



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ

[Yüksek Lisans Tezi]

**STAPHYLOCOCCUS AUREUS KLİNİK SUŞLARINDA VİRÜLANS FAKTÖRLERİ
VE QUORUM SENSİNG GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ayşegül GÜRBAK
ORCID: 0000-0003-0384-7453

Danışman
Prof. Dr. METİN DOĞAN
ORCID: 0000-0003-3471-4768

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından 23YL1800 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Konya – 2024

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince her konuda bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren, her konuda yardımını esirgemeyen tez danışmamım Prof. Dr. Metin DOĞAN’a,

Deneyimleri ve bilgilerinden her daim yararlandığım Prof. Dr. Mehmet ÖZDEMİR, Prof. Dr. Bahadır FEYZİOĞLU ve Doç. Dr. Fatma ESENKAYA TAŞBENT, Arş. Gör. Dr. Sait Ramazan GÜLBAY’a,

Tezime 23YL18004 no’lu proje ile destek veren Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü’ne,

Başta Nizamettin Yakar ve Fatma Ay olmak üzere mikrobiyoloji laboratuvar teknisyen ve personellerine en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Yetişemediğim her noktada sevgisini, sabrını ve desteğini esirgemeyen sevgili eşime, çocuklarıma, aileme teşekkürlerimi ve minnetimi sunarım.

Ayşegül GÜRBAK

Nisan 2024



İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER.....	v
TEZ ONAY SAYFASI	vii
TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU	viii
BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xii
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>S.aureus</i> Tarihçesi	3
2.2. <i>S.aureus</i> İdentifikasyonu	6
2.3. <i>S.aureus</i> 'un Virülans Faktörleri	9
2.3.1. Kapsül.....	9
2.3.2. Hücre duvarı.....	10
2.3.3. Yüzey proteinleri.....	11
2.3.4. Protein A	12
2.3.5. Enzimler	12
2.4. Toksinler.....	13
2.4.1. Sitotoksinler	13
2.4.2. Eksfoliyatif toksinler	13
2.4.3. Süperantijenler	14
2.5. Panton-Valentine Lökosidin (PVL)	15
2.6. MRSA (Metisiline Dirençli <i>S.aureus</i>).....	16
2.7. Biyofilm	17
2.8. Quorum Sensing (QS).....	19
2.9. Aksesuar Gen Bölgeleri (Agr).....	21
2.9.1. Agr A ve Agr C	21
2.10. Klinik Bulgular.....	24
2.10.1. Yumuşak doku ve cilt enfeksiyonları.....	24
2.10.2. Bakteriyemi ve endokardit	24
2.10.3. Organ enfeksiyonları	25
2.10.4. <i>S.aureus</i> 'un toksinleri ile yaptığı hastalıklar	26

2.11. 16S rRNA.....	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. Örneklerin Toplanması.....	31
3.2. Kültür	31
3.3. EUCAST İle <i>S.aureus</i> Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıklarının Saptanması	31
3.4. Bakteriden DNA İzolasyonu	32
3.5. Bakteriden RNA İzolasyonu	33
3.6. cDNA Eldesi	33
3.7. Real Time PCR.....	34
3.8. Kongo Kırmızısı Agar Yöntemi.....	36
3.9. İstatistiksel Analiz	36
4. BULGULAR	37
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	63
7. KAYNAKLAR.....	65
8. EKLER.....	73
8.1. Etik Kurul Sonuç Raporu	73

TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi **AYŞEGÜL GÜRBAK**'ın “*Staphylococcus aureus* Klinik Suşlarında Virülans Faktörleri ve Quorum Sensing Genlerinin Araştırılması” başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Konya / 22.04.2024

Tez Danışmanı	Prof. Dr. Metin DOĞAN N.E.Ü. Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.	İmzası
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Mehmet ÖZDEMİR N.E.Ü. Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.	İmzası
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Mahmut BAYKAN Karamanoğlu Mehmet Bey Üniversitesi	İmzası

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 08/05/2024 tarih ve 09/02 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasibe VURAL

Enstitü Müdürü

TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

Staphylococcus aureus Klinik Suşlarında Virülans Faktörleri ve Quorum Sensing Genlerinin Araştırılması başlıklı tez çalışmamın toplam 50 sayfalık kısmına ilişkin, 01.04.2024 tarihinde tez danışmanım tarafından **Turnitin** adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı **%19** olarak belirlenmiştir.

Uygulanan filtrelemeler:

1. Tez kabul sayfası hariç
2. Tez çalışması orijinallik raporu sayfası hariç
3. Bilimsel etik beyannamesi sayfası hariç
4. Önsöz hariç
5. İçindekiler hariç
6. Simgeler ve kısaltmalar hariç
7. Materyal ve metot hariç
8. Kaynaklar hariç
9. Alıntılar dahil
10. 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Necmettin Erbakan Üniversitesi Tez Çalışması Orijinallik Raporu Uygulama Esaslarını inceledim ve tez çalışmamın, bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranının (%30) altında olduğunu ve intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

01.04.2024

İmza

Ayşegül GÜRBAK

İmza

Prof. Dr. Metin DOĞAN

BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar tüm aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini, tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez hazırlama kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel kurallara uygun olarak atıf yapıldığını ve bu kaynakların kaynaklar listesine eklendiğini beyan ederim.

22.04.2024

İmza

Ayşegül GÜRBAK

KISALTMALAR

MRSA	: Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	: Metisiline duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
NAG	: N-Asetil Glikozamin
NAM	: N-Asetil Muramik asit
PVL	: Panton Valentine Lökositini
PBP	: Penisilin bağlayan protein
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
IL-1	: İnterlökin-1
CLSI	: Clinical and Laboratory Standarts Institute
mecA	: Penisilin bağlayıcı protein 2
SCCmec	: Staphylococcal cassette chromosome
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
MİK	: Minimum inhibisyon konsantrasyonu
QS	: Quorum sensing
sub-MİK	: Subminimal inhibitör konsantrasyonlarının
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
VISA	: Vankomisine orta düzeyde duyarlı <i>S.aureus</i>
VRSA	: Vankomisine dirençli <i>S.aureus</i>
MALDI-TOF MS	: Matris Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyonu - Uçuş Süresi Kütle Spektrometresi
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
TŞST	: Toksik şok sendromu toksini
TNF- α	: Tümör nekroz faktör
SE	: Stafilokokal enterotoksinler
SSSS	: İkincil enfeksiyonlarla karakterize edilen sendrom
APC	: Antijen sunan hücreler
SEC	: Stafilokokal enterotoksin C
SEB	: Stafilokokal enterotoksin B
Agr	: Aksesuar gen düzenleyici
AI	: Otoindüktörler
BHI	: Kalp-Beyin İnfüzyonu
MDR	: Çoklu ilaç direnci
AIP	: Otoindükleyici peptitler
MP	: Micro Plate
KKA	: Kongo Kırmızısı Agar

TABLolar LİSTESİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. Stafilokok türlerinin sınıflandırılması.	6
Tablo 3.1. cDNA kullanılan bileşenler ve miktarları.	34
Tablo 3.2. PCR çalışmasında kullanılan primerler ve primer dizileri.	34
Tablo 3.3. PCR reaksiyon protokolü.	35
Tablo 4.1. Numune ve katılımcı yaş / cinsiyet dağılımı.	37
Tablo 4.2. Örneklerin dağılımına göre sefoksitin ve oksasilinin karşılaştırılarak metisilin direnç oranları.	38
Tablo 4.3. İzolatların metisilin duyarlılıkları ve QS ile ilişkisi.	39
Tablo 4.4. İzolatlardaki direnç genleri mecA/C ve antibiyotik duyarlılıklarının ilişkisi.	39
Tablo 4.5. MRSA içindeki mecA' nın PVL pozitiflik açısından ilişkisi.	39
Tablo 4.6. Örnek türlerine göre PVL agrA/C MRSA, kongo kırmızı ilişkisi.	40
Tablo 4.7. AgrA/C genlerine göre MRSA, MSSA, PVL ve kongo kırmızısı ilişkisi.	40
Tablo 4.8. Kongo kırmızısı ile agrA/C genleri arasındaki ilişki.	41
Tablo 4.9. İzolatlardaki antibiyotik direnç genlerinin QS ile ilişkisi.	42
Tablo 4.10. İzolatlardaki antibiyotiklerin QS direnç genleri ile ilişkisi.	42
Tablo 4.11. İzolatlardaki QS genleri AgrA/C ve direnç genlerinin ilişkisi.	45
Tablo 4.12. İzolatların antibiyotik duyarlılıkları ve QS ile ilişkisi.	45

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. <i>S.aureus</i> elektron mikroskop görüntüsü.	6
Şekil 2.2. <i>S.aureus</i> 'un bağışıklıktan kaçınma mekanizmaları.	9
Şekil 2.3. <i>S.aureus</i> hücre yapısı ve virülans faktörleri.....	11
Şekil 2.4. Biyofilm oluşum aşamaları.	17
Şekil 2.5. (A) MSSA ve MRSA tarafından ifade edilen biyofilm fenotiplerinin grafiksel gösterimle.	19
Şekil 2.6. Kanonik bakteriyel çekirdek algılama (QS) devreleri.	21
Şekil 2.7. Quorum sensing gen regülatör mekanizması.....	23
Şekil 2.8. Stafilokokal haşlanmış deri sendromu (SHDS).	27
Şekil 4.1. Koyun kanlı agar <i>S.aureus</i> kolonileri.	47
Şekil 4.2. Kongo kırmızısı besiyeri <i>S.aureus</i> kolonileri.	49
Şekil 4.3. Mueller Hinton Agar besiyeri <i>S.aureus</i> antibiyotik disk görüntüleri.	50
Şekil 4.4. 16S rRNA için yapılan jel elektroforezi görüntüsü.	51

ÖZET

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Tıbbi Mikrobiyoloji
Yüksek Lisans Tezi

STAPHYLOCOCCUS AUREUS KLİNİK SUŞLARINDA VİRÜLANS FAKTÖRLERİ VE QUORUM SENSİNG GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ayşegül GÜRBAK

Konya-2024

Son yıllarda dünya çapında giderek artan sıklıkta hastane ve toplum kaynaklı salgınlarla gündeme gelen *Staphylococcus aureus* ilişkili enfeksiyonların önemli bir nedenidir. Özellikle çoklu ilaca dirençli (MDR) *S.aureus* 'un artık büyük klinik öneme sahip olduğu kabul edilmektedir. Metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA), birçok antibiyotiğe karşı dirençli olup, tedavi süreçlerinde kullanılan modern antibiyotiklere hızla direnç geliştirme yeteneğine sahiptir. Bu nedenle, MRSA enfeksiyonları, normal *S.aureus* enfeksiyonlarına kıyasla daha güçlü ve inatçı enfeksiyonlara yol açmaktadır. *S.aureus* suşları tarafından salgılanan Panton-Valentine lökositidin (PVL) toksini, toplum kaynaklı deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ile ölümcül nekrotizan pnömonilerden sorumlu tutulan önemli bir toksindir. Bunun yanında *S.aureus* quorum sensing (QS) sistemlerinin biyofilm üretimi gibi çeşitli hücrel mekanizmalarda kilit rol oynadığı ve varolan antibiyotik direncinin güçlenmesine sebep olduğu gösterilmiştir.

S.aureus metisilin direncinde *mecA* ve *mecC* genleri sorumludur. Bakterilerdeki QS mekanizması, biyofilm üretimi vb. dirence katkı sağlayan ve virülansı arttıran bazı yetenekleri organize etmektedir ve bu mekanizmayı inhibe edebilecek "Quorum Quencher" arayışı son zamanlarda artmıştır. Bu tür bileşiklerin QS mekanizmasını inhibe etmesi ve dolayısıyla bakterilerde ilaç direnci gelişimini azaltması/engellemesi beklenmektedir. QS sistemlerine sahip *S.aureus* suşlarının, bu mekanizmayı regüle eden genlerden bazıları *AgrA* ve *AgrC* genleridir. Kongo kırmızı biyofilm olulumunda fenotipik değerlendirmede kullanılan bir yöntemdir.

Günümüzde bakteriler tüm antibiyotiklere karşı hayatta kalmak için farklı yollarla direnç geliştirme yeteneğine sahiptirler. Bakteriler arasındaki QS mekanizmasının inhibe edilerek; bu sistemle regüle edilen virülans faktörleri, biyofilm oluşumu ve bakteriyel direnç mekanizmalarının zayıflatılma stratejisi dirençli bakteriyel enfeksiyonların önlenmesinde umut vaatmektedir. Bu nedenle bakterilerin QS ve antibiyotik direnç mekanizmaları arasındaki ilişkinin daha da aydınlatılması gerekmektedir.

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen, identifikasyonu MALDI-TOF MS (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France) yapılmış, antibiyotik duyarlılıkları BD Phoenix otomatize sistemi (Becton-Dickinson, ABD) ile tespit edilmiş 100 adet *S.aureus* suşu kullanılmıştır. *Mec A*, *mec C*, *Luks PVL1-2* ve QS genleri olan *agrA*, *agrC* RT-PCR ile tespit edilmiştir. Çalışmamızda housekeeping gen olarak 16s rRNA kullanılmıştır. Suşlardan izole edilen DNA Titertek Berthold Colibri Microvolume Spectro Nanodrop ölçümü ve jel elektroforezi ile doğrulanmıştır.

RT-PCR bulgularımıza göre, QS genleri *AgrA* ve *AgrC*'yi birlikte taşıyan izolatlar QS (+) olarak, geri kalan izolatlar ise QS (-) olarak iki gruba ayrılmıştır. Bu gruplar arasında çeşitli antibiyotiklere karşı direnç düzeyleri ve ilgili antibiyotik direnç genlerinin varlığı karşılaştırılmıştır. Aynı zamanda kongo kırmızı ile fenotipik değerlendirme neticesinde moleküler yöntemlere ihtiyaç duymadan da biyofilm varlığının anlaşılabilirliğinin tespiti yapılmıştır.

