, özellikle olgunlaşmamış birbağışıklık sistemi olan çocuklarda, bakteriyel patojenlerin aşırı büyümesi ve istilası ile solunum veya istilacı hastalıklara neden olabilir (Kramer *et al.* 2019). Bu çalışmanın bulguları, burun yolmanın *S. aureus*'un nazal taşıyıcılığı ile ilişkili olduğu hipotezini desteklemektedir. Burun yolma alışkanlığı büyük ihtimalle burunda kabuklanma ile başlar. KBB hastalarının ilk çalışma örneğinde, önceden tanımlanmış kriterlere göre burun seçici olarak sınıflandırılanlarda önemli ölçüde daha fazla taşıyıcı bulundu. Ayrıca, KBB uzmanı tarafından klinik uzmanlığına dayalı olarak burun seçici olarak sınıflandırılan hastalarda, önemli ölçüde daha yüksek *S. aureus* taşıma oranı vardı. Ayrıca, pozitif kültürlerin oranı ve burunda bulunan *S. aureus* yükü ile kendi kendine dereceli burun yolma sıklığı arasında önemli bir korelasyon vardır. Bu pozitif doz yanıtı, *S. aureus*'un burun yolma ile burunda taşınması arasında nedensel bir ilişki olduğunu düşündürür.

S. pneumoniae, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* ve *S. aureus*, solunum yolu enfeksiyonlarında yaygın olarak tanınan etiyolojik ajanlardır. Ancak bu türler tarafından kolonizasyon sağlıklı koşullarda da oldukça yaygındır ve özellikle çocuklarda kolonizasyon oranları yüksektir (Safari *et al.* 2015). Potansiyel patojenik bakteriler arasındaki etkileşimlerin yanı sıra, şu anda kommensaller ve potansiyel patojenik mikroplar arasındaki olası etkileşimlere de büyük ilgi vardır. Kommensallerin solunum ve invaziv hastalıkları önlemede önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Kommensallerin hastalıkları önleyebileceği olası mekanizmalar, potansiyel patojenlerin kolonizasyonu ve genişlemesinin inhibisyonu, immün modülasyon ve mukozal olgunlaşmanın ve bariyer fonksiyonunun uyarılmasıdır (Özyılmaz *et al.* 2005, Liebowitz *et al.* 2003).

5.2 Yaş ve Cinsiyete Göre *S. aureus* Enfeksiyonlu Hastaların Dağılımı

Çalışma, yaşlı hastalarda yüksek oranda *S. aureus* enfeksiyonu kaydedildiğini ve *S. aureus* ile enfekte hastaların çoğunluğunun %60 erkek olduğunu göstermiştir. Mohammed (2013), bulgumuzla uyumlu olarak, solunum sistemi bakteriyel enfeksiyonu ile enfekte olan erkeklerin sayısının kadınlardan daha fazla olduğunu, dolayısıyla izolat sayısının erkeklerde kadınlardan nispeten daha fazla olduğunu bulmuştur.

Daha önce yapılan farklı çalışmalara göre 49 yaş üstü hastalarda akciğer enfeksiyonu tekrar oranı artmıştır (Sapey *et al.* 2017, Chang *et al.* 2018, Liu *et al.* 2020). Xiao vd. (2017), pnömoniyi yaş artışıyla yakından ilişkili bir hastalık olarak tanımlamıştır. Yaşla orantılı enfeksiyon, yaşlanma süreci ilerledikçe solunum fonksiyonunda azalmaya yol açan fizyolojik değişikliklerden kaynaklanmaktadır (Safari *et al.* 2015). Bu çalışmada araştırılan hastaların cinsiyetine göre bu sonuç, erkeklerde ve kadınlarda pnömoni tekrar oranının sırasıyla %60,4 ve %39,6 olduğunu belirten Batton vd. (2018) ile uyumludur. Enfeksiyonun erkeklerde kadınlara göre daha baskın olmasının bir açıklaması muhtemelen sigara içmeninerkekler arasında daha yaygın olmasıdır (Vazquez-Martmez *et al.* 2018).

5.3 *S. aureus* Enfeksiyonunun Değişik Risk Faktörleri ile İlişkisi

Çalışma, incelenen *S. aureus* enfeksiyonu olan hastaların %36,67'sinin sigara içtiğini, %38,33'ünün tip 2 diyabetli olduğunu, %66,67'sinin solunum yolu enfeksiyonu olduğunu ve %16,67'sinin asma hastası olduğunu gösterdi.

Önceki raporlarla tutarlı olarak, Choi vd. (2006), sigara içmenin *S. aureus* kolonizasyonu ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Sigara içmenin solunum mukozalyüzeyini değiştirdiği, potansiyel patojenlerin, özellikle *Streptococcus pneumoniae* ve *Haemophilus influenzae* ve *S. aureus*'un bağlanmasını kolaylaştırdığı bilinmektedir. Bu, hava yolu kolonizasyonuna ve pnömoni gelişimine yol açar (Olsen *et al.* 2012). Lin vd. (2020) ayrıca, bazı eski sigara içenlerde pnömokok yapışmasının sigarayı bıraktıktan sonra 3 yıla kadar yüksek kaldığını bulmuştur.

Ek olarak, çalışmalar diyabet, rinit ve cilt hastalıkları gibi bazı kronik hastalıkların daha yüksek *S. aureus* taşıyıcılığına neden olduğunu göstermiştir (Smit *et al.* 2016, Kanafani *et al.* 2009, Duran *et al.* 2006). Bu görüşü desteklemek için, Khurram vd. (2004), daha önceki klinik temelli bir çalışmanın aksine, diyabetli hastalar ve sağlıklı bireyler arasında yüksek *S. aureus* taşıyıcılık oranları bulmuştur. Sonuçlar Manikandan ve Amsath (2013) tarafından yapılan çalışmalarla uyumluydu; Zelelie ve Mekonnen (2019) ve Kousalya vd. (2010), solunum yolu enfeksiyonu vakalarında en sık *S. aureus* olduğunu göstermiştir. Tarihsel olarak, stafilokok pnömonisi özellikle genç bebeklerin ve yaşlıların virülent bir enfeksiyonuydu, önemli bir endişe nedeni metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşlarının ortaya çıkması olmuştur (Lin *et al.* 2020). Buna ek olarak, klasik olarak tanımlanan hücre içi patojenlerin yanı sıra, *S. aureus* gibi mikroorganizmaların da ökaryotik konak hücrelerde hayatta kalabildiğine ve fırsatçı hücre içi patojenler olarak adlandırılabileceğine, nüks ve enfeksiyon için bir rezervuar oluşturan, nazal bölgede yerleşik olduğuna dair birikmiş kanıtlar vardır (mukoza veya akciğer parankimi) (Safari *et al.* 2015).