Elde ettiğimiz bulgular, QS genleri ile sefoksitin, oksasilin, klindamisin ve tetrasiklin direnç düzeyleri ve *mecA* geninin varlığı arasında ilişki olabileceğini destekler nitelikte literatüre katkı sunmaktadır. Bir direnç geni olan *mecC* geni hiçbir izolatta tespit edilememiştir. *S.aureus* MDR bakterilerin tür içi seçiminde QS sistemlerinin rol oynayabileceğini ve dolayısıyla MDR suşların ortaya çıkmasında etkili olabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu alanda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. PVL toksin geninin varlığı *mecA* pozitifliğinde deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında çok daha fazla ortaya çıktığı gösterilmiştir. *MecA* geninin inhibe edilerek MRSA oluşumun izlenmesi, ayrıca çeşitli inhibitörlerin kullanılması gerekmektedir. *S.aureus* enfeksiyonlarında antibiyotik direnciyle mücadelede umut vadeden QS inhibisyonu stratejisinin ilerleme kaydetmesi, antibiyotik direnciyle mücadelede yeni bir dönemin başlangıcı olabilir. Bu çalışmamızda *S.aureus*

suşlarının virölans faktörlerini, quorum sensing özelliklerini gen düzeyinde araştırmak ve beta-laktam antibiyotikleri üzerindeki olumlu ya da olumsuz etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Biyofilm, mecA ve mecC, MRSA, PVL, *Staphylococcus aureus*, Quorum sensing.



ABSTRACT

Necmettin Erbakan University, Graduate School of Health Sciences
Department of Medical Microbiology
Medical Microbiology
Master Thesis

INVESTIGATION OF VIRULENCE FACTORS AND QUORUM SENSING GENES IN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* CLINICAL STRAINS

Aysegul GURBAK

Konya-2024

In recent years, *Staphylococcus aureus* has emerged as a significant cause of hospital and community-associated outbreaks worldwide. Particularly, multidrug-resistant (MDR) *S.aureus* is now recognized as having major clinical importance. Methicillin-resistant *S.aureus* (MRSA) is resistant to many antibiotics and has the ability to rapidly develop resistance to modern antibiotics used in treatment processes. Therefore, MRSA infections lead to stronger and more persistent infections compared to normal *S.aureus* infections. The Panton-Valentine leukocidin (PVL) toxin secreted by *S.aureus* strains is an important toxin held responsible for community-associated skin and soft tissue infections, as well as fatal necrotizing pneumonia. Additionally, it has been shown that *S.aureus* quorum sensing (QS) systems play a key role in various cellular mechanisms such as biofilm production and contribute to the enhancement of existing antibiotic resistance.

Methicillin resistance in *S.aureus* is attributed to the *mecA* and *mecC* genes. The QS mechanism in bacteria organizes some abilities that contribute to resistance, such as biofilm production, and increase virulence. The search for “Quorum Quenchers” that can inhibit this mechanism has recently increased. It is expected that such compounds will inhibit the QS mechanism and consequently reduce/prevent the development of drug resistance in bacteria. Some of the genes regulating the QS mechanisms in *S.aureus* strains are *AgrA* and *AgrC* genes. Congo red is a method used for phenotypic evaluation in biofilm formation.

Today, bacteria have the ability to develop resistance to all antibiotics through different mechanisms. Inhibiting the QS mechanism among bacteria and thereby weakening the virulence factors, biofilm formation, and bacterial resistance mechanisms regulated by this system is a promising strategy for preventing resistant bacterial infections. Therefore, it is necessary to further elucidate the relationship between bacterial QS and antibiotic resistance mechanisms.

In our study, 100 *S. aureus* strains isolated from various clinical samples were used. These strains were identified using MALDI-TOF MS (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France), and their antibiotic susceptibilities were determined using the BD Phoenix automated system (Becton-Dickinson, USA). *Mec A*, *mec C*, *Luks PVL1-2*, and the QS genes *agrA* and *agrC* were detected by RT-PCR. In our study, 16s rRNA was used as the housekeeping gene. The DNA isolated from the strains was verified by Titertek Berthold Colibri Microvolume Spectro Nanodrop measurement and gel electrophoresis.

According to our RT-PCR findings, isolates carrying both QS genes *AgrA* and *AgrC* were classified as QS (+), while the remaining isolates were classified as QS (-). Resistance levels to various antibiotics and the presence of related antibiotic resistance genes were compared between these groups. Additionally, the ability to detect biofilm presence without molecular methods was assessed through phenotypic evaluation with congo red.

Our findings contribute to the literature by supporting a potential relationship between QS genes and resistance levels to cefoxitin, oxacillin, clindamycin, and tetracycline, as well as the presence of the *mecA* gene. The *mecC* gene, another resistance gene, was not detected in any isolate. This finding suggests that QS systems may play a role in the intra-species selection of *S.aureus* MDR bacteria and, consequently, in the emergence of MDR strains. However, further studies are needed in this area. The presence of the PVL toxin gene has been shown to be more prevalent in skin and soft tissue infections with *mecA* positivity. Inhibiting the *mecA* gene and monitoring the formation of MRSA, as well as using various inhibitors, is necessary.

Advancing the promising QS inhibition strategy in combating antibiotic resistance in *S.aureus* infections could mark the beginning of a new era in fighting antibiotic resistance. This study aims to investigate the virulence factors and quorum sensing characteristics of *S.aureus* strains at the gene level and to determine their positive or negative effects on beta-lactam antibiotics.

Keywords: Biofilm, *mecA* and *mecC*, MRSA, PVL, *Staphylococcus aureus*, Quorum sensing.



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Staphylococcus aureus (*S.aureus*), hastane ve toplumsal kaynaklı enfeksiyon etkenlerinden olup, en önemli fırsatçı patojenlerden birisidir. Bu bakteriler deri ile yumuşak doku enfeksiyonlarıyla (karbonkül, impetigo, masitit, folikülit), endokardit, pnömoni, osteomyelit gibi enfeksiyonlara neden olabilmektedirler, ayrıca toksik şok sendromu, septik şok, besin zehirlenmeleri ve haşlanmış deri sendromu gibi klinik tablolara neden olmaktadır (Sudağıdan vd., 2008).

Stafilokokların önem arz eden virulans etkenleri içerisinde toksin ve enzim üretimi, antibiyotik direnci ve biyofilm oluşumu sayılabilmektedir (Sudağıdan ve ark., 2008). Stafilocok enfeksiyonları yaşamı tehdit eden sonuçları ve tedavide kullanılan antibiyotiklere karşı hızla direnç kazanması sonucunda mortalite ve morbiditeyi arttırmaktadır (Karbuz, 2012). Metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA)lar birçok antibiyotiğe karşı dirençlidir ve tedavi süreçlerinde kullanılan günümüz antibiyotiklerine hızlı bir şekilde direnç geliştirme özelliğine sahiptirler. Bu sebepten ötürüdür ki MRSA enfeksiyonlarının normal *S.aureus* enfeksiyonlarından daha kuvvetli ve inatçı enfeksiyonlara neden olmaktadır. Bazı ülkelerde salgınlar bildirilmektedir; bunun sebebi olarak toplum kökenli MRSA ya bağlı enfeksiyonların görülme sıklığındaki artma gösterilmektedir. Hastane ve toplum kaynaklı MRSA'ların halk sağlığı açısından epidemi oluşturma potansiyeli yüksektir (Sudağıdan vd., 2008).

S.aureus suşlarından salgılanan Panton-Valentine lökositidin (PVL) toksini, toplum kaynaklı deri, yumuşak doku enfeksiyonlarında ve ölümcül nekrozan pnömonilerden sorumlu tutulan önemli bir toksindir. Zamanla yapılan çalışmalar PVL'nin hastane ortamlarında hızla yayıldığını ortaya çıkarmıştır. Bu toksinler konak savunmasında bazofil, monosit, polimorfonükleer (PMNL) ve makrofajlar üzerindeki sitolitik etkisiyle porlar oluşturur ve organizmayı lizisten korur. Toksin bu özelliği ile *S.aureus*'un immün sistem hücrelerinden kaçışında kritik rol oynamaktadır (Duman vd., 2013).

MRSA izolatlarının neredeyse tamamında bulunan penisilin bağlayan protein2a (PBP2a)'nın tespiti ya da bu proteinleri kodlayan *mecA* geninin varlığının gösterilmesi MRSA tanısında en güvenilir yöntemlerden olduğu görülmüştür. EUCAST'e göre sefoksitine dirençli stafilocoklar metisilin dirençli olarak kabul edilmektedir (Vural vd., 2023).

Günümüzde hücreler arası işbirliği ve iletişimin yalnızca ökaryotlarda olduğu zannedilirken artık prokaryotlarda da olduğu gözlemlenmiştir. Bakteriler arasındaki bu

haberleşme mekanizması quorum sensing (QS) olarak adlandırılmaktadır. QS aynı türlerin hücreleri arasında değil, bakteriler, farklı türler ve gelişmiş organizmalar arasında da olduğu kanıtlanmıştır. Bakterilerin arasındaki iletişim, kimyasal sinyal molekülleriyle gerçekleşir. Büyük hücre topluluklarının aktivitesinin eşzamanlı (senkronize) olarak gerçekleşmesinde önemli bir rolü vardır. Bakterilerdeki bu kimyasal haberleşme, “oto indükleyici” olarak isimlendirilen hormon benzeri küçük moleküllere verilen cevabı, üretimini, salınımını ve algılanma yetisini içermektedir. QS, prokaryotla ökaryot arasındaki farkı tamamen ortadan kaldırır. Sonuç olarak bakteri çok hücreli organizmaların davranma yeteneklerini kazanmıştır. (Kaya & Yardimci, 2014; Srivastava vd., 2014). Bakteri, QS mekanizması aracılığı ile üreme davranışları, biyofilm üretimi gibi özellikleri yöneterek çeşitli mekanizmaları işletmektedir ve bu özelliklerinin yönetilebilmesiyle bakterinin oluşturacağı enfeksiyonlarla mücadelede çeşitli gelişmelerin sağlanabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada, NEÜ Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarına kabul edilen çeşitli klinik örneklerinden izole edilen *S.aureus* izolatlarının oluşturmuş oldukları enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin, direnç genlerinin, PVL'nin, biyofilm ve quorum sensing (QS) genleri arasındaki ilişkinin ve etkileşimin saptanması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *S.aureus* Tarihçesi

Alexander Ongston 1881 yılında stafilokokların fare ve kobaylarda hastalık yaptığı kanıtlandıktan sonra 1898 yılında ilk kez Robert Koch'un yaptığı çalışma ile tanımlanmıştır. Ongston bir hastasından aldığı apse örneğindeki cerahati mikroskopta incelemiş, yuvarlak ve zincir şeklinde oluşturulan kümelerde canlıların varlığını saptamıştır. Sonuç olarak apseye mikrokokların apseye neden olduğunu söylenmiştir. Üzüm salkımı şeklinde kümelenmiş bu yapılar, Yunanca "staphyle" kelimesinden türetilen Staphylococcus olarak isimlendirilmiştir (Ogston, 1882).

Alman cerrah olan Anton J. Rosenbach 1884 yılında iki farklı Staphylococcus suşu izole etmiş ve kolonileri yapmış oldukları pigmentlere göre isimlendirmiştir. Latince altın anlamındaki "aurum" sözcüğünden türetilen altın sarısı renginde olana *Staphylococcus aureus*, Latince "albus" kelimesinden türetilen ve beyaz renk pigment oluşturan ise *Staphylococcus albus* adını vermiştir (Rosenbach, 1984). 1903 yılında stafilokokların plazmasını koagüle (pıhtılaşma) etmesi Loeb tarafından ilk kez kan plazmasında gösterilmiştir. Bu durum 1930'lu yılların başına kadar pek de dikkate alınmamıştır (Leob , 1903). 1957 yılından itibaren stafilokokları ayırt etmede anahtar özellik koagülaz testi olup, sonrasında koagülaz pozitif koklar, stafilokoklar içerisinde *S.aureus* olarak adlandırılmıştır (Karbuz, 2013).

Stafilokoklar eski zamanlarda insanlar için tedavisi güç, ölümcül enfeksiyonlara sebep olmakta idi. Alexander Fleming'in 1928 yılında penisilini bulmasıyla birlikte 1940 yılında antibiyotik kullanılmaya başlanmıştır. Böylelikle stafilokokalların oluşturduğu enfeksiyonların tedavisinde kayda değer başarılar elde edilmiştir. Penisilin kullanımının artmasıyla birlikte, stafilokok türlerinden penisilini etkisiz hale getiren türler ortaya çıkmıştır. 1945'li yıllardan itibaren penisilin direnci giderek artmış, sonraki yıllarda penisilin haricinde eritromisin, tetraksilin, streptomisin gibi antibiyotiklere de direnç gelişimi gözlemlenmiştir (Erdem, 2011; Wenzel vd. 1998).

1960 yılında, stafilokoklar tarafından üretilen penisilinaz adlı enzimlere dirençli, yarısentetik bir penisilin olan metisilin geliştirildi. Bu, stafilokok enfeksiyonlarının tedavisinde önemli bir adım olarak kaydedilmiştir. Ancak, bu başarıdan sadece bir yıl sonra, 1961 yılında stafilokoklarda metisilin direnci keşfedilmiştir. Sonraki yıllarda, özellikle

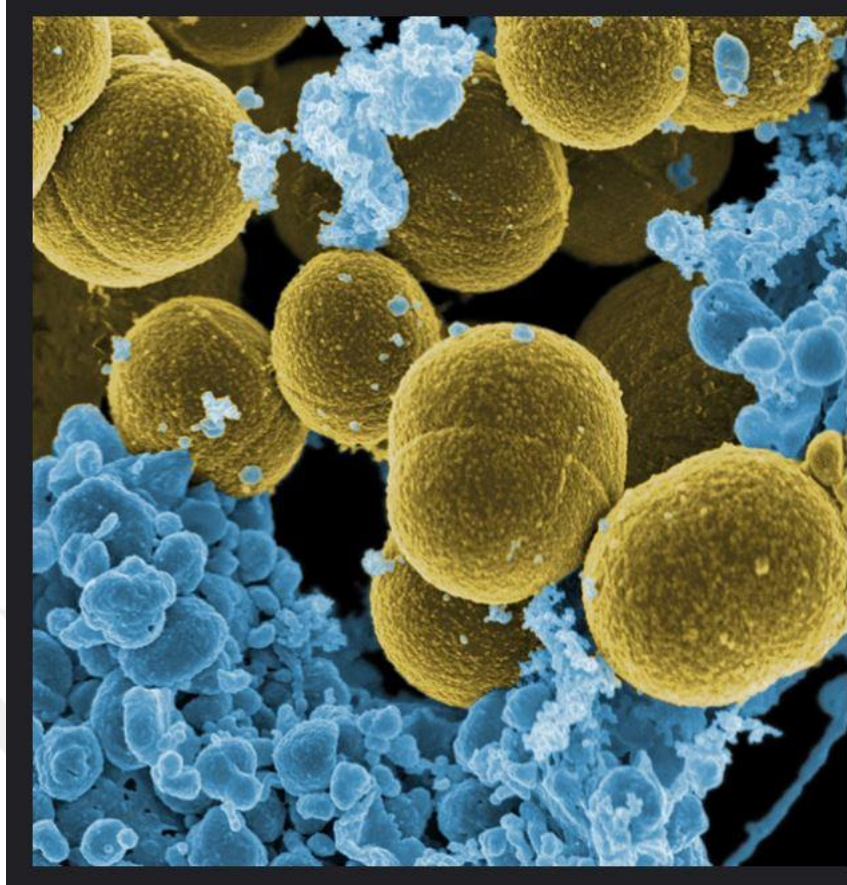
1970'lerin sonları ile 1980'lerin başlarında, metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşlarında çoklu antibiyotik direnci ortaya çıkmıştır. MRSA, dünya genelinde özellikle hastane enfeksiyonlarına neden olan ciddi bir sorun haline gelirken, günümüzde antibiyotik direnci sorunu artarak devam etmektedir (Ahmad-Mansour vd., 2021; Erdem, 2011).