Ek olarak Kim vd. (2019) gram pozitif bakteri *S. aureus*'un atopik egzamayı alevlendirdiğini ve stafilokokal enterotoksinler gibi bakteriyel süperantijen proteinlerine T helper 2 yanlı immün yanıt yoluyla nazal polipozisli kronik rinosinüzit gelişimine katkıda bulunduğunu göstermiştir. Diğer çalışmalar astım tanısının *S. aureus* kolonizasyonu için bir risk faktörü olduğuna dair kanıt bulmuştur (Bogdan *et al.* 2020, Tang *et al.* 2021). Biyolojik olarak makul bir mekanizma, gözlemlenen ilişkileri açıklayabilir. Çünkü spesifik IgE yanıtı ve atopik durum dahil olmak üzere konak yanıtları, *S. aureus* kolonizasyonu ile astım ve hırıltı arasındaki ilişkilere aracılık edebilir (Sintobin *et al.* 2019)

5.4 *S. aureus*'un Antibiyotik Hassasiyetinin Dağılımı

Bu çalışmada *S. aureus* levofloksasin %85, Azitromisin, seftazidim ve imipenem %75, rifampin ve eritromisine %66,67, sefiksim ve sefotaksimin her birisine %50, her birisinin Amoksisiline %100 dirençli sefepim ve tetrasiklin için %53,33 yüksek duyarlılık göstermiştir.

Al-Zoubi vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada %39,6 *S. aureus* izolatının levofloksasin ve azitromisine duyarlı ancak penisiline yüksek dirençli olduğu bulunmuştur. Daha önceki çalışmalarda olduğu gibi, *S. aureus* izolatları da penisiline (ampisilin ve amoksisilin) karşı yüksek oranlarda direnç göstermiştir. Levofloksasin, gentamisin, klindamisin trimetoprim-sülfametoksazol ve tetrasikline karşı orta duyarlılık yüzdeleri bulundu (Moghnieh *et al.* 2018, Achek *et al.* 2018). Mama vd. (2019) *S. aureus* izolatlarının amoksisiline %100, ampisiline %86,4, amikasine %8,1, eritromisine %54, tetrasikline %54, sefotaksime %54, metisiline %21,6 ve vankomisine %10,8 dirençli olduğunu bulmuşlardır. Al-Safani vd. (2018), Babylon'da bakteriyemili çocuklardan izole edilen *S. aureus*'un ampisilin, amoksisilin, metoprim ve gentamisin'e karşı oldukça dirençli olduğunu bulmuştur. Al-Turihi (2009), Al-Najaf Al-Ashraf'ta hastane bakteriyemisi olan hastalar üzerinde yaptığı bir çalışmada, *S. aureus*'un antibiyotik direnç oranlarının şöyle olduğunu göstermiştir: penisilin %90,8; oksasilin %18,5; gentamisin %49,2; trimetoprim-sülfametoksazol %49; siprofloksasin %60 ve klindamisin %55,2 iken tüm *S. aureus* izolatları vankomisine duyarlıydı. Bu çalışmada *S. aureus*'un antibiyotiklere direnci yüksek olup, bu sonuç diğer çalışmalarla uyumludur (Sapey *et al.* 2017, Chang *et al.* 2018, Liu *et al.* 2020). Mohammed (2013) *Staphylococcus aureus* bakteriyemisi üzerinde yaptığı bir çalışmada, izolatların %90'ından fazlasının siprofloksasin, eritromisin, gentamisin, tobramisin, tetrasiklin ve trimetoprim-sülfametoksazole dirençli olduğunu, bakterilerin ise vankomisine en düşük direnç oranlarına sahip olduğunu belirtmiştir.

5.5 Çalışılan Vakalardan *Staphylococcus aureus*'un Virülans Dağılımı

Staphylococcus aureus'un virülans faktörleri ile ilgili olarak, Çizelge 4.8, tüm *S. aureus* izolatlarının koagülaz ve DNaz pozitif olduğunu, izolatların %95'inin beta- hemoliz, izolatların %86,67'sinin lesitinaz ve %35'inin proteaz üretimi olduğunu göstermektedir.

Patojenik bakterilerin virülans faktörlerini keşfetmek, patogenezi anlamada ve yeni ilaçlar ve yeni aşıların tasarımı için hedeflerin belirlenmesinde bir anahtardır (Bien *et al.* 2011). *S. aureus*'tan, hastanın dokularını kolonize etme, antibiyotiklere direnci artırma ve enfeksiyon sonuçlarını kötüleştirme yeteneklerini artıran çeşitli virülans ve patojenite

faktörleri tanımlanmıştır (Alsamarai *et al.* 2015). Al-Khafaji (2018) tarafından yapılan bir çalışmada koagülaz pozitif stafilokoklar için DNaz testi, kapsül varlığı ve hemoliz testi pozitiflik oranı sırasıyla %42,2, %53,3, %74,4 olarak bildirilmiştir.

Bulgumuz, *S. aureus* izolatlarının yaklaşık %85,1'inin β-hemoliz ve DNAaz üretimi olduğunu bildiren Al-Jundiy (2005) ile aynı fikirdeydi. Bakterilerin β-hemoliz üretimi için çeşitli faktörlere göre değişiklik gösterme yeteneği, en önemlisi kültür ortamında kullanılan kırmızı kan hücrelerinin kaynağı olup, bu da bakterileri β- hemoliz üretimine kadar tespit etme yeteneği olup ayrıca kullanılan test yönteminden ve kullanılan kanda serum ve kolesterol varlığından etkilenmektedir ve bu hemoliz inhibisyonu sürecine yol açar (Alsamarai *et al.* 2015). Bu nedenle *S. aureus*, kan hücrelerini hemolize eden ozmotik özelliklerden dolayı veya hücrede gözenek delikleri oluşturması veya insan kan hücresi tiplerini eritmek için sitotoksik olması nedeniyle hemolizin üretme kabiliyetine sahiptir (Lin *et al.* 2020). *S. aureus* izolatlarının bu enzimleri ürettiği ekstraselüler enzim üzerinde gerçekleştirilen DNaz, lesitinaz ve proteaz üretimi, araştırmadaki bulguların çoğuna benzemektedir (İbrahim *et al.* 2016; Kanafani *et al.* 2009; Duran *et al.* 2006).