Hayvanlarda ilk MRSA izolasyonu 1972 yılında meme dokusunda enfeksiyon olan (mastitisli) sığırlardan elde edilirken, 1988 ve 1989 yıllarında kedi ve köpekten MRSA izolasyonu yapılmıştır. Bu gelişmelerin ardından dünyanın çeşitli bölgelerindeki izolat sayısındaki artışla birlikte, MRSA enfeksiyonları hayvanlar arasında da önemli bir sorun haline gelmeye başlamıştır (Leonard vd. 2006). Mastitisli sığırlardan elde edilen MRSA izolatları ve bu sığırlara bakım veren kişilerden alınan örnekler, MRSA suşlarının insanlardan hayvanlara bulaşabilme yeteneğini göstermiş ve bu durumun zooantroponoz ya da antropozoonoz olarak adlandırılan önemli bir fenomen olabileceğini ortaya koymuştur. Hastane kökenli MRSA klonlarının köpeklerde ve mastitisli sığırların sütlerinde bulunması, MRSA suşlarının insanlardan hayvanlara geçiş yapabileceği olasılığını düşündürmüştür. Atların hem çiftliklerde hem de klinik ortamlarda tedavi görmesi, önemli oranlarda MRSA tespit edilmesine neden olmuş ve yapılan alt tiplendirme çalışmalarında atlar ile insanlar arasında karşılıklı bulaşma olduğunu ortaya koymuştur (Türkyilmaz S, Tekbiyik S, Oryasin E, 2010).

Son 50 yıl içinde, çoklu dirençli MRSA suşlarına bağlı enfeksiyonların artışı nedeniyle stafilokokal nozokomiyal (hastane kaynaklı) enfeksiyonların tedavisinde, glikopeptid grubu antibiyotiklerden biri olan vankomisin öne çıkan seçenekler arasında kullanılmaya başlanmıştır. Vankomisinin orta derecede duyarlı *S.aureus* suşlarına (Vankomisin Intermediate *S.aureus* - VISA) karşı etkisiz olduğu, ilk kez 1995'te Fransa'da, 1996'da Japonya'da, 1997'de ABD, Hong Kong ve Kore'de, aynı zamanda Türkiye'de insanlar ve hayvanlarda izole edilen suşlarla anlaşılmıştır. İnsanlarda vankomisine dirençli ilk *S.aureus* suşu (VRSA), Haziran 2002'de ABD'de diyaliz tedavisi gören 40 yaşındaki bir erkek hastanın kateterinden izole edilmiştir. VRSA suşlarının dünya genelinde artan sayıda rapor edilmesine rağmen, ülkemizde henüz bu tür suşların varlığına dair bildirim bulunmamaktadır. Ancak, Türkiye'de heterojen dirençli suşlar gözlemlenmeye başlamıştır. 1998 yılında, ilk heterojen dirençli suşun (hVISA) varlığı bildirilirken, vankomisin ve teikoplanine karşı heterojen direnç oranının, koagülaz negatif stafilokok suşları arasında *S.aureus* suşlarına kıyasla daha yüksek olduğu (%11 ve %13) rapor edilmiştir (Yaşar vd., 2004),(Erdem, 2011).

Genellikle insan ve hayvan deri mukozalarının florasında ve doğada oldukça yaygın olarak bulunan stafilokoklar, uygun şartlar oluştuğunda, basit yüzeysel bir enfeksiyon nedeni olabilirken ciddi hastalıklara da sebep olabilen hayatı tehdit eden durumlar ortaya çıkabilir (Alen vd.1997). İnsanda en sık hastalık oluşturan türler, *S.epidermidis*, *S.aureus* ve *S.saprophyticus*'tur. *S.aureus*, sağlıklı bir insanın % 30-35'inin burun mukozasında kolonize olabilir. Bu bakteri hem hayvanların hem de insanların normal cilt mikrobiyotasında bulunur ve sağlıklı insan popülasyonunda %20 ila %30 arasında bir taşıyıcılık oranı vardır (Ahmad-Mansour vd., 2021). *S. epidermidis*, genellikle koltuk altı, kasık, perianal bölgeler ve nadiren diğer deri bölgelerinde ve *S.aureus*'un bulunmadığı durumlarda burun mukozasında kolonize olur; bu durumda burundaki stafilokokların %90-100'ünü oluşturur. *S.saprophyticus* ise genellikle ürogenital mukoza epitelinde kolonize olur (Pervanlar, 2020). *S.aureus*, insanlarda en yaygın hastalık oluşturan, aynı zamanda en virulan ve patojen stafilokok türüdür.

Stafilokoklar, mikroskop altında tek tek, ikili, dörtlü veya kısa zincir oluşturabilen ve düzensiz üzüm salkımı görünümünde küme oluşturan 0,5 ile 1,5 µm çapında gram pozitif koklardır. Üç boyutlu olarak bölünebilmeleri ve bölünme sonrasında ayrılmadan birlikte hareket etmeleri, üzüm salkımı şeklinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Stafilokoklar, hareketsiz, spor oluşturmayan, genellikle kapsülsüz ve çoğu zaman tuz konsantrasyonu yüksek besiyerlerinde yetişen, 18-40 °C arasında üreyebilen mikroorganizmalardır. Stafilokoklar en iyi kanlı agarda ürer, ancak basit besiyerlerinde de çoğalabilirler. Kanlı agar üzerinde üremeleri sonucunda çeşitli renklerde pigment oluşturabilirler ve türe ve çevre koşullarına bağlı olarak değişen derecelerde hemoliz özelliği sergileyebilirler (Başustaoğlu AC., 2010; Murray PR, Rosenthal KS, 2010).



Şekil 2.1. *S.aureus* elektron mikroskop görüntüsü (<https://www.flickr.com/photos/niaid/5148710483/>).

2.2. *S.aureus* İdentifikasyonu

Tablo 2.1. Stafilokok türlerinin sınıflandırılması (Lous vd., 2011).

Domain	
Alem	Eubacteria
Bölüm	Firmicutes
Sınıf	Bacilli
Takım	Bacillales
Aile	Staphylococcaceae
Cins	Staphylococcus
Tür (insan ve hayvanlarda hastalık yapan en önemli türler)	<i>S.aureus</i> <i>S.epidermidis</i> <i>S.saprophyticus</i> <i>S.haemolyticus</i> <i>S.lugdunensis</i>

Stafilokokların laboratuvar tanısında mikroskop altındaki gram boyama özellikleri, kültür ortamında üremelerinden sonra gözlemlenen morfolojik özellikler ve çeşitli biyokimyasal yöntemler önemlidir (Hortaç, 2016).

Stafilokoklar, kanlı agar üzerinde katı besi yerlerinde 37 °C'de 24 saatlik inkübasyonun ardından yuvarlak, düzgün, düşük konveks, 1-4 mm çapında, parlak bir görünüm sergileyen ve genellikle çevresinde açık bir beta-hemoliz zonuyla belirginleşen koloniler oluşturur. Griden parlak sarıya kadar değişen pigment açığa çıkaran *S.aureus* türleri ise 4-6mm'lik koloniler oluşturabilir. Pigment oluşumu çevre koşuluyla ilişkilidir. Ayrıca hücre zarında bulunan karotenoid yapı da pigment oluşumunda etkilidir. Sarı renkli pigment, *S.aureus* için bir virülans faktördür. Kanlı besiyerinde değişik derecelerde hemoliz yapabilen stafilokoklar, lizozime direnç gösterirler. Aynı zamanda basitrasin, furazolidon ve lizostafine duyarlıdırlar. Ek olarak, eritromisin varlığında gliserolden asit oluşturma kapasitelerine sahiptirler (Alen S, 2017; Davis vd., 2007).

%3'lük H₂O₂ (Katalaz) solusyonu ile bakteri muamele edildiğinde, lam üzerinde çok hızlı bir şekilde gaz çıkışı ve köpürme gözlenir, bu işlem katalaz testinin pozitif olup olmadığını belirlemede kullanılır. Katalaz enzimi, hidrojen peroksidi su ve oksijen olarak parçalar, bu özellik, stafilokokları, streptokoklar ve enterokoklardan ayırt etmek için kullanılır (Huang vd., 2021; Winn W, 2006).

Koagülaz testi, koagülazı pozitif olan *S.aureus*'u diğer stafilokoklardan ayırt etmekte kullanılan tanı kriterlerinden biridir. Nadiren de olsa *S.aureus* suşları koagülaz negatif olabilmektedir. Koagülaz enzimi, fibrinojeni fibrine dönüştüren bir enzimdir ve plazmanın pıhtılaşmasına sebep olur. *S.aureus*, bağlı ve serbest olmak üzere iki tür serbest koagülaza sahiptir. Serbest koagülaz, plazmadaki koagülaz aktivatörü ile reaksiyona girer, aktive olur ve bu sayede fibrinojenin fibrine dönüşüm sürecini başlatır. Serbest koagülazın varlığı, tüp içinde incelenir. Bağlı koagülazın hücre duvarında bulunması, plazmadaki fibrinojene doğrudan bağlanarak fibrin oluşumunu kolaylaştırır. Bağlı koagülazın varlığı, lam üzerinde koagülaz testi ile belirlenir. Tüpte yapılan koagülaz testine göre daha hızlı bir sonuç verir, ancak lam üzerinde yapılan koagülaz testi, *S.aureus* suşlarının %10-15'inde yanlış negatif sonuçlar verebilir (Davis vd., 2007). Tüm stafilokoklar, glukoz fermantasyonu yapar ve laktik asit üretir. Ayrıca, maltoz, laktoz, sükröz gibi karbonhidratları da fermente edebilirler. Sadece *S.aureus*, mannitolü fermente ederek asit oluşturabilen bir özellik gösterir. Stafilokoklardan

S.aureus'u ayıran başka bir önemli özellik de, nükleik asitleri hidroliz eden DNAaz ve ısıya dayanıklı endonükleaz üretebilirler (Bilgehan H., 2004).

Stafilokok tanısında kullanılan alternatif manuel ve otomatize ticari sistemler de bulunmaktadır;

- Vitek (bioMerieux Vitek, Mo.)
- Phoenix (Becton Dickinson, ABD)
- Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR),
- “pulsed field” jel elektroforezi (PFGE)
- Kromozomal DNA restriksiyon analizi
- Minitek Gram Positive Panel (BD Microbiology System)
- RapiDEC Staph ve Vitek Gram-Positive Identification (GPI) card (BioMerieux)
- MicroScan Rapid Pos Combo Panel ve MicroScan Pos ID panel (Dade/MicroScan)
- BBL Crystal GP Identification System (BD Biosciences)
- Microbact Staphylococcal 12S (Oxoid) (Hortaç, 2016)

Son yıllarda, MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight Mass Spectrometry) adlı hızlı ve maliyeti düşük bir sistem, mikroorganizmaların tanımlanmasında kullanılmaktadır. Bu sistemde, mikroorganizmaya ait küçük biyomoleküller ve bunların polimeri olan büyük makromoleküller, lazer ışınları ile iyonize edilir. Oluşan iyonlar, elektromanyetik bir tüpten geçirilerek farklı kütlelere sahip iyonlar tüpten geçerken iyon dedektörüne farklı zamanlarda ulaşır. Bu zaman kayıtları, veri tabanındaki kütle spektrometre değerleriyle karşılaştırılarak mikroorganizmanın tanısı konulur. Bu yüksek duyarlılık seviyesine sahip sistem, *S.aureus* tanısını koymak için kullanılabilir (Wieser ve ark., 2012).

Epidemiyolojik araştırmalar kapsamında kullanılan sürveyans çalışmalarının bir parçası olarak, antibiyotip, faj ve kapsül tiplemesi, plazmid profili, ribotipleme, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), PFGE (pulsed-field gel electrophoresis), MLST (multilocus

Kapsül Tip-5'in stafilokokal bakteriyemi ve artrit gelişiminde bir virülans faktörü olduğu gösterilmiştir. Kapsül Tip-8'in toksik şok sendromu toksini (TŞST) üretimi ile ilişkilendirildiği, Kapsül Tip-5'in ise oksasilin direnci ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Hayvan deneylerinde Tip-5 ve Tip-8'e karşı gelişen antikorların koruyucu olduğu ancak bugüne kadar geliştirilen konjuge (doğrudan) aşılarda istenilen etkinlik düzeyine ulaşamadığı belirlenmiştir (Başustaoglu AC., 2010; Kaplan SL HK, 2018).

2.3.2. Hücre duvarı

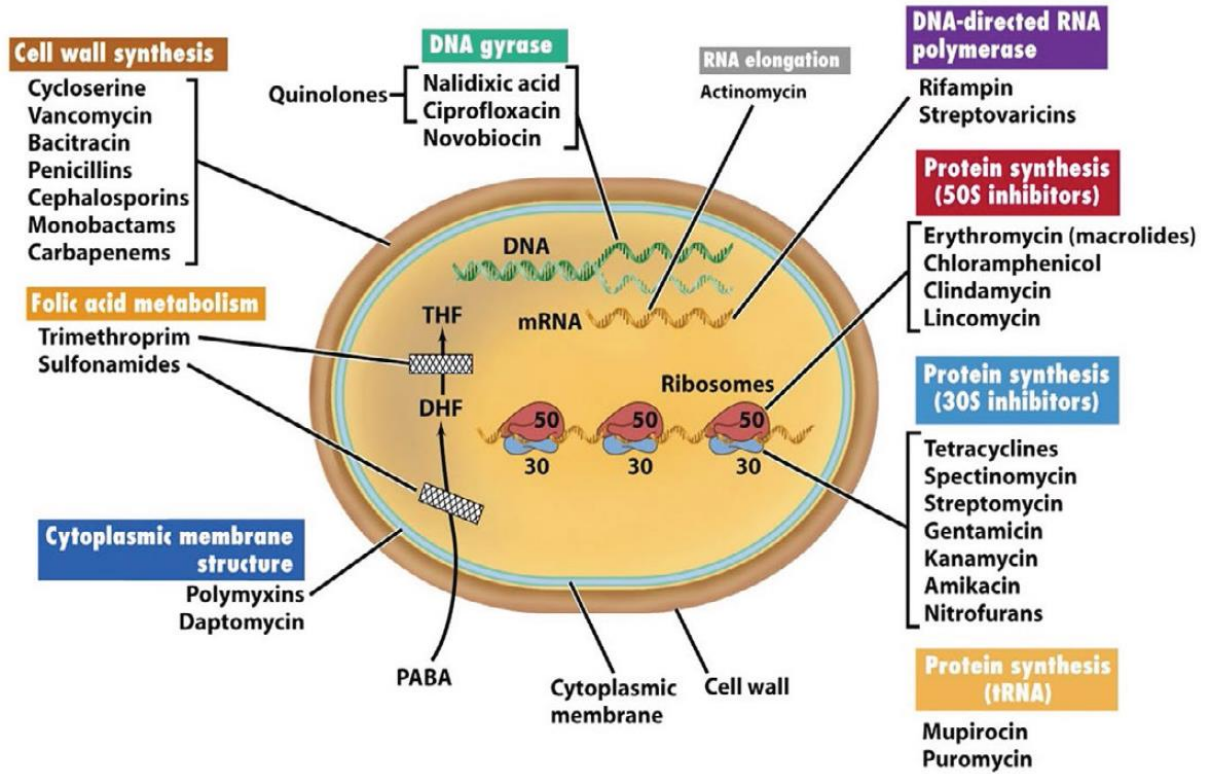
S.aureus'un hücre duvarı üç temel bileşen içerir: peptidoglikan tabakası, teikoik asit ve protein A gibi diğer yüzey proteinleri. Peptidoglikan tabakası, tekrarlayan N-asetil glukozamin (NAG) ve N-asetil muramik asit (NAM) birimlerinden oluşan bir polisakkarit iskeletini içerir ve $\beta(1-4)$ bağlarıyla birbirine bağlıdır. N-asetil muramik asit subünitleri, bağlanan oligopeptit yan zincirlerini pentaglisin köprüleriyle çapraz bağlayarak yapıyı güçlendirir. Peptidoglikan tabakası, beta-laktam antibiyotiklerin ve glikopeptidlerin hedefidir, bu nedenle önemli bir yapıdır. Teikoik asit, kuru ağırlığın %50'sinden fazlasını oluşturur ve *S.aureus*'a özgü olan ribitol teikoik asit, peptidoglikanın NAM alt birimine bağlanır. Teikoik asit, türe özgüdür ve bakterinin konak mukoza hücrelerine yapışmasında rol oynar. Hücre duvarı, gram negatif bakterilerin aksine çok katmanlı kalın bir tabaka halinde bulunur. Ancak, teikoik asidin *S.aureus* enfeksiyonlarının patogeneğinde ve immün sistemin aktive olmasındaki doğrudan rolü tam olarak anlaşılamamıştır (Bitrus AA, Peter OM, Abbas MA, 2018; Sutton vd., 2021).

Gram pozitif bakterilerdeki peptidoglikan tabakadaki çok sayıda çapraz bağ, gram negatif bakterilere göre daha rijit bir yapıya sahip olmasını sağlar. Ayrıca, peptidoglikan tabakası, endojen pirojenlerin üretimini, kompleman aktivasyonunu, monositlerden İnterlökin-1 (IL-1) üretimini ve lökositlerin kemotaksisini stimüle eden endotoksin benzeri aktiviteye sahiptir (Pervanlar, 2020).

Hücre duvarı sentezinin son basamağında görev alan transpeptidaz ve karboksipeptidaz gibi enzimler, plazma membranına sıkıca bağlanmış durumdadır. Bu enzimler, kovalent olarak bağlandıkları beta-laktam antibiyotikler tarafından inaktive edildikleri için enisilin Bağlayan Protein (PBP) olarak da adlandırılır. *S.aureus*'ta hücre duvarı sentezinde PBP 1, 2 ve 3 görev alırken, MRSA'ların (metisillin dirençli *Staphylococcus aureus*) farklı bir PBP olan PBP2a'ya sahip olduğu gözlemlenmiştir. PBP'lerin inaktivasyonu

bakterinin ölümüne neden olurken, PBP'lerin beta-laktam antibiyotiklere olan afinitesindeki azalma antibiyotik direncine yol açar (Baştasaoğlu AC., 2010; Sutton vd., 2021).

Sadece *S.aureus*'ta bulunan protein A yüzey proteinlerinin bir örneğidir. Ayrıca ve peptidoglikan yapının en dışındaki hücre duvarı bileşenidir. Hücre dışında, aynı reseptörlere bağlanarak kompleman aktivasyonuna neden olan protein A, kemotaktik ve mitojenik etkiler de gösterir. Nükleaz ve koagülaz aktiviteleri ile yüksek oranda korelasyon gösteren protein A, aynı zamanda güçlü bir virülans faktörüdür (Hasan, 2022).



Şekil 2.3. *S.aureus* hücre yapısı ve virülans faktörleri (Bitrus AA, Peter OM, Abbas MA, 2018).

2.3.3. Yüzey proteinleri

S.aureus, konak canlıda matriks proteinlerine bağlanmada rol oynayan çeşitli yüzey proteinleri taşır. Bu yüzey proteinleri arasında protein A, kümeleştirici faktör A ve B, kollajen bağlayan protein, plazmine duyarlı protein, fibronektin bağlayan protein A ve B, serin-aspartat tekrar proteini, metisilin direncini etkileyen protein, demir regüle determinant A-C, *S.aureus* yüzey proteini A-K bulunmaktadır. Bu proteinler, hücre duvarı peptidoglikan tabakasına kovalent olarak bağlanarak 'matriks proteinlerini tanıyan mikrobiyal yüzey komponentleri' (MSCRAMMs) olarak tanımlanırlar (Karbuş, 2013). *S.aureus*

enfeksiyonlarının başlaması ve konak dokulara bağlanma sürecinde bu adezyon moleküllerinin önemli rolleri bulunmaktadır (Bien vd., 2011).

2.3.4. Protein A

S.aureus suşlarının çoğunda bulunan ve koagülaz negatif stafilokoklarda bulunmayan protein A, özgün bir tanımlama testi olarak kullanılabilir. Bu yüzey proteini, hücre duvarının en dış katmanında yer alır. Protein A, IgG3 dışındaki tüm IgG alt tiplerinin Fc bölümüne immün olmayan bir şekilde bağlanma özelliğine sahiptir. Bu özelliği sayesinde serum immunglobulinlerini tüketerek antibakteriyel antikorlardan, komplemandan ve nihayetinde bakteriyi fagositozdan korur. Protein A'ya karşı gelişen antikorlar, ciddi *S.aureus* enfeksiyonlu hastalarda tespit edilir. Ayrıca, Protein A'nın trombositlerdeki von Willebrand faktöre bağlanabilme özelliği, *S.aureus*'un oluşturduğu endovasküler enfeksiyonların patogeneğinde önemli bir rol oynayabilir. Son çalışmalar ayrıca protein A'nın *S.aureus*'un neden olduğu pnömoninin patogeneğinde merkezi bir rol oynadığını göstermiştir. Hayvan deneylerinde, protein A'nın yokluğunun pnömoni olaylarını ve pnömoni ile ilişkili mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir. Protein A, tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) için reseptör görevi görür ve bu nedenle akciğerlerde temel proinflamatuvar faktör olarak görev yapar (Alen S, 2017; Bien vd., 2011; Kaplan SL HK, 2018; Lin vd., 2024).

2.3.5. Enzimler

S.aureus suşları, virülansa katkı sağlayan koagülaz, lipaz, katalaz, kollajenaz, nükleaz, proteaz, lipaz, slime faktör, hiyaluronidaz ve beta-laktamaz (penisilinaz) gibi çeşitli enzimleri salgılar. Bu enzimlerin bazıları, bakterinin etrafını fibrinle örter ve bu sayede bakterinin opsonizasyon ve fagositozdan kurtulmasını sağlar. Fagosit edilen bakterilerin yok edilmesini engeller veya konak doku componentlerini parçalayarak bakterinin yayılmasını kolaylaştırır. *S.aureus*, en az üç farklı beta-laktamazı sürekli olarak üretebilir. Bu beta-laktamazlar, antibiyotik varlığında üretilebilecekleri gibi antibiyotiğe maruz kalmadan da sürekli olarak üretilebilirler (Otto, 2014). Bakterinin penisilin ve ampisiline direnç geliştirmesine neden olur. Beta-laktamazları kodlayan genler genellikle plazmidler üzerinde bulunur ve bu plazmidler, eritromisin ve tetrasiklin gibi diğer antibiyotiklere direnç genlerini de taşıyabilir. Bu direnç genleri, transformasyon ve transdüksiyon yoluyla bakteriler arasında transfer edilebilir (Alen S, 2017; Bien vd., 2011).

2.4. Toksinler

Toksinler, doğrudan konakçıyla etkileşime giren ve salgılanan zehirli maddelerdir. Toksinler, membrana zarar veren toksinler, reseptörlere müdahale eden toksinler ve salgılanan enzimler olmak üzere üç kategoride sınıflandırılabilir (Otto, 2014). Stafilokokal enterotoksinler (SE'ler) ve alfa-toksin (a-toksin) gibi birçok *S.aureus* toksini proapoptotik aktivite gösterir (Ulett & Adderson, 2006). Ancak *S.aureus* toksinlerinin neden olduğu kesin apoptotik hücre tipleri ve altta yatan mekanizmalar hala belirsizdir. Bununla birlikte, stafilokokal protein A (SPA) gibi yüzeyde yerleşik proteinler de dahil olmak üzere diğer virülans faktörleri de potansiyel olarak apoptozu tetikler (Zhang vd., 2017).

2.4.1. Sitotoksinler

- A. Alfa-Toksin: Bu toksin eritrosit, lökosit, hepatosit, trombosit, insan diploit fibroblastları, hela hücreleri ve Ehrlich asit karsinoma hücreleri gibibirçok hücre üzerine sitolitik etki gösterir. Memeli hücrelerinde (eritrosit, lökosit, trombosit gibi) por oluşumuna neden olarak inflamatuvar yanıtı indükler. Kanlı agarda üreyen *S.aureus* kolonilerinin etrafında oluşan beta hemolizden sorumludur.
- B. Beta Toksin: Eritrositler, lökositler, ve makrofajlar gibi çeşitli hücreler için sitolitik etki gösterir. Hemolitik aktivitesi bulunup, bu etki eritrositlerin duvarındaki sfingomylin miktarına bağlıdır. Toksinin en önemli özelliği sıcak-soğuk lizis yapabilme yeteneğidir. Eritrositler üzerindeki etkisi soğukla artar.
- C. Delta Toksin: İnsan eritrosit hücrelerine orta derecede etkilidir.
- D. GamaToksin: İnsan, tavşan ve koyun eritrositleri gibi çeşitli eritrositleri hemolize ederek kanlı agarda büyük ve belirgin birhemoliz alanı oluşturur.
- E. PVL (Panton-Valentine Lökositidin): Polimorf nükleer lökositlerde granül sekresyonunu ve yangısal medyatörlerin salınmasını uyarır (Yiğit, 2013).

2.4.2. Eksfoliyatif toksinler

Stafilokokal eksfoliyatif toksinler (ET'ler), stafilokokal haşlanmış deriden sorumludur. Ritter hastalığı olarak da bilinen ve dehidrasyon, yüzeysel cilt katmanlarının kaybı ve ikincil enfeksiyonlarla karakterize edilen sendromdur (SSSS) (Bukowski vd., 2010). Vücudun geniş alanları SSSS'den etkilenir ve lezyonlar sıklıkla sterildir. Büllöz impetigo, SSSS'ye neden olan aynı eksfoliyatif toksinin neden olduğu, altta yatan aynı enfeksiyon tarafından oluşturulan ve en sık olarak yüzü, elleri, gövdeyi ve kalçaları etkileyen bir cilt hastalığıdır. Büllöz

impetigoda püstüller ve kabarcıklar orijinal enfeksiyon bölgesine yakın yerde gelişir, ancak SSSS'de olduğu gibi vücudun başka bir yerinde gelişmez. Kabarcıklar ve püstüller epidermin yüzeyine çok yakın bir yerde ortaya çıktıklarından, hiçbir zaman birkaç milimetreden fazla büyümeyizler, ardından sızıntı ve sarı kabuklanmanın geliştiği sınırdan delinip genişlerler ve hastalar cildi ovaladığında enfeksiyon çevredeki cilde yayılabilir döküntü. Bu nedenle iki hastalık arasındaki tek fark cilt hasarının düzeyidir. Bullöz impetigo genellikle küçük çocukları ve bebekleri etkiler, ancak SSSS'de olduğu gibi kızarıklık ve döküntüler gelişmez çünkü daha büyük çocuklar ve yetişkinler, bağışıklık sistemini etkisiz hale getiren nötralize edici antikorlara sahiptir (Ahmad-Mansour vd., 2021).

2.4.3. Süperantijenler

S.aureus süperantijenleri (SAG'ler) en etkili T hücresi mitojenleridir. Mekanizma SAG'lerin etkisi geleneksel peptid antijenlerinininkinden farklılık gösterir. Antijen sunan hücreler (APC'ler) geleneksel antijenleri alır ve işlerler. T hücreleri, T hücresi reseptörü (TCR) α - ve β -zincirlerinin hiperdeğişken bölgelerini kullanarak APC yüzeylerine maruz kalan MHC sınıf II ile sınırlı antijenik peptidi tanımlayabilir (Wieczorek vd., 2017). Ancak SAG'ler, APC'lerde görüntülenen korunmuş MHC sınıf II yapılarından yararlanarak ve ardından antijen işleme kullanılmadan T hücresi aktivasyonunu ve çoğalmasını tetikleyerek TCR β -alanlarını doğrudan bağlayabilir. Bu, IL-2, IFN- γ ve TNF- α dahil olmak üzere proinflatuar sitokinlerin aşırı aktif hale gelmesine ve salınmasına neden olarak, her bir süperantijene özgü çoklu sistem organ yetmezliği olasılığı da dahil olmak üzere çok sayıda yan etki ve semptomu neden olur (Ahmad-Mansour vd., 2021). SAG'ler, oral uygulamadan sonra kusturucu etkilere sahip stafilokokal enterotoksinleri (SE'ler) ve kusturucu özelliklere sahip olmayan toksik şok sendromu toksini 1'i (TSST-1) içerir (Lina vd., 2004).