5.6 *S. aureus*'un Virülans Faktörleri Olarak Antibiyotik Direncinin Dağılımı

Çizelge 4.9, virülans faktörü olarak yüksek vankomisin direnci oranının *S. aureus* izolatlarında %75 bulunduğunu, Beta-laktam ve metisiline dirençlerinin *S. aureus* izolatlarında sırasıyla %70 ve %85 olarak yüksek oranda kaydedildiğini göstermektedir. Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), son on yılda önemli bir epidemiyolojik ve klinik problem haline gelmiştir. Bu suşlar dünya çapında yayılarak hastane kaynaklı ve daha yakın zamanda toplum temelli enfeksiyonlara neden olmuştur. Bu, glikopeptidlerin aşırı kullanımına ve Vankomisine dirençli *S. aureus*'un ortaya çıkmasına neden olmuştur. Vankomisine dirençli *S. aureus* izolatları dünyanın birçok yerinde ortaya çıkmıştır. Bu izolatların vankomisine karşı klinik olarak anlamlı direnç seviyelerine ulaştığı ve bu da tedavinin başarısız olmasına yol açtığı görülmektedir. VRSA — MRSA enfeksiyonu ile Vankomisin, Metisilin'in sık kullanımının yanlış olması *Staphylococcus* bakterilerinin dirençli hale gelmesine neden olur (Lin *et al.* 2020). Son otuz yılda vankomisin, MRSA enfeksiyonları için tercih edilen antibiyotik olarak

tanımlanmıştır. Gerçekten de, mevcut tek etkili antibakteriyel maddenin vankomisin olduğu MRSA'nın çoklu ilaca dirençli klonları yakın zamanda tanımlanmıştır. Al-Zoubi vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, vankomisinin MRSA enfeksiyonları için terapötik başarısızlığını açıklayan bir çalışma, etkili bir tedavisi olmayacak olan MRSA suşlarının ortaya çıkmasıyla ilgili önemli endişeler uyandırmıştır. Değişik yöntemlerle biyofilm üretimine göre *S. aureus* izolatlarının dağılımı Çalışma, *S. aureus* izolatlarının Doku kültürü plak yöntemi ile %45'inin güçlü biyofilm üreticisi, tüp yöntemi ile %41,67 güçlü biyofilm üreticisi, CRA yöntemi ile %28,33 güçlü ve CRA ile %45 orta düzeyde biyofilm üreticisi olduğunu göstermiştir. Biyofilm oluşumu, çekim, yapışma ve agregasyon aşamalarına bölünebilen karmaşık, çok aşamalı bir süreçtir. Bu yapışma aşamalarına, elektrostatik yük, hidrofobiklik gibi çeşitli spesifik olmayan faktörler ve bakteriyel adezinler gibi spesifik faktörler aracılık eder (Vazquez — Martinez *et al.* 2018). Biyofilmler, hücreleri kaplayan hücre dışı polimerik maddenin varlığı ile karakterize edilir. Biyofilm ile ilişkili bakteriler, serbest asılı bakterilerden farklı davranır. Büyüme hızı ve antibiyotik direnci açısından. Bu nedenle biyofilm bir halk sağlığı sorunu teşkil etmektedir (Smit *et al.* 2016; Kanafani *et al.* 2009; Duran *et al.* 2006).

Knobloch vd. (2002), *S. aureus* izolatlarının %51'inin doku kültürü plakasının güçlü biyofilm üreticisi izolatlar olduğunu, %39'unun biyofilm üreticisi olmayan izolatlar olduğunu göstermiştir. Sonuçlarımız, tüp yöntemiyle *S. aureus* izolatlarının %44,89'unun güçlü biyofilm üreticisi, biyofilm üretmeyen suşların ise %35,11'inin tespit edildiği Cassat vd. (2011) ile uyumludur. Ayrıca Oliveira vd. (2006), MTP yöntemini kullanarak izolatların %49'unun biyofilm üreticisi ve %31'inin biyofilm üreticisi olmadığını tespit etmiştir. MTP, bakteri suşlarının hızla çoğalma kabiliyeti hakkında nicel bilgi sağlayan spektrofotometrik ölçümlere dayanıyordu ve son derece hassas bir testti (Hamilos 2019). Bu nedenle standart yöntem diğer yöntemlere göre daha iyi sonuç vermiştir.

Bu gözlemler, Rewatkar ve Wadher (2013) tarafından bildirilen gözlemlerle tamamen çelişmektedir. Sonuçlarımıza dayanarak, *Staphylococcus* izolatları tarafından biyofilm oluşumunun tespiti için CRA yöntemini öneremiyoruz. Verilerimiz, TCP yönteminin

tarama için doğru ve tekrarlanabilir bir yöntem olduğunu ve butekniğin klinik stafilokok izolatları tarafından biyofilm oluşumunu belirlemek için güvenilir bir kantitatif araç olarak hizmet edebileceğini göstermektedir.

5.7 *S. aureus* İzolatlarının Moleküler Belirlemesi

Çalışma, hastaların solunum sisteminden izole edilen tüm *S. aureus* bakterilerinin *S. aureus 16S rRna* geni ile karakterize olduğunu göstermiştir. Al-Alak (2018) bulgumuzla uyumlu olarak, PCR'nin hızlı, hassas, spesifik ve ucuz bir yöntem olduğunu belirtmiş ve bunun *S. aureus*'u saptamak için geleneksel tahlillerin yerini alabileceğini, özellikle de tüm *S. aureus* bakterilerinin izole edilen hastaların solunum sisteminden *S. aureus 16S rRna* geni ile karakterize edildiğini öne sürmüştür. 16SrDNA'nın PCR yöntemiyle daha hızlı ve güvenilir bir şekilde saptanması için PCR'yi kullanan birkaç çalışma vardır. Mevcut çalışmanın sonuçları, 16s-rDNA amplifikasyonunun tüm 126 stafilokok izolatını *S. aureus* olarak doğruladığını fark eden Al-Musawi vd. (2014) tarafından bildirilen aynı çalışmanın sonucuyla uyumludur. Saad ve Ahmed (2019), UTI'li hastalardan izole edilen tüm *S. aureus* bakterilerinin *S. aureus 16S rRna* geni ile karakterize olduğunu bulmuşlardır. Bu bulgu, 16SrRNA geninin tam yüzdesini ortaya koyan diğer yerel çalışmalarla (Ibed et al. 2014, Hashim *et al.* 2019, Degaim *et al.* 2015) ile uyumludur. Irak dışında, tüm izolatların 16S rRNA'ya sahip olduğunu kaydeden Makgotlho vd. (2009) ve Al-Talib vd. (2009) tarafından kaydedilenlerden bazı sonuçlar alınması konusunda anlaşmışlardır. Bu çalışmanın sonuçları, bazı *S. aureus* bakterilerinin *S. aureus 16S rRna* geni ile karakterize edildiğini belirten Zhang vd. (2004) ile aynı fikirde değildir. Bu farklılıklar birçok faktöre bağlı olabilir; kullanılan klinik örneklerin kaynakları ve sayısı, coğrafi bağımlılık ve kullanılan farklı tekniklerin duyarlılığı gibi (Fida *et al.* 2021).

Bu nedenle *Staphylococcus aureus* suşlarının moleküler tanımlanması, bu bakterinin neden olduğu hastalıkların tedavi sürecinin etkin yönetilmesinde ve etkin tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde büyük önem taşımaktadır. Çalışmamız kapsamında *Staphylococcus aureus* suşlarının moleküler düzeyde incelenmesinden elde edilecek sonuçlar bu alanda yapılacak olan çalışmalara referans olması açısından önemlidir.

Özellikle Irak gibi gelişmekte olan ülkelerde sağlık sisteminde birçok eksikliğin olduğu yadsınamaz bir gerçektir. Bu bağlamda çalışmamız halk sağlığı açısından da önemlidir.

Gerçek zamanlı PCR ile tespit edilen çalışma, *S. aureus*'un %50'sinin *femA* genlerine sahip olduğunu göstermiştir. Bu bulgu ile uyumlu olarak Neamah vd. (2019) çalışmasında 72 izolat arasından *S. aureus* izolatlarının %50'sinin *femA* genini barındırdığını bulmuştur. Önceki bir çalışmada, MRSA'nın %55,1'inin *femA* genini ifade ettiği bildirilir iken (Kaur *et al.* 2012), başka bir çalışmada ise MRSA örnekleri arasında *femA* geni için %64 prevalans rapor edilmiştir (D'Souza *et al.* 2010). Nasir vd. (2019) gerçek zamanlı PCR ile tespit edildiği üzere *S. aureus*'un %42,10'unun *femA* genleri ile olduğunu belirtmiştir. Sonuç aynı zamanda Baba ve Malik (2014) ile Chen vd. (2017) tarafından bildirilenlerle de uyumludur.

Sonuçlardaki bu tür farklılıklar coğrafi varyasyona bağlandı. İnsan ve sığırlardan klinik olarak izole edilmiş iki yerel *S. aureus* suşu arasındaki ilişkinin derecesini belirlemek için *femA* ve *mecA* için filogenetik ağaçlar her bir gene göreayrı ayrı oluşturulmuştur (Barzani *et al.* 2017). *FemA* geninin inaktive edilmiş *S. aureus* suşunun metisiline direnç özelliğini kaybettiği, ancak transdüksiyon *femA* geninin direnci geri kazandırdığı gösterilerek *femA* geninin metisiline direnç mekanizmasındaki önemi desteklenmiştir (Mohammadi *et al.* 2020).

5.8 Genel Sonuçlar

Hastalardan alınan nazofaringeal örneklerin çoğu bakteri kültürü tespiti içintest edildi ve en yaygın izole edilen *S. aureus* idi. Çalışma, yaşlı erkek hastalarda yüksek oranda *S. aureus* enfeksiyonununkaydedildiğini göstermiştir.

Sigara, tip 2 diyabet ve Asma, solunum sistemi *S. aureus* enfeksiyonunun riskfaktörü olarak sonuçlanır. %36,6 Sigara içen, %38,33'ü tip 2 diyabetli, %66,67'sinde solunum yolu enfeksiyonuolan,Bu çalışmada *S. aureus*, levofloksasin, zitromisin, seftazidim ve imipenem'eyüksek oranda duyarlılık göstermiş ve amoksisiline tam direnç göstermiştir. *S. aureus* izolatlarının tamamı koagülaz ve DNaz pozitif, izolatların %95'i betahemoliz,

izolatların %86,67'si lesitinaz ve %35'i proteaz üretimiydi. *S. aureus* izolatlarının çoğu Vankomisin, Beta-laktam ve metisiline dirençliydi. Mikrotiter plakası yöntemi, *S. aureus* izolatlarının biyofilm üretimini tespit etmenin en iyi yoluydu. Gerçek zamanlı PCR ile hastaların solunum sisteminden izole edilen tüm *S. aureus* bakterileri *S. aureus 16S rRNA* geni ve %50'si ise *S. aureus femA* genleri ile karakterize edildi.

5.9 Tavsiyeler

İlk olarak PCR'nin, devam eden antimikrobiyal tedavi gören hastalardan alınan örnekler de dahil olmak üzere klinik örneklerin doğrudan test edilmesi yoluyla *S. aureus* enfeksiyonlarının hızlı teşhisi olarak kullanılması tavsiye edilmektedir. İkinci olarak enfeksiyon standartları yüksek olan *S. aureus* izolatlarının metisilin duyarlılık paterninin sürekli izlenmesi, metisiline dirençli *S. aureus* bulaşmasını önleyebilir.

KAYNAKLAR

Abdulgader, S. M., Shittu, A. O., Nicol, M. P. and Kaba, M. 2015. Molecular epidemiology of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Africa: a systematic review. Frontiers in microbiology, 6: 348-357.

Achek, R., Hotzel, H., Cantekin, Z., Nabi, I., Hamdi, T. M., Neubauer, H. and El-Adawy, H. 2018. Emerging of antimicrobial resistance in staphylococci isolated from clinical and food samples in Algeria. BMC research notes, 11(1): 1-7.

Ahmed, K. D. and Salim, R. J. 2016. Isolation and Diagnosis of Aerobic Bacteria from Patients with Respiratory Tract Infection and Partial Characterization of Their Plasmid Profile. Ibn AL-Haitham Journal For Pure and Applied Science, 29(3): 260-270.

Ahookhosh, K., Pourmehran, O., Aminfar, H., Mohammadpourfard, M., Sarafraz, M. M. and Hamishehkar, H. 2020. Development of human respiratory airway models: A review. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 145: e105233.

Al-Alak, S. K. 2018. Molecular Identifcation of 16S rRNA gene in *Staphylococcus aureus* Isolated from Wounds and Burns by PCR Technique and Study Resistance of Fusidic acid. Iraqi Journal of Cancer and Medical Genetics, 9(1): 134-145.

Al-Jundiy, A. S. 2005. Immunological Study on TSS-1 toxin extracted from *Staphylococcus aureus* Isolated from infected wounds. Doctoral dissertation, Ph. D. Thesis. College of Science/AL-Mustansyria University. Iraq.

Al-Khafaji, A. N. 2018. Isolation and Identification of Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* and Detection their Ability to the Production of Virulence Factors. Journal of University of Babylon for Pure and Applied Sciences, 26(8): 100-111.

Al-Musawi, M. H. J., Al-Rubaye, M. T. S. and Hosseini, M. 2014. Culture and Molecular Detection of *Staphylococcus aureus* in Dairy Products of Ahwaz. Al-Mustansiriyah Journal of Pharmaceutical Sciences(AJPS), 14(2): 103-107.

Al-Safani, A. M. A., Al-Shamahy, H. A. and Al-Moyed, K. A. 2018. Prevalence, antimicrobial susceptibility pattern and risk factors of MRSA isolated fromclinical specimens among military patients at 48 medical compound in Sana'a city- Yemen. Univers JPharm Res, 3(3): 40-44.

Alsamarai, A. M., Abbas, H. M. and Atia, Q. M. 2015. Nasal carriage of methicillin resistant Staph aureus in food provider in restaurant at Samara city. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 4(6): 50-58.

Al-Talib, H., Yean, C. Y., Al-Khateeb, A., Hassan, H., Singh, K. K. B., Al- Jashamy, K. and Ravichandran, M. 2009. A pentaplex PCR assay for the rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and Panton-Valentine Leucocidin. BMC microbiology, 9(1): 113-119.