Enterotoksinler (SEs)

Enterotoksinler bağırsak aktivitesini bozan ve stafilokok oluşumunu tetikleyen 20-30 kDa salınan toksinlerdir. Ateş veya hipotansiyon gibi toksik etki belirtileri olmaksızın kusma, karın ağrısı, bulantı ve ishal ile karakterize olan stafilokokal gıda zehirlenmesidir (SFP) ((Hennekinne vd., 2012; Hu vd., 2021). Antijenik heterojeniteye dayanarak 20'den fazla SE (SEA—SEIV) keşfedilmiştir (Fisher vd., 2018; Hennekinne vd., 2012). SE'lere kusturucu yanıtta yer alan reseptörler keşfedilmemiş olsa da, stafilokokal gıda zehirlenmesinin klinik belirtileri, her ikisi de SE'lere yanıt olarak üretilen lökotrien B4 ve prostaglandin E2 gibi inflammatuar araçlarla ilişkilendirilmiştir (Pezato vd., 2012; Uchiyama vd., 1992). Mide ve

ince bağırsağın üst kısmı, epitel ve lamina propriadaki nötrofil sızıntılarıyla ilişkili en önemli mukoza lezyonlarını sunarken, jejunumda genişlemiş kriptler görülür. Bazı toplumdan edinilen MRSA (Community-acquired MRSA, CA-MRSA), enfeksiyonlarında ölümcül sepsis, enfektif endokardit ve böbrek enfeksiyonunda bu durum, yüksek düzeyde stafilokokal enterotoksin C'ye (SEC) kritik derecede bağımlıdır (Salgado-Pabón vd., 2013). Stafilokokal enterotoksin B (SEB) gıda zehirlenmesiyle ilişkili olsa da, solunan bir biyolojik silah olarak potansiyel kullanım açısından araştırılmıştır (Pinchuk vd., 2010).

Toksik şok sendromu toksini

SE'lerin aksine, TSST-1 (22-kD) kusmayı tetiklemez ancak mide bulantısını uyarır. Konakçı T hücrelerinden ve makrofajlardan önemli miktarlarda proinflamatuvar sitokinler salınır. Bu sitokin patlaması, çoklu organ yetmezliğine ilerleyebilen yüksek ateş, döküntü, deskuamasyon, hipotansiyon ve hipovolemik şok gibi toksik şok sendromu (TSS) semptomlarına neden olur (Christopher S. Stach, Alfa Herrera, 2014).

2.5. Panton-Valentine Lökositidin (PVL)

Beyaz kan hücrelerinin parçalanmasına neden olan *S.aureus* sitotoksinleri; S ve F olarak bilinen, ayrı ayrı salgılanan ancak hedef hücre zarında birleşerek hücre homeostazisini bozabilen ve hücre lizisine neden olabilen beta gözenekleri oluşturan iki alt birimden oluşurlar. *S.aureus* çift bileşenli lökositidinleri arasında bulunanlardan biri de Panton-Valentine lökositidin (PVL)'dir (Rungelrath & Deleo, 2021). Bu toksin patojeniteyi arttıran hücre dışı protein toksindir. Lökotoksinler monositler, nötrofiller veya makrofajlar gibi beyaz kan hücrelerini hedef alır (Spaan vd., 2017). PVL, LukDE ve LukAB'nin (bazen LukGH olarak da bilinir) tümü iki bileşenli Luk toksin ailesinin üyeleridir ve PVL lökositidinler arasında 100 kat daha yüksek bir lökositotik aktivite sunarlar. Bu Luk toksin ailesi, çekirdek genom veya faj üzerinde kodlanan ve bir gözenek yapısı oluşturmak üzere oligomerize olan 32-35 kDa lökotoksinleri içerir (Ahmad-Mansour vd., 2021). Lökotoksinlerin lökositotik aktivitesi reseptör etkileşimine dayanmaktadır. İmmün hücreler üzerindeki CCR5, LukDE'nin reseptörüdür; C5aR, C5L2 ve CD11b ise PVL ve LukAB'nin reseptörleridir (DuMont vd., 2013; Mohimani vd., 2017). PVL iki bölümden oluşan bir toksindir: LukS-PV ve LukF-PV. Birbirlerini sinerjik olarak etkileyen F (hızlı) ve S (yavaş) adında iki protein komponentinden oluşmuş bu ekzotoksin; konak lökositlerinin membranlarında porlar oluşturarak bu hücrelerin erimesine neden olmaktadır ve bunların parçalanmasıyla sonuçlanır. PVL öncelikle deri ve

yumuşak doku hastalıklarıyla ve diğer invazif hastalık türleri ile bağlantılıdır (Kaneko & Kamio, 2004).

Zatürre, kas-iskelet sistemi hastalıkları ve bakteriyemi gibi hastalıklar çok daha az yaygındır. PVL pozitif bir suşla enfeksiyonun yetişkinlerde stafilokok pnömonisi, kas-iskelet sistemi hastalığı veya bakteriyemi için kötü bir klinik sonucu öngördüğü görülmemektedir, ancak PVL pozitif deri ve yumuşak doku hastalığı olan hastaların cerrahi müdahale gerektirme olasılığı daha yüksek görünmektedir (Shallcross vd., 2013).

PVL, suş tipine bakılmaksızın hem MRSA hem de MSSA suşlarında deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarıyla bağlantılıdır. Bu nedenle enfeksiyon olasılığı nedeniyle yeni tedavilere ihtiyaç duyulmaktadır. PVL-pozitif *S.aureus* suşları artmaktadır ve bu suşların bazıları hâlihazırda mevcut olan MRSA'dır (Ahmad-Mansour vd., 2021; Shallcross vd., 2013).

2.6. MRSA (Metisiline Dirençli *S.aureus*)

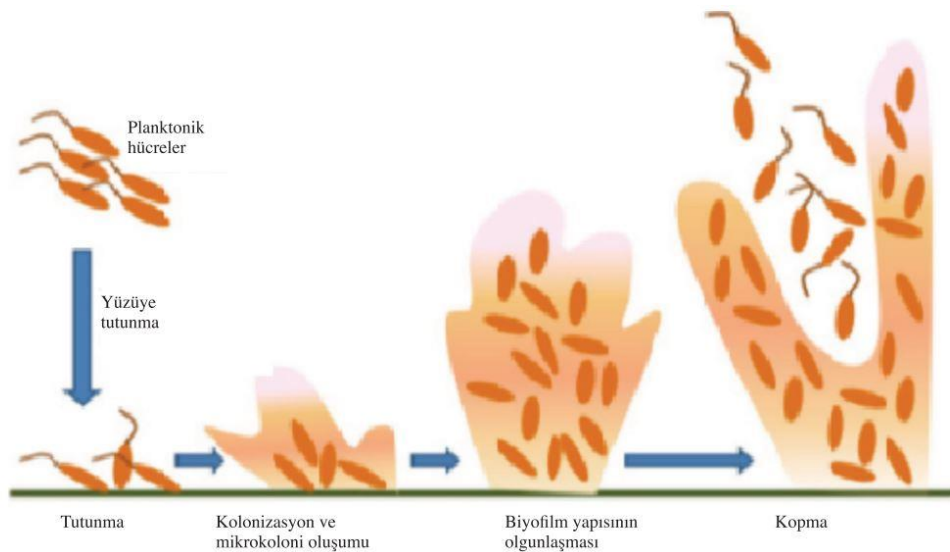
Metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) 1961 yılında ilk kez İngiltere'de penisiline dirençli yarı sentetik penisilin olan metisilin geliştirilmesinden kısa bir süre sonra izole edilmiştir (Itou vd., 2000). *S.aureus* izolatlarının zamanla antibiyotiklerin çoğuna dirençli oluşu, bütün dünyada hızlı yayılması stafilokok enfeksiyonlarının tedavisinde önemli bir problem haline gelmiştir. (Ergon vd., 2010; Itou vd., 2000)

MRSA, penisilinler ve sefalosporinler tarafından temsil edilen bir antibiyotik sınıfı olan hemen hemen tüm β -laktam antibiyotiklere dirençlidir. MRSA'nın β -laktam direnci, yeni bir penisilin bağlayıcı proteinin (PBP) üretilmesinden kaynaklanır (Hortaç, 2016; Itou vd., 2000). MRSA'nın β -laktam direnci, PBP 2a olarak adlandırılan yeni bir penisilin bağlayıcı proteinin (PBP) üretilmesinden kaynaklanır; bu protein, *S.aureus*'un içsel PBP dizisinden (PBP1 ila 4) farklı olarak önemli ölçüde azaltılmıştır. β -laktam antibiyotikler; B-laktam antibiyotiklerin başka türlü engelleyici konsantrasyonlarının varlığına rağmen, MRSA, yalnızca PBP 2a'nın engellenmemiş aktivitesine bağlı olarak hücre duvarı sentezini sürdürebilir. PBP2/2a, diğer PBP'lerden farklı olarak beta-laktam yapısındaki antibiyotiklere karşı düşük afiniteye bağlanma özelliği göstermektedir. Dolayısıyla, PBP 2a, MRSA kromozomunda yer alan bir *mecA* geni tarafından kodlanır. 1987 yılında bir Japon MRSA suşundan *mecA* geni klonlanmış ve dizisi belirlenmiştir. *MecA* geni *S.aureus*'un yanı sıra koagülaz negatif stafilokoklar arasında da yaygın olarak bulunmaktadır. Bu nedenle metisilin direnci belirleyicisinin (*mec* determinant) stafilokok türleri arasında serbestçe bulaşabildiği

öne sürülmüştür. Ancak ayrıntılı bir moleküler epidemiyolojik çalışma ile Kreiswirth ve ark. MRSA'nın tek veya iki atasal klondan kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Bu durum, mecA'nın türler arası veya tür içi aktarım sıklığının oldukça sınırlı bir süreç olduğu ve mec aktarımının, bir transpozon gibi özel aktarım mekanizmalarından kaynaklanmayabileceği görüşüne yol açmıştır (Doğan vd., 2018; Itou vd., 2000; Suzuki vd., 1992).

2.7. Biyofilm

Biyofilmler, bağlı mikrobiyal hücreler tarafından oluşturulan matrisle çevrili sessiz toplulukları temsil eder. Biyofilm oluşumu, bakterilerin enfeksiyonlar sırasında antibiyotikler dahil antimikrobiyal ajanların etkilerine karşı direnmek için kullandığı stratejilerden biridir. Örneğin, *S.aureus* biyofilm oluşumu, bakterilerin vankomisine karşı duyarlılığını azaltır; bakteriyel biyofilm minimum biyofilm inhibitör konsantrasyonlarına neredeyse planktonik bakterilere kıyasla vankomisinin minimum inhibitör konsantrasyonunun (MIC) yaklaşık 10 katı gerekir (Aboelnaga vd., 2024). Biyofilm, çeşitli mikrobiyal türlerin çevresel etkenlerden korunmak; doğal çevrede sıkça bulunan ve yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmek için oluşturdukları uygun ortamda kalan mikroorganizmalar, bir mikroekosistem olarak tanımlanabilir (Marcinkiewicz vd., 2013). Mikroorganizmalar, hücresel organizasyonlarını sürdürmek ve belirli bir yapısal bütünlük içinde yaşamak için birbirleriyle haberleşen biyofilm yapısıyla dikkat çeker. Bu biyofilm yapısını oluşturan organizmalar, QS özelliği aracılığıyla bir araya gelir. QS sisteminde yer alan sinyal molekülleri, bakterilerin belirli bir odakta toplanmasını sağlayarak biyofilm oluşumunun temelini atmaktadır (Temel & Erač, 2018).



Şekil 2.4. Biyofilm oluşum aşamaları (Temel & Erač, 2018).

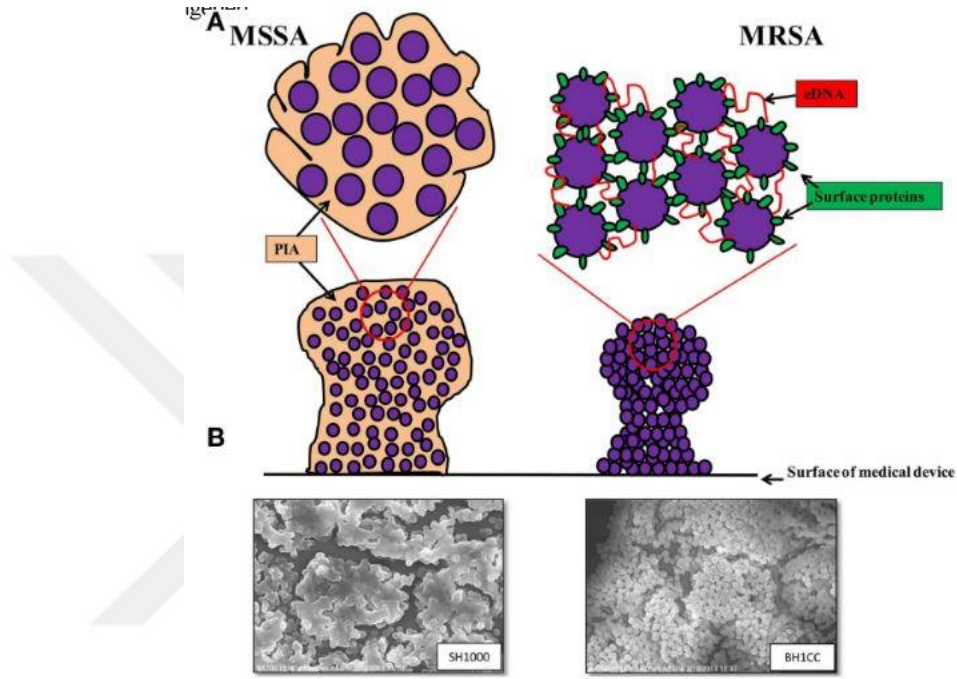
Mikroorganizmaların organik ekzopolisakkarit yapılarını kullanarak oluşturdıkları biyofilm yapısı, canlı veya cansız bir yüzeye geri dönüşümsüz olarak tutunmalarını sağlar. Bu biyofilm yapısı, mikroorganizmanın konak bağışıklık sisteminden kaçmasına, antibiyotiklere direnç kazanmasına avantaj sağlar. Bakteriye bir dizi dezenfektan, pH değişimi ve kuruluğa karşı dirençli hâle getirir. Bu durum, damar kateterleri, implantlar, kalp kapakçıkları, kalp pilleri, kontakt lensler gibi çeşitli tıbbi araç ve biyomateryaller üzerinde oluşan biyofilmlerin gelişimine neden olabilir ve bu da hastalarda ciddi terapötik sorunlara yol açabilir. Kronik bakteriyel enfeksiyonların %80'den fazlası biyofilmlerle bağlantılıdır ve nozokomiyal enfeksiyonların %65'inden sorumlu olan biyofilm yapısı, yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (Hortaç, 2016; Kim vd., 2017; McCarthy vd., 2015).