Al-Turihi, T. S. A. D. 2009. Epidemiological study of nosocomial bacteremia in Al- Najaf Al-Ashraf. Kufa Medical Journal, 12(1): 1523-32.

Al-Zoubi, M. S., Al-Tayyar, I. A., Hussein, E., Al Jabali, A. and Khudairat, S. 2015. Antimicrobial susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical specimens in Northern area of Jordan. Iranian journal of microbiology, 7(5): 265-174.

Arias, C. A., Reyes, J., Carvajal, L. P., Rincon, S., Diaz, L., Panesso, D. and Seas, C. 2017. A prospective cohort multicenter study of molecular epidemiology and phylogenomics of *Staphylococcus aureus* bacteremia in nine Latin American countries. Antimicrobial agents and chemotherapy, 61(10): e00816- 17.

Baba, S. A. and Malik, S. A. 2014. Evaluation of antioxidant and antibacterial activity of methanolic extracts of Gentiana kurroo royle. Saudi Journal of Biological Sciences, 21(5): 493-498.

Barzani, K. K., Turkey, A. M. and Abed, J. J. 2017. Comparison Study of mecA Gene-Based PCR With Phenotypic Methods For Detecting Biofilm Forming Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates and Comparison of mecAWith femA, femB and mecC Genes. Journal of university of Anbar for Pure science, 11(1): 1-13.

Batton, K. A., Austin, C. O., Bruno, K. A., Burger, C. D., Shapiro, B. P. and Fairweather, D. 2018. Sex differences in pulmonary arterial hypertension:role of infection and autoimmunity in the pathogenesis of disease. Biology of sex Differences, 9(1): 1-14.

Bien, J., Sokolova, O. and Bozko, P. 2011. Characterization of virulence factors of *Staphylococcus aureus*: novel function of known virulence factors that are

implicated in activation of airway epithelial proinflammatory response. Journal of pathogens, 15(8): 65-79.

Bogdan, R. D., Rusu, L., Toma, A. I. and Nastase, L. 2020. Significant Clinical Associations Between Exposure Type Factors and Recurrent Wheezing and Asthma in Children. Journal of Medicine and Life, 13(4): 600-13.

Brown, J. W., Smith, S. A. 2017. The past sure is tense: On interpreting phylogenetic divergence 576 time estimates. Systematic Biology, 67: 340–353.

Bulitta, J. B., Jiao, Y., Drescher, S. K., Oliver, A., Louie, A., Moya, B. and Landersdorfer, C. B. 2019. Four decades of P-lactam antibioticpharmacokinetics in cystic fibrosis. Clinical pharmacokinetics, 58(2): 143-156.

Cassat, J. E., Lee, C. Y. and Smeltzer, M. S. 2007. Investigation of biofilm formationin clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. In Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) protocols, 127-144. Humana Press.

Chang, S. C., Lai, J. I., Lu, M. C., Lin, K. H., Wang, W. S., Lo, S. S. and Lai, Y. C. 2018. Reduction in the incidence of pneumonia in elderly patients after hip fracture surgery: an inpatient pulmonary rehabilitation program. Medicine, 97(33): 1344-1355.

Chen, C., Zhao, Q., Guo, J., Li, Y. and Chen, Q. 2017. Identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) using simultaneous detection of mecA, nuc and femB by loop-mediated isothermal amplification (LAMP). Current microbiology, 74(8): 965-971.

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

Chonmaitree, T., Jennings, K., Golovko, G., Khanipov, K., Pimenova, M., Patel, J. A. and Fofanov, Y. 2017. Nasopharyngeal microbiota in infants and changes during viral upper respiratory tract infection and acute otitis media. PloS one, 12(7): e0180630.

Cruickshank, R., Duguid, J. P., Marmion, B. R. and Swain, R. H. A. 1975. Medical Microbiology, 12th Ed ., Living stone, pp. 812-825, London, New York.

Dayan, G. H., Mohamed, N., Scully, I. L., Cooper, D., Begier, E., Eiden, J. and Anderson, A. S. 2016. *Staphylococcus aureus*: the current state of disease, pathophysiology and strategies for prevention. Expert review of vaccines, 15(11): 1373-1392.

Degaim, Z. D., Shani, W. S. and Hamim, S. S. 2015. Virulence factors of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) isolated from burn patients.International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 4: 898- 906.

D'Souza, N., Rodrigues, C. and Mehta, A. 2010. Molecular characterization of methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* with emergence of epidemic clones of sequence type(ST) 22 and ST 772 in Mumbai, India. Journal of clinical microbiology, 48(5): 1806-1811.

Duran, N., Ocak, S. and Eskiocak, A. F. 2006. *Staphylococcus aureus* nasal carriage among the diabetic and non-diabetic haemodialysis patients. International journal of clinical practice, 60(10): 1204-1209.

Egorov, A. M., Ulyashova, M. M. and Rubtsova, M. Y. 2020. Inhibitors of P- lactamases. New life of P-lactam antibiotics. Biochemistry(Moscow), 85(11): 1292-1309.

Eibach, D., Nagel, M., Hogan, B., Azuure, C., Krumkamp, R., Dekker, D. and May, J. 2019. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* among children in the Ashanti Region of Ghana. PloS one, 12(1): e0170320.

Enany, S. and Alexander, L. C. 2017. The rise of virulence and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. BoD-Books on Demand.

Fida, M., Wolf, M. J., Hamdi, A., Vijayvargiya, P., Garrigos, Z. E., Khalil, S. and Patel, R. 2021. Detection of Pathogenic Bacteria from Septic Patients Using 16S rRNA gene Targeted Metagenomic Sequencing. Clinical Infectious Diseases, 45(1): 64-73.

Gao, P., Ho, P. L., Yan, B., Sze, K. H., Davies, J. and Kao, R. Y. T. 2018. Suppression of *Staphylococcus aureus* virulence by a small-molecule compound. Proceedings of the National Academy of Sciences, 115(31): 8003-8008.

Gomes-Fernandes, M., Laabei, M., Pagan, N., Hidalgo, J., Molinos, S., Villar Hernandez, R. and Prat, C. 2017. Accessory gene regulator(Agr) functionality in *Staphylococcus aureus* derived from lower respiratory tractinfections. PLoS One, 12(4): e0175552.

Goudarzi, M., Goudarzi, H., Sâ Figueiredo, A. M., Udo, E. E., Fazeli, M., Asadzadeh, M. and Seyedjavadi, S. S. 2016. Molecular characterization of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from intensive care units in Iran: ST22-SCC mec IV/t790 emerges as the major clone. PloS one, 11(5): e0155529.

Grecu, C., Grecu, A., Serban, I. L., Hurjui, I., Delianu, C., Maranduca, M. A. and Hurjui, L. L. 2018. Prevalence of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* with special reference to number of methicillin resistance and antimicrobial evaluation among apparently people with good health status. The Medical- Surgical Journal, 122(4): 819-825.

Hamilos, D. L. 2019. Biofilm formations in pediatric respiratory tract infection. Current infectious disease reports, 21(2): 1-13.

Hashim, I. A., Wdaah, Q. H. and Atya, A. A. 2019. Potential effect of antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* and Pseudomonas aeruginosa strains from patients with skin infections. University of Thi-Qar Journal of Science, 7(1): 7-14.

Hu, Q., Peng, H. and Rao, X. 2016. Molecular events for promotion of vancomycin resistance in vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus*. Frontiers in microbiology, 7: 1601-109.

Ibed, A. N. and Hamim, S. S. 2014. Molecular detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from burns infection in Al-Nasiriyah City. World Journal of Pharmaceutical Sciences, 2: 950-954.

İbrahim, O. M. S., Sarhan, S. R. and Salih, S. I. 2016. In vitro evaluation of isolated Staphylococcal-bacteriophage in killing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Adv. Anim. Vet. Sci, 4(10): 550-562.

Ieven, M., Coenen, S., Loens, K., Lammens, C., Coenjaerts, F., Vanderstraeten, A. and GRACE consortium. 2018. Aetiology of lower respiratory tract infectionin adults in primary care: a prospective study in 11 European countries. Clinical microbiology and infection, 24(11): 1158-1163.

Jaeger, J. M., Titus, B. J. and Blank, R. S. 2019. Essential anatomy and physiology ofthe respiratory system and the pulmonary circulation. In Principles and practice of anesthesia for thoracic surgery, pp. 65-92. Springer, Cham.

Jiang, J. H., Bhuiyan, M. S., Shen, H. H., Cameron, D. R., Rupasinghe, T. W., Wu, C. M. and Peleg, A. Y. 2019. Antibiotic resistance and host immune evasion in

Staphylococcus aureus mediated by a metabolic adaptation. Proceedings of the National Academy of Sciences, 116(9): 3722-3727.

Kanafani, Z. A., Kourany, W. M., Fowler, V. G., Levine, D. P., Vigliani, G. A., Campion, M. and Boucher, H. W. 2009. Clinical characteristics and outcomes of diabetic patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia and endocarditis. European journal of clinical microbiology and infectious diseases, 28(12): 1477-1482.

Kates, A. E., Thapaliya, D., Smith, T. C. and Chorazy, M. L. 2018. Prevalence and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* from human stool samples. Antimicrobial Resistance and Infection Control, 7(1): 1-9.

Kaur, H., Purwar, S., Saini, A., Kaur, H., Karadesai, S. G., Kholkute, S. D. and Roy, S. 2012. Status of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections and evaluation of PVL producing strains in Belgaum, South India. JKIMSU, 1(2): 43-51.

Khurram, I. M., Khan, S. A., Khwaja, A. A., Khan, R., Khokher, S. A., Khawar, S. and Khan, T. A. 2004. Risk factors for clinical infection in patients colonized with methicillin resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA). Journal-Pakistan Medical Association, 54(8): 408-412.

Kim, H. J., Choi, Q., Kwon, G. C. and Koo, S. H. 2020. Molecular epidemiology and virulence factors of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients with bacteremia. Journal of clinical laboratory analysis, 34(3): e23077.

Kim, Y. C., Won, H. K., Lee, J. W., Sohn, K. H., Kim, M. H., Kim, T. B. and Song, W. J. 2019. *Staphylococcus aureus* nasal colonization and asthma in adults: systematic review and meta-analysis. The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice, 7(2): 606-615.

Knobloch, J. K. M., Horstkotte, M. A., Rohde, H. and Mack, D. 2002. Evaluation of different detection methods of biofilm formation in *Staphylococcus aureus*.Medical microbiology and immunology, 191(2): 101-106.

Kobayashi, T., Glatz, M., Horiuchi, K., Kawasaki, H., Akiyama, H., Kaplan, D. H. 2015. Dysbiosis and *Staphylococcus aureus* colonization drives inflammation in atopic dermatitis. Immunity, 42: 756–66.

Kourtis, A. P., Hatfield, K., Baggs, J., Mu, Y., See, I., Epson, E., Nadle, J., Kainer, M. A., Dumyati, G., Petit, S. and Ray, S. M. 2019. Emerging Infections Program

MRSA author group, Ham, D., Capers, C., Ewing, H., Coffin, N., McDonald, L. C., Jernigan, J. and Cardo, D.. Vital signs: Epidemiology and recent trends in methicillin-resistant and in methicillinsusceptible *Staphylococcus aureus* bloodstream infections — United States, MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report, 68(9): 214–219.

Kousalya, K., Thirumurugu, S., Arumainayagam, D. C., Manavalan, R., Vasantha, J. and Reddy, C. U. M. 2010. Antimicrobial resistance of bacterial agents of the upper respiratory tract in South Indian population. Journal of advanced pharmaceutical technology and research, 1(2): 207-213.

Kramer, T. S., Schröder, C., Behnke, M., Aghdassi, S. J., Geffers, C., Gastmeier, P. and Remschmidt, C. 2019. Decrease of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* in nosocomial infections in Germany-a prospectiveanalysis over 10 years. Journal of Infection, 78(3): 215-219.

Kumar, V., Bharti, A., Negi, Y. K., Gusain, O., Pandey, P. and Bisht, G. S. 2012. Screening of actinobacteria from earthworm castings for their antimicrobial activity and industrial enzymes. Brazilian Journal of Microbiology, 43: 205-214.

Lawson, A. B., Echols, M. S. and Schachner, E. R. 2018. Anatomy of the Respiratory System of the African Grey Parrot(Psittacus erithacus. The FASEB Journal, 32: 780-813.

Leber, A. L. 2016. Susceptibility Testing. Clinical Microbiology Procedures Handbook. (Fourth Edi). ASM Press, Washington.

Lehman, S. M., Mearns, G., Rankin, D., Cole, R. A., Smrekar, F., Branston, S. D. and Morales, S. 2019. Design and preclinical development of a phage product for the treatment of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* infections. Viruses, 11(1): 88-97.

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

Liebowitz, L. D., Slabbert, M. and Huisamen, A. 2003. National surveillance programme on susceptibility patterns of respiratory pathogens in South Africa: moxifloxacin compared with eight other antimicrobial agents. Journal of clinicalpathology, 56(5): 344-347.

Lin, J., Lin, W., Yin, Z., Fu, X., Mai, D., Fu, S. and He, L. 2020. Respiratory health effects of residential individual and cumulative risk factors in children living in two cities of the Pearl River Delta Region, China. Journal of Thoracic Disease, 12(10): 6342-6349.

Liu, K., Zhang, W., Yang, Y., Zhang, J., Li, Y. and Chen, Y. 2020. Respiratory rehabilitation in elderly patients with COVID-19: A randomized controlled study. Complementary therapies in clinical practice, 39: 101-126.