Biyofilmler, mikrobiyal hücreler ve EPS (extracellular polymeric substance) tarafından oluşturulan, ayırt edici direk veya mantar şeklinde yapılarla organize mimarilere sahiptir. EPS bazlı matriks, biyofilm oluşumunu yapışma bölgesinde meydana getirir, ya bakteriyel yüzeylerde üretilir ya da bağlanma yüzeyinde salgınır ve mikrobiyal kolonizasyonu ve hücre kümeleşmesini teşvik eden bir başlangıç polimerik matriks oluşturur. Bu tür yapılar, biyofilm çekirdeğini dış ortamla birleştiren besin taşıma sistemleri olarak işlev gören titiz kanal ağlarını oluşturur. Besin eksikliği koşulları biyofilm oluşumunu tetikleyebilir. Biyofilm EPS matrisi, çevrede bulunan karbon, fosfat ve azot gibi çevresel metal besin maddelerinin herhangi bir miktarını bağlar. Biyofilm içindeki bakteriyel hücreler, persister hücreler olarak bilinen durgun bir duruma girerler; azaltılmış metabolik aktivite gösterir, hücre bölünme hızları yavaşlar ve antimikrobiyal ajanlara yüksek tolerans gösterirler. Ayırma ve dağılma gerçekleştikten sonra, persister hücreler metabolik aktiviteyi yeniden kazanır ve antibiyotiklere hassasiyet gösterirler (Aboelnaga vd., 2024).

S.aureus'un konakçının hücrelerine ve dokularına temasıyla birlikte yapışması, epitel ve endotel hücrelerini el geçirmesi, bir biyofilm oluşturma ve konakçının bağışıklık tepkisinden kaçınması, bunların tümü bakterinin yüzey proteinlerinden kaynaklanmaktadır (Hasan, 2022).

S.aureus biyofilm enfeksiyonları, enfekte bireylerle doğrudan temas yoluyla kolayca yayılabilir veya cerrahi kesiler gibi cilt yüzeyinden bakterilerin girmesiyle tetiklenebilir. İmplantın yüzeyi, cerrahi yara bölgesinde bulunan fibronektin gibi proteinler açısından zengindir. Bu proteinler, mikrobiyal yüzey bileşenleri tarafından (MSCRAMM'ler olarak bilinir) tanıyan yapışkan matris moleküllerine bağlanır ve bakterilerin biyofilm oluşturma

için bir yer sağlar. Konakçı immün tepkisi veya antibiyotik tedavisi ile temizlenmezse, bu bakteriler biyofilm oluşumundan çıkarak dolaşıma katılır ve bakteriyemiye (kanda bakteri varlığı) neden olabilir. Aksesuar gen düzenleyici(*agr*) sistemindeki bir delesyon, klinik MRSA suşları tarafından biyofilm oluşumunu arttırmış, ancak MSSA suşları tarafından oluşturulan biyofilmler üzerinde herhangi bir etkisi olmamıştır (Cheung vd., 2021; McCarthy vd., 2015; Thurlow vd., 2011).



Şekil 2.5. (A) MSSA ve MRSA tarafından ifade edilen biyofilm fenotiplerinin grafiksel gösterimleri. MSSA suşları ica-bağımlı biyofilm oluşturur ve PIA aracılı biyofilmler üretirken, MRSA suşları PIA'dan bağımsız biyofilmler oluşturur ve yüzeylerin kolonizasyonu ve biyofilm birikimi için fibronektin bağlayıcı proteinler, Atl aracılı hücre lizizi ve eDNA gibi yüzey proteinlerine ihtiyaç duyar. (B) %4 NaCl ile desteklenmiş BHI ortamında yetiştirilen MSSA SH1000 suşu (solda) ve %1 glikoz ile desteklenmiş BHI ortamında yetiştirilen MRSA BH1CC suşu (sağda) tarafından oluşturulan biyofilmlerin taramalı elektron mikrografları. (3500 × büyütme) (McCarthy vd., 2015)

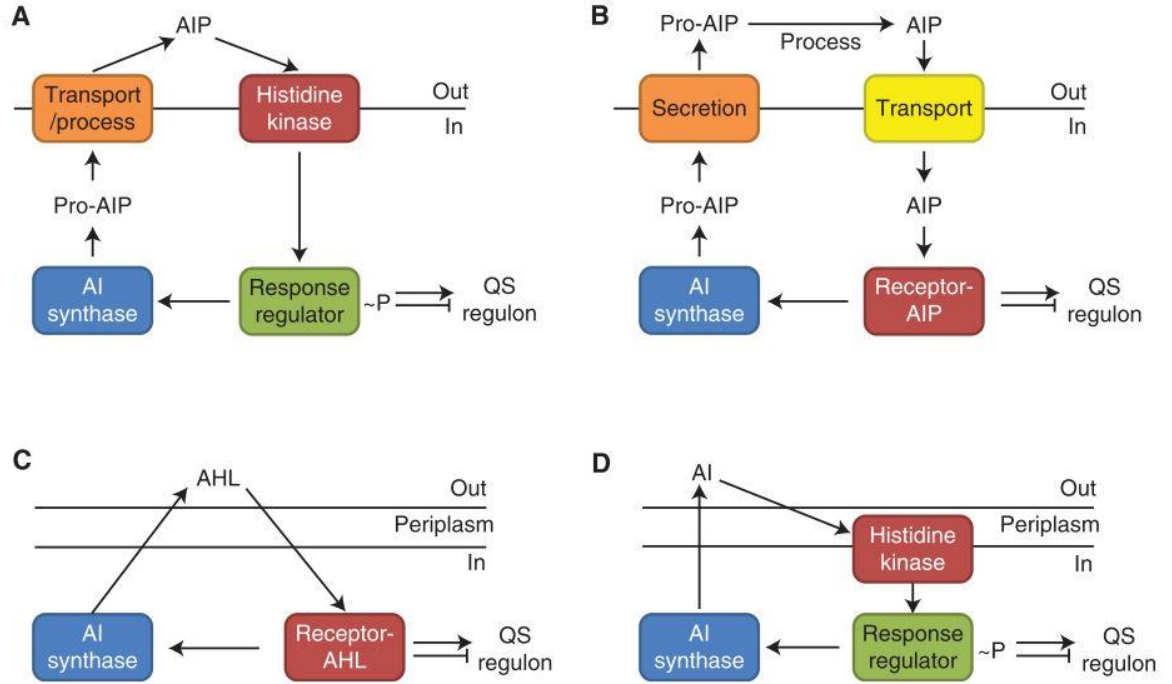
2.8. Quorum Sensing (QS)

Quorum Sensing (QS), bakteriyel hücreler arası iletişimi sağlayan bir süreçtir. Bakteriyel virülansın düzenlenmesinde çeşitli mekanizmalar yer almaktadır, bunlardan biri de kritik olan quorum sensing (QS) mekanizmasıdır (Letizia vd., 2022). Otoindüktörler (AI'ler) olarak adlandırılan hücre dışı sinyal moleküllerinin üretimi, tespiti ve yanıtı ile karakterizedir. Bakteri popülasyonu yoğunluğu arttıkça, AI'ler çevrede birikir ve bakteriler, hücre sayılarındaki değişiklikleri izlemek ve toplu halde gen ifadesini değiştirmek için bu bilgiyi kullanırlar. QS, senkronize hareket eden bakteri grupları tarafından gerçekleştirildiğinde,

bakteri lehine olan faaliyetleri yönlendiren genleri kontrol eder. QS tarafından kontrol edilen süreçler arasında biyoluminesans, sporlanma, yeterlilik, antibiyotik üretimi, biyofilm oluşumu ve virülans faktörü salgılanması yer alır (Lina vd., 1998; Rutherford & Bassler, 2012; Williams vd., 2023).

QS ağları ve moleküler mekanizmaları, bilinen tüm QS sistemleri üç temel prensibe dayanır. İlk olarak, topluluğun üyeleri sinyal molekülleri olan yapay zekâları üretmektedirler. Düşük hücre yoğunluğunda (LCD), AI'ler dağınık ve dolayısıyla tespit için gereken eşiğin altındaki konsantrasyonlarda bulunur. Yüksek hücre yoğunluğunda (HCD), AI'lerin kümülatif üretimi, tespit ve tepkiyi mümkün kılan yerel bir yüksek konsantrasyona yol açar (Kaplan ve Greenberg 1985). İkincisi, AI'ler sitoplazmada veya membranda bulunan reseptörler tarafından tespit edilir. Üçüncüsü, işbirlikçi davranışlar için gerekli olan genlerin ekspresyonunun aktive edilmesine ek olarak, AI'lerin tespiti AI üretiminin aktivasyonu ile sonuçlanır. Bu ileri beslemeli otomatik indüksiyon döngüsü muhtemelen popülasyondaki senkronizasyonu teşvik eder.

Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler farklı türde QS sistemleri kullanır (Şekil 1, dört paradigmatik QS bağlantı şemasını gösterir). Gram-pozitif bakteriler, sinyal molekülleri olarak otoindükleyici peptitler (AIP'ler) adı verilen peptitleri kullanır. AIP'ler hücrede üretildikten sonra işlenir ve salgılanır. HCD'de meydana gelen AIP'nin hücre dışı konsantrasyonu yüksek olduğunda, aynı kökenli membrana bağlı iki bileşenli histidin kinaz reseptörüne bağlanır. Genellikle bağlanma, reseptörün kinaz aktivitesini aktive eder, otofosforile olur ve fosfatı aynı kökenli bir sitoplazmik yanıt düzenleyiciye aktarır. Fosforile yanıt düzenleyici, QS regulonundaki genlerin transkripsiyonunu aktive eder (Şekil 2.6 A). Bazı Gram-pozitif bakteriyel QS vakalarında AIP'ler, transkripsiyon faktörünün aktivitesini modüle etmek ve ardından gen ekspresyonu değişikliklerini modüle etmek için transkripsiyon faktörleriyle etkileşime girdikleri hücre sitoplazmasına geri taşınır (Şekil 2.6 B) (Rutherford & Bassler, 2012).



Şekil 2.6. Kanonik bakteriyel çekirdek algılama (QS) devreleri. (A) iki bileşenli sinyalleme veya (B) bir AIP bağlayıcı transkripsiyon faktörü ile Gram pozitif bakterilerde otomatik indükleyici peptit (AIP) QS. (C) LuxI/LuxR tipi bir sistem veya (D) iki bileşenli sinyalleme ile Gram-negatif bakterilerdeki küçük molekül QS.

2.9. Aksesuar Gen Bölgeleri (Agr)

2.9.1. Agr A ve Agr C

Agr sisteminin, *S.aureus*'un patogenezinde büyük önem taşıdığı düşünülmektedir; çünkü virülans faktörlerinin ekspresyonunu düzenler. Agr sisteminin birçok akut klinik enfeksiyondaki önemine rağmen, agr-kusurlu klinik izolatlar sıklıkla tıbbi cihazlarla ilişkili enfeksiyonlar ve kalıcı bakteriyemi gibi çeşitli enfeksiyon türlerinde tanımlanır. (Huang vd., 2021).

Virülans faktörlerinin çoğu, iki bileşenli bir sistem (TCS) olan AgrAC tarafından düzenlenir. AgrACTCS, agr lokusu tarafından kodlanır ve *S.aureus*'ta bir QS sistemi görevi görür. Bu çekirdek algılama mekanizması, çevresel uyarılara yanıt olarak popülasyon yoğunluğuna dayalı olarak gen ekspresyonunu modüle eder. *S.aureus*'un agr lokusu iki farklı transkripsiyonel üniteden oluşur; agrBDCA ve düzenleyici RNA efektörü, sırasıyla P2 ve P3 promoterleri tarafından kontrol edilen RNAIII'dür. P2 operonu, P2 ve P3 promotörlerinden transkripsiyonun aktivasyonu için gerekli olan agrBDCA adlı dört genden oluşurken, 517-nükleotitli bir transkript olan P3 transkript RNAIII'ün kendisi agr tepkisi için birincil efektördür. agrD, olgun QS otoindükleyici peptid (AIP) için modifiye edilen ve AgrB proteinini