Lund, V. A., Wacnik, K., Turner, R. D., Cotterell, B. E., Walther, C. G., Fenn, S. J. and Foster, S. J. 2018. Molecular coordination of *Staphylococcus aureus* cell division. Elife, 7: e32057.

Mahon, R., Lehman, D. C. and Manuselis, G. 2018. Textbook of diagnostic microbiology-e-book. Elsevier Health Sciences.

Makgotlho, P. E., Kock, M. M., Hoosen, A., Lekalakala, R., Omar, S., Dove, M. and Ehlers, M. M. 2009. Molecular identification and genotyping of MRSA isolates. Federation of European Microbiological Societies Immunology and Medical Microbiology, 57(2): 104-115.

Mama, M., Aklilu, A., Misgna, K., Tadesse, M. and Alemayehu, E. 2019. Methicillin- and Inducible Clindamycin-Resistant *Staphylococcus aureus* among Patients with Wound Infection Attending Arba Minch Hospital, South Ethiopia. International journal of microbiology, 34: 976-990.

Manikandan, C. and Amsath, A. 2013. Antibiotic Susceptibility of bacterial strains isolated from patients with respiratory tract infections. Int. J. Pure Appl. Zool, 1(1): 61-69.

Mekonnen, S. A., Medina, L. M. P., Michalik, S., Loreti, M. G., Salazar, M. G., vanDijl, J. M. and Völker, U. 2019. Metabolic niche adaptation of community-and hospital-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal ofproteomics, 193: 154-161.

Moghnieh, R. A., Kanafani, Z. A., Tabaja, H. Z., Sharara, S. L., Awad, L. S. and Kanj, S. S. 2018. Epidemiology of common resistant bacterial pathogens in the countries of the Arab League. The Lancet Infectious Diseases, 18(12): e379- e394.

Mohammadi, M., Bahrami, N., Khajavian, M. and Faghri, J. 2020. The occurrence of type I, II and III integrons in multi-drug resistance and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in Iran. Current microbiology, 77(8): 1653- 1659.

Mohammed, A. M. N. 2013. The Pattern of Bacterial Pathogens and their Antibiotics Sensitivity among Patients with Respiratory Tract Infections. Iraqi J. Med. Sci, 11(2): 181-6.

Nasir, N. 2019. Evaluation of femA gene and different primers for mecA gene for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA. Zanco Journal of Pure and Applied Sciences, 31(3): 16-22.

Neamah, A. J., Ayyez, H. N., Klaif, S. F., Khudhair, Y. I. and Hussain, M. H. 2019. Molecular and phylogenetic study of *Staphylococcus aureus* isolated fromhuman and cattle of Al-Qadisiyah Governorate, Iraq. Veterinary world, 12(9): 1378-1388.

Oliveira, M., Bexiga, R., Nunes, S. F., Carneiro, C., Cavaco, L. M., Bernardo, F. and Vilela, C. L. 2006. Biofilm-forming ability profiling of *Staphylococcus aureus* and Staphylococcus epidermidis mastitis isolates. Veterinary Microbiology, 118(1-2): 133-140.

Olsen, K., Falch, B. M., Danielsen, K., Johannessen, M., Sollid, J. E., Thune, I. and Furberg, A. S. 2012. *Staphylococcus aureus* nasal carriage is associatedwith serum 25-hydroxyvitamin D levels, gender and smoking status. The Troms0 Staph and Skin Study. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 31(4): 465-473.

Özyılmaz, E., Akan, O. A., Gulhan, M., Ahmed, K. and Nagatake, T. 2005. Major bacteria of community-acquired respiratory tract infections in Turkey. Japanese journal of infectious diseases, 58(1): 50-52.

Pal, M., Kerorsa, G. B., Marami, L. M. and Kandi, V. 2020. Epidemiology, pathogenicity, animal infections, antibiotic resistance, public health significance and economic impact of *Staphylococcus aureus*: a comprehensive review. Am J Public Health Res, 8(1): 14-21.

Prince, A. 2013. *Staphylococcus aureus* infection in the respiratory tract. In Mucosal Immunology of Acute Bacterial Pneumonia, pp. 239-258. Springer, New York.

Quadri, A. M. and Hock, Y. L. 2016. Pulmonary pathology of Panton-Valentine leukocidin gene carrying methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pneumonia. Histopathology, 51(5): 712-713.

Rewatkar, A. R. and Wadher, B. J. 2013. *Staphylococcus aureus* and Pseudomonas aeruginosa-Biofilm formation Methods. JPharm Biol Sci, 8(5): 36-40.

Rezai, S., Peyravii Ghadikolaii, F., Ahanjan, M., Valadan, R., Ahangarkani, F., Rezai, M. S. and Nadi Ghara, A. A. 2017. Prevalence of nasal carriage methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with meca gene among healthy primary school boys in North of Iran; A cross-sectional study. International Journal of Pediatrics, 5(12): 6515-6525.

Richards, R. L., Haigh, R. D., Pascoe, B., Sheppard, S. K., Price, F., Jenkins, D. and Morrissey, J. A. 2015. Persistent *Staphylococcus aureus* isolates from two independent cases of bacteremia display increased bacterial fitness and novel immune evasion phenotypes. Infection and immunity, 83(8): 3311-3324.

Rolo, J., Worning, P., Boye Nielsen, J., Sobral, R., Bowden, R., Bouchami, O. and Miragaia, M. 2017. Evidence for the evolutionary steps leading to mecA- mediated P- lactam resistance in staphylococci. PLoSgenetics, 13(4): e1006674.

Saad, S. and Ahmed, A. R. 2019. Serological and Molecular detection of*Staphylococcus aureus* isolated from UTI patients. University of Thi-Qar Journal, 14(4): 64-79.

Safari, D., Harimurti, K., Khoeri, M. M., Waslia, L., Mudaliana, S., A'yun, H. Q. and Subekti, D. 2015. *Staphylococcus aureus* and Streptococcus pneumoniae prevalence among elderly adults in Jakarta, Indonesia. Southeast Asian J TropMed Public Health, 46(3): 465-471.

Samadi, R., Ghalavand, Z., Mirnejad, R., Nikmanesh, B. and Eslami, G. 2019. Antimicrobial resistance and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from children patients in Iran. Infection and drug resistance, 12: 38-49.

Sapey, E., Patel, J. M., Greenwood, H. L., Walton, G. M., Hazeldine, J., Sadhra, C. and Thickett, D. R. 2017. Pulmonary infections in the elderly lead to impaired neutrophil targeting, which is improved by simvastatin. American journal of respiratory and critical care medicine, 196(10): 1325-1336.

Sintobin, I., Siroux, V., Holtappels, G., Pison, C., Nadif, R., Bousquet, J. and Bachert, C. 2019. Sensitisation to staphylococcal enterotoxins and asthma severity: a longitudinal study in the EGEA cohort. European Respiratory Journal, 54(3): 90-98.

Sivaraman, G. K., Muneeb, K. H., Sudha, S., Shome, B., Cole, J. and Holmes, M. 2021. Prevalence of virulent and biofilm forming ST88-IV-t2526 methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* clones circulating in local retail fish marketsin Assam, India. Food Control, 127: e108098.

Smit, J., Thomsen, R. W., Sch0nheyder, H. C., Nielsen, H., Fr0slev, T. and S0gaard, M. 2016. Outcome of community-acquired *Staphylococcus aureus* bacteraemia in patients with diabetes: a historical population-based cohortstudy. PloS one, 11(4): e0153766.

Sultan, A. M. and Nabiel, Y. 2019. Tube Method And Congo Red Agar Versus Tissue Culture Plate Method For Detection Of Biofilm Production By Uropathogens Isolated From Midstream Urine: Which One Could Be Better?. African Journal Of Clinical and Experimental Microbiology, 20(1): 60-66.

Tang, H. H., Lang, A., Teo, S. M., Judd, L. M., Gangnon, R., Evans, M. D. and Gern, J. E. 2021. Developmental patterns in the nasopharyngeal microbiome during infancy are associated with asthma risk. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 147(5): 1683-1691.

Thomas, M. and Bomar, P. A. 2020. Upper respiratory tract infection. StatPearls.

Troeger, C., Forouzanfar, M., Rao, P. C., Khalil, I., Brown, A., Swartz, S. and Mokdad, A. H. 2017. Estimates of the global, regional and national morbidity, mortality and aetiologies of lower respiratory tract infections in 195 countries: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. The Lancet Infectious Diseases, 17(11): 1133-1161.

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

Vazquez-Martinez, E. R., Garda-Gomez, E., Camacho-Arroyo, I. and Gonzâlez- Pedrajo, B. 2018. Sexual dimorphism in bacterial infections. Biology of sex differences, 9(1): 120-128.

Wang, B. and Muir, T. W. 2016. Regulation of virulence in *Staphylococcus aureus*: molecular mechanisms and remaining puzzles. Cell chemical biology, 23(2): 214-224.

Wang, D., Wang, Z., Yan, Z., Wu, J., Ali, T., Li, J. and Han, B. 2015. Bovine mastitis *Staphylococcus aureus*: antibiotic susceptibility profile, resistance genes and molecular typing of methicillin-resistant and methicillin-sensitivestrains in China. Infection, Genetics and Evolution, 31: 9-16.

Xiao, B., Wang, M., Hu, X., Li, J., Wang, F. and Sun, J. 2017. Antibiotic de-escalation principle in elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease complicated with severe pneumonia. Experimental and therapeutic medicine, 13(4): 1485-1489.

Yahav, D., Giske, C. G., Gramatniece, A., Abodakpi, H., Tam, V. H. and Leibovici, L. 2020. New P-lactam-P-lactamase inhibitor combinations. Clinical Microbiology Reviews, 34(1): e00115-20.

Zarazaga, M., Gomez, P., Ceballos, S. and Torres, C. 2018. Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* lineages in the animal-human interface. *Staphylococcus aureus*, 15: 189-214.

Zelelie, T. Z. and Mekonnen, Y. T. 2019. Bacterial Profile and Antimicrobial Resistance Patterns In Patients With Upper Respiratory Tract Infections In Debre Berhan Referral Hospital, Ethiopia. Egyptian Journal of Ear, Nose, Throat and Allied Sciences, 20(1): 9-15.

Zhang, K., Sparling, J., Chow, B. L., Elsayed, S., Hussain, Z., Church, D. L. and Conly, J. M. 2004. New quadriplex PCR assay for detection of methicillin and mupirocin resistance and simultaneous discrimination of *Staphylococcus aureus* from Coagulase- Negative Staphylococci. Journal of clinical microbiology, 42(11): 4947-4955.

EKLER

EK 1. Anket formu

EK 2. Medya hazırlama

EK 1. Anket formu

Vaka No:

Yaş:

Cinsiyet:

Risk faktörü:

Solunum enfeksiyonu:

Kanser:

Sigara tüketimi:

Sonuçlanan bakteri:

Koagülaz			Negatif
Beta-hemoliz		Doku kültürü plakası (TCP)	Orta
Kapsül üretimi			Güçlü
Üreaz			Negatif
Beta-laktamaz üretimi		Tüp yöntemi	Orta
DNaz üretimi			Güçlü
Lesitinaz üretimi			Negatif
Lipaz üretimi		Kongo kırmızı agar(CRA)	Orta
Jelatinaz üretimi			Güçlü
Proteaz üretimi			
S. aureus 16S rRna		*S. aureus fem A*	
Antibiyotik diskleri	Sonuç	Antibiyotik diskleri	Sonuç
Amikasin		Siprofloksasin	
Amoksisilin		Eritromisin	
Amoksiklav		Gentamisin	
Azitromisin		Imipenem	
Aztreonam		Levofloksasin	
Sefepim		Metisilin	
Sefiksim		Penisilin G	
Sefotaksim		Piprasilin	
Sefoksitin		Rifampin	
Seftazidim		Tetrasiklin	
Seftriakson		Tobramisin	
Kloramfenikol		Trimetoprim	
		Vankomisin	

EK 2. Medya hazırlama

Medya	**Hazırlamanın amacı**
Beyin Kalp Nakil Agarı	İzolatların yetiştirilmesi ve yeniden etkinleştirilmesi
Beyin Kalp Nakil Et Suyu	İzolatların yetiştirilmesi ve yeniden etkinleştirilmesi
Kligler demir agar (KIA)	H_2S'nin yanı sıra gazlı veya gazsız bazı karbonhidratları ve asitlerifermente etme yeteneğini test edilmesi
MacConkey agar	Gram negatif bakterilerin izolasyonu ve gram negatif ve gram pozitif bakterilerin ayrımının yapılması
Muller-Hinton agar	İzolatların antibiyotiğe hassasiyeti
Besin agar ve et suyu	Genel kültür medyumu
Simmon sitrat agar	İzolatların tek karbon ve enerji kaynağı olarak sitratı kullanma yeteneğinin belirlenmesi
Yağsız süt agar	Proteolitik aktiviteye dayalı bakterilerin yetiştirilmesi ve farklılaştırılması
Üçlü Şeker Demir Agar (TSI)	Bazı karbonhidratların fermente edilmesi ve H_2S'nin yanı sıra gazlı veya gazsız asit üretme yeteneğinin test edilmesi
Triptik Soya Agar	Mikroorganizmaların geniş bir yelpazesinin yetiştirilmesi ve bakımı
Triptik Soya Et Suyu	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Fatimah Younus Zenalabdin ZENALABDIN

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2019-Halen
Lisans	Musul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	1994-1999