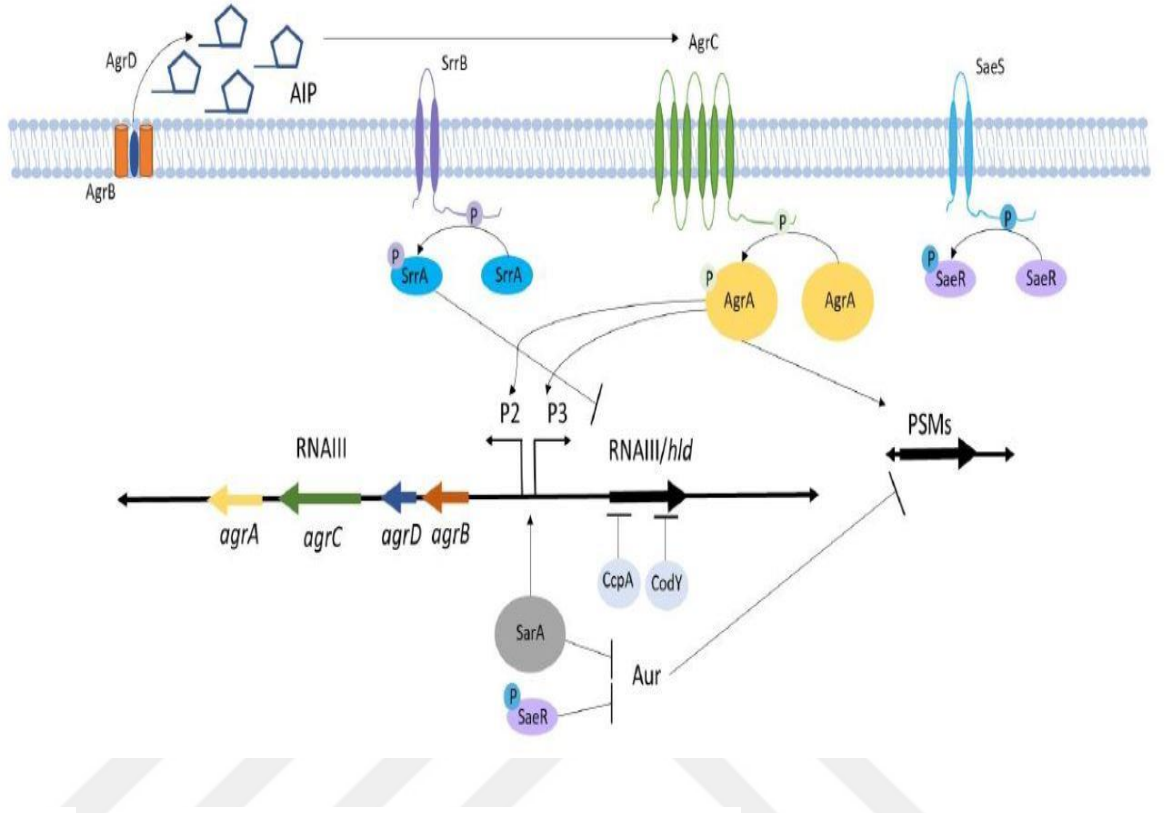
tarafından hücre dışı boşluğa salgılanan ön peptid sinyali AgrD'yi kodlar. agrC ve agrA sırasıyla histidin kinazı ve onun aynı kökenli yanıt düzenleyicisini kodlar ve TCS'yi oluşturur. Agr operonu, *S.aureus* suşlarını dört varyant veya agr tipine göre sınıflandırılabilir. Bu dört varyant (agr türleri), değişen uzunluklarda farklı motiflerle karakterize edilen farklı AIP'ler üretir. Bir grubun AIP'sinin diğer gruplardaki agr ifadesini çapraz inhibe ettiği tespit edilmiştir. Agr varyantlarının farklılığı hakkında çok şey bilinmesine rağmen, çoğu çalışma konakçı eğilimine (örneğin, insanlar, sığırlar vb.) odaklanmıştır veya coğrafi konum bağlıdır (Luo vd., 2023).

AgrA ve AgrC, transmembran proteini AgrC'nin histidin sensör kinaz olduğu ve sitoplazmik AgrA proteininin yanıt düzenleyici olduğu iki bileşenli bir sistem oluşturur. Yayılabilir agr QS sinyali, ribozomal olarak sentezlenen AgrD propeptidinin AgrB'ye bağımlı proteolitik işlenmesi yoluyla türetilen bir otoindükleyici peptiddir (AIP). AIP'ler, fosfatı AgrA üzerindeki korunmuş bir Asp'ye aktaran AgrC'nin trans-oto-fosforilasyonunu indükler (Williams vd., 2023).

Bu, agrBCDA'yı yukarı regüle eden agrP2 promotörüne bağlanarak, AIP üretimini otomatik olarak indükleyen ve hedef gen ekspresyonunu doğrudan AgrA veya AgrA'ya bağımlı agrP3 promotörü ve transkripsiyon sonrası düzenleyici RNAIII aracılığıyla yönlendiren bir pozitif geri besleme döngüsü sağlar. AgrB, agrD ve agrC genlerinde bulunan hiper değişken bir bölgeye göre *S.aureus* agr lokusunun dört alellik varyantı (I – IV) vardır (Şekil 2b, c). Bunlar, dört *S.aureus* AIP'sindeki amino asit sekansı varyasyonlarını yansıtır ve aynı kökenli reseptörlerin aktivatörleri, ancak diğer AgrC varyantlarının rekabetçi inhibitörleri olarak AgrC'ye yönelik spesifikliklerini açıklar (Choudhary vd., 2018; Williams vd., 2023).

S.aureus aksesuar düzenleyici (SarA) proteini hem ekzoproteini hem de hücre yüzeyi protein ekspresyonunu akıcı hale getirir. SarA lokusu sarA, sarC ve sarB olarak adlandırılan üç örtüşen transkript içerir ve bunların her biri SarA'yı kodlayan ortak bir 3' uca sahiptir. SarA, hücre yüzeyi proteinlerini kodlayan genlerin (spa, protein A'yı kodlayan), ekzoproteinleri kodlayan genlerin (hla, alfa-hemolisini kodlayan) ve agr'nin promotör bölgeleri içindeki Sar kutuları olarak adlandırılan korunmuş bölgelere bağlanır. Agr promotör elemanlarına bağlanan SarA, hem RNAII hem de RNAIII transkripsiyonunu artırır ve dolayısıyla virülans faktörü düzenlemesine dolaylı olarak katkıda bulunur. SarA'nın ayrıca agr mutant arka planda spa ve hla ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir; bu da SarA'nın belirli

virölans faktörlerinin düzenlenmesini agr'dan bağımsız bir şekilde doğrudan kontrol ettiğini gösterir (Butrico & Cassat, 2020; Dunman vd., 2001; Wright vd., 2005).



Şekil 2.7. Quorum sensing gen regülatör mekanizması (Butrico & Cassat, 2020).

Accessory gene regulator (Agr), kendine özgü düzenleme ve diğer iki bileşen sistemleriyle karşılıklı etkileşim yoluyla sinyal verir. Quorum aracılı Agr sinyalleme, düzenleyici proteinler stafilocok aksesuar düzenleyici A (SarA), karbon katabolit kontrol proteinü A (CcpA) ve CodY ile iki bileşen sistemleri, stafilocok solunum tepki AB (SrrAB) ve *S. aureus* ekzoprotein ifadesi yanıt düzenleyicisi (SaeRS) tarafından etkilenir. Bu sistemler, oksijene (SrrAB) ve besin maddelerinin bulunurluğuna (SaeRS) yanıt verir, ayrıca konak bağışıklık stresinden etkilenir. AgrB, AgrD ön öncüsünden ekstraselüler AIP'nin oluşumunu kolaylaştırır. Agr sinyalleşmesi, AgrC fosfotransferaz aktivitesini etkinleştiren eşik konsantrasyonda AIP aracılı sinyal iletimi yoluyla gerçekleşir ve AgrA'yı fosforile eder. AgrA, *S.aureus* akut osteomyelitinde önemli olan virölans faktörlerini üreten RNAIII'ün P3 üzerinden transkripsiyonunu etkinleştirir. AgrA'nın P2'ye bağlanması, agrA, agrC, agrD ve agrB mRNA'sını içeren RNAII'nin transkripsiyonuna yol açar. Fosforile AgrA ayrıca fenol-çözünür modulinlerin (PSM'ler) transkripsiyonunu doğrudan artırır. SarA ve aktive edilmiş

SaeR, Aur proteazının inhibisyonu yoluyla PSM üretimini dolaylı olarak artırır (Butrico & Cassat, 2020).

2.10. Klinik Bulgular

S.aureus'un neden olduğu enfeksiyonlar 4 başlık altında toplanır:

1. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları
2. Endokardit - Septisemi
3. Organ enfeksiyonları
4. Toksin ile olan hastalıkları (Pervanlar, 2020)

2.10.1. Yumuşak doku ve cilt enfeksiyonları

Deri ve deri altı tabakaların enfeksiyonları, anatomik olarak dört ana grupta sınıflandırılabilir.

- i. Epidermis enfeksiyonları: impetigo örnek verilebilir. Ortak havlu kullanımı ve direkt temas ile bulaşır.
- ii. Yüzeysel dermis enfeksiyonları: follikülitler örnek verilebilir. Kıl foliküllerininin tıkanması ile oluşur.
- iii. Derin dermis enfeksiyonları, furonkül, karbonkül ve süpüratif hidradenit gibi örnekleri içerir. Follikülit, daha derin bir inflamatuvar nodüle dönüşerek ortaya çıkar.
- iv. Cilt altı hücrel dokuların enfeksiyonları, erizipel, sellülit, fasiit ve pyomiyozit gibi örnekleri içerir. Deride sınırları belirgin eritemli alan olarak görülen erizipel mikst etkenidir. Yüksek ateşle birlikte sepsis bulgularının gözlenebilir.

Mastit: Genelde doğumdan sonraki 2., 3. haftalarda emziren annelerde %1-3 oranında stafilokokal meme enfeksiyonu gelişimidir. (Karbuş, 2013; Pervanlar, 2020).

2.10.2. Bakteriyemi ve endokardit

Stafilokokların neden olduğu bakteriyemiler hastane kökenli sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyon ve toplum kökenli olarak iki grupta incelenir. Hastaneye yatıştan 48-72 saat sonra ya da hastaneden çıkıştan sonraki ilk 10 gün içinde gelişen bakteriyemiler hastane kökenli,

hastaneye yatışta var olan ya da ilk 24-72 saat içerisinde gelişen bakteriyemiler ise toplum kaynaklı bakteriyemidir.

Uzayan hastanede yatışlarında *S.aureus*'a bağlı bakteriyemi olasılığı artarken ve hastanede gelişen febril- septik epizodun tanısında nozokomiyal *S.aureus* mutlaka düşünülmelidir. Hastane kökenli MRSA bakteriyemilerinde mortalite oranı %80 civarındadır. Ateş ve hipotansiyon varlığında kanda tespit edilebilen mikroorganizmalardandır (Karbuz, 2012, 2013; Pervanlar, 2020).

S.aureus bakteriyemisi, özellikle infektif endokardit gibi çok ciddi komplikasyonlara neden olması açısından önemlidir. Genellikle önceden zarar görmüş doğal kalp kapakları endokarditine yol açabilmektedir. Yüksek hızlı kan akımına neden olan kardiyak lezyonlu çocuklar ve protez kalp kapaklarına sahip bireyler, *S.aureus* endokarditi için yüksek risk altındadırlar (Karbuz, 2013; Pervanlar, 2020).

2.10.3. Organ enfeksiyonları

Pnömoni ve ampiyem

Genellikle aspirasyon veya başka bir odaktan hematogen yayılım (belirli bir odaktan başlayıp kanyolu ile gelerek üriner sisteme yerleşmesi) ile *S.aureus*'un akciğerlere ulaşmasıyla pnömoni ve ampiyem meydana gelebilmektedir. Viral üst solunum yolu enfeksiyonlarını takiben görülen *S.aureus* pnömonilerinin %42'si bir yaştan altındaki bireylerde ortaya çıkar. Yeni nesil antibiyotikler ve resüsitasyon tekniklerindeki ilerlemelere rağmen, çocukluk çağı bakteriyel pnömonileri arasında en ciddi pnömoni grubudur. Bu yaş grubundaki mortalite oranı %10-30'dur. Daha çok ani başlayan yüksek ateş ve solunum zorluğunu izleyen genel durum bozukluğu ve toksik belirtilerin eşlik ettiği klinik bir tablodur. *S.aureus* izolasyonu, hastane kökenli pnömonilerde toplum kaynaklı pnömonilere göre daha sık görülmektedir. Toplum kökenli *S.aureus* pnömonisinin Influenza epidemilerinden sonra insidansı artmaktadır ve genellikle 75 yaşından büyük bakımevlerinde kalan hastalarda, diyabet ve alkolizm gibi predispozan faktörlere sahip olan bireylerde daha sık izlenmektedir. Hastane kökenli *S.aureus* pnömonisi genellikle entübasyon veya aspirasyon ile ilişkilidir, ancak sağ kalp endokarditi veya bakteriyemi yoluyla hematogen yayılım ile de meydana gelebilir. Akciğer grafisinde lokal konsolidasyon yama tarzında olan infiltrasyonlar, apse formasyonu, ampiyem, bronkoplevral fistüle bağlı plevral hava-sıvı seviyesi gibi çeşitli görüntüler oluşturabilir. *S.aureus* pnömonisi, çok hızlı bir şekilde doku destrüksiyonu ve kavitasyona ilerleyen nekrotizan bir enfeksiyondur. Komplike olmayan vakalar 10-14 günlük

süre ile tedavi edilirken, endokardit varlığında tedavi süresi en az 4 hafta olmalıdır (Murray PR, Rosenthal KS, 2010).

Osteomyelit

Akut hematojen osteomyelitin en sık nedenidir ve hastaların %50 ila %70'inde etkindir. Genellikle uzun tübüler kemiklerin metafizleri etkilenir. Klinik olarak ani yüksek ateş ve etkilenen kemik bölgesinde ağrı ile karakterizedir. Vakaların yarısında kan kültürü pozitifdir. Hastalığın başlangıcından 2-3 hafta sonra tipik radyografik görüntü elde edilir. *S.aureus* osteomyeliti, hızlı tanı ve doğru tedavi ile oldukça iyi bir iyileşme şansına sahiptir. Tedavi en az 4-6 hafta sürdürülür (Karbuz, 2013; Sudağidan vd., 2008).

Septik artrit ve septik bursit

Septik artrit, çocuklar ve erişkinlerin nongonokokal artritlerinde en sık izole edilen patojendir ve genellikle etken *S.aureus*'tur. Bu enfeksiyon, lokal travma sonucu, hematojen yolla veya iyatrojenik olarak gelişebilir. Eklemde ağrı, ısı artışı ve şişlik tipiktir. Tedavi osteomyelitlerde olduğu gibi uygulanır ve tedaviye olan yanıt, altta yatan hastalıkla ilişkilidir.

Septik bursit, en sık diz ve dirsek eklemlerini etkiler. Eklem hareket kısıtlılığı genellikle gözlenmez. Tedavide antistafilokokal antibiyotikler 2-3 hafta süreyle kullanılmalıdır (Pervanlar, 2020; Sancak, 2012).

2.10.4. *S.aureus*'un toksinleri ile yaptığı hastalıklar

Stafilokokal haşlanmış deri sendromu (SHDS) eksfoliatin

İlk olarak 1878 yılında 297 bebekten elde edilen verilere dayanarak Ritter Von Rittershain tarafından tanımlandığı için Ritter hastalığı olarak da bilinir. *S.aureus*'un neden olduğu bu hastalık, mukoza veya ciltte ET-A ve ET-B adlı toksinlerin üretilmesi sonucunda ortaya çıkar. Klinik olarak lokalize ve jeneralize olmak üzere iki farklı formda görülebilir. Ciltte yaygın bir eritemin ardından hızlı bir şekilde kabarcık ve vezikül oluşumu gözlenir. Jeneralize formda görülen kabarcıkların içerisinde bakteri ve lökosit bulunmaz. Cilt çok hassas ve kırılgan olduğundan, yumuşak dokunmalarda bile kolayca soyulmalara neden olabilir (Nikolsky belirtisi). Toksinin yaygın hematojen yayılımı ateşe neden olur. Bu hastalık genellikle iki yaş altındaki çocuklar ve yenidoğanları etkiler (Hassanin, 2022).

Lokalize form, büllöz impetigo olarak da adlandırılır ve genellikle etkenin kolonize olduğu cilt etrafında büllerin görülmesiyle karakterizedir. Bu durum daha büyük çocuklarda da gözlenebilir. Hastalarda, toksine karşı koruyucu antikorların varlığı nedeniyle toksinin

bakterinin kolonize olduğu bölgenin dışında etkili olmadığı kabul edilir. Lokalize formda kabarcıkların içinde bakteri ve lökosit görülür. Toksin, stratum granulosum adı verilen epidermis tabasının içinde bulunan GM4 adı verilen hücre membran gangliyositlerini etkiler. GM4 (hücre membran gangliyositleri), sadece küçük çocuklar ve özel deri hastalıkları olan yetişkinlerde görülen bir bileşendir. Bu durum, hastalığın küçük yaş gruplarında daha sık görülmesini açıklar. Mukoza kesinlikle etkilenmez. Mukozanın etkilenmemesi, toksik epidermal nekrolizden ayırt edilmesini sağlar. Bakteriyemi eşlik edebilir ancak nadir görülür. Yine süperenfeksiyonlar gözlenebilir. Tedavisi antibiyotik tedavisi, antiseptik yara bakımı ve sıvı elektrolit desteği şeklindedir. İyi bir müdahale ile mortalite %5'ten daha azdır (Hassanin, 2022; Pervanlar, 2020).



Superficial blistering over the axillae, face and chest due to staphylococcal scalded skin syndrome



Superficial erosions in the napkin area and widespread erythema in staphylococcal scalded skin syndrome



Erythema and wrinkling of the necrotic epidermis in staphylococcal scalded skin syndrome



A post-operative Staphylococcal wound infection was followed by this eruption - widespread partial thickness epidermal necrosis with normal mucous membranes due to staphylococcal scalded skin syndrome



Staphylococcal scalded skin syndrome



Erythema, scaling and crusting in an infant with staphylococcal scalded skin syndrome

Şekil 2.8. Stafilokokal haşlanmış deri sendromu (SHDS) (Hassanin, 2022).

Toksik şok sendromu

Yüksek ateş, bol sulu ishal, eritroderma, hipotansiyon, mental konfüzyon ve renal yetmezliğin başlıca bulgularının oluşturduğu ciddi bir tablo mevcuttur. 1980 yılında,

menstruasyon dönemindeki kadınlarda tampon kullanımı ile ilişkili Toksik Şok Sendromu (TŞS) tanımlanmıştır. Lokal olarak salgılanan TSST-1, mukozaları geçer ve tüm vücuda yayılır. Yüksek emme özelliği olan tamponlarla doğrudan ilişkilendirilen menstrüel TŞS, menstrüasyonun bitiminden sonraki ilk iki gün içinde başlar. Hastalığın %3'lük bir mortalitesi vardır (Hu vd., 2021).

Ateş, halsizlik, kas ağrıları, döküntü, vajinal hiperemi, boğaz ağrısı, bulantı ve ishali takiben yüksek ateş, hipotansiyonla birlikte kapiller yetmezlik, yaygın ödem, eritemli makülopapüler bol sulu ishal, konfüzyon ve renal yetmezlikle karakterizedir. Kan kültürlerinde bakteri tespit edilemez. Olguların %98'inde stafilokoklar vajinadan izole edilebilmektedir. Hastalık, bir süperantijen olan TSST-1'in immün sistemi hiperaktif etmesiyle meydana gelir (Hu vd., 2021), (Pinchuk vd., 2010).

Tampon kullanımıyla ilişkili olmayan, menstrüel olmayan Toksik Şok Sendromu (TŞS), TSST-1 dışında enterotoksin B ve C ile de oluşabilir. Cerrahi yaralar, akciğerler, mukoza veya deri, diyaliz kateterleri gibi vücudun çeşitli bölgelerinde kolonize olabilen mikroorganizmanın, TSST-1'in makrofajların lezyon bölgesine ulaşmalarını engelleme yeteneği sayesinde, yara bölgelerinde inflamasyon görülmeyebilir (Hu vd., 2021).

Menstrüasyonla ilgili TŞS'de antikorlar belirlenemese de, tüm popülasyonda TSST-1 antikorları prevalansı %90'dan fazladır. Ayrıca, klinik örneklerden ve taşıyıcılardan izole edilen *S.aureus* suşlarının %20'sinin TSST-1 üretebildiği gösterilmiştir (Seike vd., 2022).

Tedavi sırasında öncelik, şok ve sistemlere yönelik komplikasyonlara verilmelidir. Eğer varsa tampon uzaklaştırılmalı ve derhal uygun antibiyotik tedavisine başlanmalıdır. Bakteriyemi yokluğunda tedavi süresi 10-15 gün olmalıdır. β -laktam antibiyotiklerin TSST-1 üretimini artırdığı iddialarına alternatif olarak, makrolidler tedavide tercih edilebilir. Ağır vakalarda tedaviye intravenöz immunglobulin (IVIG) eklenebilir (Hu vd., 2021; Parks vd., 2018).

Besin zehirlenmeleri

Yiyecek hazırlayanların ellerinde kolonize olmuş *S.aureus* suşlarının yiyeceklerle bulaşması ve bu yiyeceklerin üzerine bulaşan ısıya dirençli enterotoksinlerin tüketilmesiyle salgınlar meydana gelir. Bu salgınlar genellikle bol karbonhidratlı ve sütü tatlılar, patates salataları, tavuk eti ve dondurma gibi yiyeceklerle ilişkilidir. Semptomlar, besin alımından 2-6 saat sonra bulantı, kusma, karın ağrısı ve sulu ishal ile başlar. Tüm semptomlar genellikle

sekiz saat içinde düzelir. Tedavide esas olarak sıvı-elektrolit kaybının yerine konması önemlidir (Dinges vd., 2000; Gilot vd., 2002).

2.11. 16S rRNA

Bakterilerde ve arkelerde, ribozomun RNA bileşenlerini kodlayan gen, geleneksel olarak tek bir operonda 16S-23S-5S sırasına göre düzenlenir. Bakterilerde bulunan 16S rRNA (ribozomal RNA) geni birçok moleküler uygulamada popüler bir hedef olarak seçilmektedir. 16S rRNA gen dizisi ilk olarak 1985 'ten günümüze filogenetik analiz için kullanılmaktadır. Küçük alt birim 16S rRNA gen analizi, prokaryotların tanımlanması ve sınıflandırılmasında kullanılır. Prokaryotik ribozomlar 30S ve 50S'lik alt birimlere sahip olup, 16S rRNA geni 30 S'lik ribozom alt birimlerinde yer alır. Bu genler, mRNA'dan protein translasyonunda görev aldığı için organizmalar arasında son derece korunmaktadırlar. 16S rRNA, 23S gibi diğer ribozomal alt birimlerle etkileşime girmekte ve 50S ve 30S ribozomal alt birimlerinin bağlanmasını kolaylaştırır. 16S rRNA'nın 3 üssü ucu S1 VE S21 proteini ile etkileşime girerek protein sentezinin başlamasına yardımcı olmaktadır. 16S rRNA, mRNA'nın AUG kodunda bağlanam kapasitesine sahip olan "anti-Shine Dalgarno" dizileri olarak bilinen bazı özel dizilere sahiptir (Janda & Abbott, 2007; Yang vd., 2016)(Janda & Abbott, 2007). rRNA operonu, 30S pre-rRNA adı verilen tek bir RNA öncüsüne kopyalanır ve bu, bir dizi RNaz tarafından ayrılır ve işlenir. Tek bir operon içindeki rRNA genlerinin bu düzenlemesinin, değişen büyüme koşullarına hızlı yanıtlara izin verdiği düşünülmektedir; tek bir promoter altında rRNA üretimi, üç temel bileşenin tümü arasındaki stokiyometrinin tutarlı düzenlenmesine ve korunmasına izin verir. Aslında, rRNA üretimi, ribozom sentezinin hız sınırlayıcı adımıdır ve hızlı büyüyen bakteriler ve arkeler, birden fazla rRNA operonunu kodlayarak ribozom sentezini hızlandırır. Bazı bakteriler ve arkeler, 16S'nin bulunduğu "bağılantısız" rRNA genlerine sahiptir ve 23S rRNA genleri geniş genomik alanla ayrılmıştır. Bu bağılantısız rRNA gen düzenlemesi ilk olarak termofilik bakteri *Thermus thermophilus*'ta keşfedilmiştir (Brewer vd., 2020).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin Toplanması

Çalışmaya, Temmuz 2023 - Şubat 2024 tarihleri arasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na kabul edilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 100 adet *S.aureus* suşu (periton sıvısı, plevra sıvısı, drenaj materyali, abse materyali, derin doku biyopsisi, kan, BOS, idrar, vajinal sıvı, eklem sıvısı vb.) dahil edilmiştir. İzole edilen suşların örneklerinin yaş ve cinsiyet bilgileri kaydedilmiştir. Çalışma izni, Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 22 Mayıs 2023 tarihli, İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Etik Kurulu; 2023/4342 sayılı kararı ile verilmiştir. Örnekler laboratuvara ulaştıktan hemen sonra değerlendirmeye alınmıştır. Hasta bilgileri eksik olan numuneler çalışma dışı bırakılmıştır.

3.2. Kültür

Kültürlerin ekilmesi ve değerlendirilmesi, NEÜTF Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Alınan kültürler %5 koyun kanlı agar plaklarına ekildi. Agar plakları, $35\pm1^{\circ}\text{C}$, 18 ± 2 saat boyunca normal atmosfer şartlarında inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında incelenen agar plaklarında stafilokoklarla uyumlu koloni morfolojisine sahip ve yapılan Gram boyamasında gram pozitif kok morfolojisinde görülen, katalaz pozitif olan suşlar çalışmaya alındı. Matriks aracılı lazer dezorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrofotometrisi (MALDI-TOF MS) teknolojisini kullanan VITEK® 2 MALDI-TOF MS (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) ile tanımlama yapılmıştır. Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) 14.0 versiyon kriterleri kullanılarak zon çapları belirlendi ve MRSA ve MSSA olanlar kaydedildi. Tüm bakteriler, %15 gliserin içeren besiyeri içerisinde stok besiyeri olarak -80°C 'de stoklandı.

3.3. EUCAST İle *S.aureus* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıklarının Saptanması

Antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi için EUCAST 14.0 versiyon kriterleri kriterleri doğrultusunda disk difüzyon testi uygulandı. *S.aureus* izolatlarının 0,5 McFarland bulanıklık standardına uygun olarak ($1,5\times10^8$ bakteri/mL) steril serum fizyolojik içinde çözeltileri hazırlanarak, %4 NaCl içeren Müeller-Hinton agar (BD, Amerika) üzerine üç yönde ekimleri yapıldı. Metisilin direncinin belirlenmesi için 1 µg oksasilin diski (Liofilchem, İtalya) ile 30 µg sefoksitin diski (Liofilchem, İtalya) kullanıldı. Normal atmosfer, $35\pm1^{\circ}\text{C}$, 18 ± 2 saatlik inkübasyondan sonra oksasilin ve sefoksitin inhibisyon zon çapları, EUCAST

kriterlerine göre değerlendirildi; sırasıyla ≤ 12 ve/veya ≤ 22 mm olanlar MSSA olarak kabul edildi.

3.4. Bakteriden DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için Roche ® (Amerika Birleşik Devletleri) kit kullanılmıştır.

Gerekli malzemeler: İzopropanol

Prosedür: Üretici firmanın önerileri doğrultusunda aşağıdaki prosedürler uygulanmıştır.

1. Örnekler PBS ile resüspanse edilir. Bir ependorfa 200 μ l PBS ile response edilen örnekten alınarak, 200 μ l binding buffer ve 40 μ l Proteinaz K eklennmiştir. +70 °C DE 10 dk bekletilmiştir.
2. Üzerine 100 μ l İzopropanol eklenmiş ve pipetaj yapılmıştır.
3. Bu karışım kit içerisinde verilen filtreli tüplere konularak 1 dk 8000 rpm de santrifüj yapılmıştır. Alttaki tüp atılarak filtre yeni toplama tüpüne aktarılmıştır.
4. Filtre tüpün üzerine 500 μ l inhibitör removal buffer (siyah kapaklı tüp) eklenerek alt üst yapılarak karıştırılmıştır. 1 dk 8000 rpm de santrifüj edilerek alttaki tüp atılır ve filtre yeni toplama tüpüne aktarılmıştır.
5. Filtreli tüpün üzerine 500 μ l wash buffer (mavi kapaklı tüp) eklenerek alt üst yapılarak karıştırılmıştır. 1 dk 8000 rpm de santrifüj edilerek alttaki tüp atılmıştır ve filtre yeni toplama tüpüne aktarılmıştır.
6. 5. adım tekrarlanmıştır. Daha sonra alttaki tüpün içerisindeki sıvı atılır ve tekrar filtreli tüpe alınmıştır. Maximum hızda 13000 rpm de tekrar santrifüj yapılmıştır.
7. Filtreli tüp, steril 1.5 ml ependorf tüpün içerisine alınmıştır. Üzerine 200 μ l (+70°C de daha önceden ısıtılmış) elution buffer (şeffaf kapaklı tüp) eklenmiştir. Bir dk 8000 rpm de santrifüj edilmiştir.
8. Hemen çalışılacaksa 2-8 °C de, uzun süreli ise -20°C de saklanmıştır.

3.5. Bakteriden RNA İzolasyonu

1. 500 µl süspansiyon halinde bulunan bakteri hücrelerine, kit içerisinde (BIOBASİC,USA) verilen 1 ml miRNA extractor eklenerek oda sıcaklığında 5-10 dakika inkübasyona bırakılmıştır.
2. 0.2 ml kloroform eklenerek 30 saniye vorteks yapıldı ve 4 °C'de 10 dakika boyunca 12.000 x g'de santrifüj edilmiştir.
3. Santrifüjleme sonrası, numune 3 faza ayrıldı; en üstte bulunan renksiz ve sulu faz kısım RNA içermektedir.
4. Süpernatant (yaklaşık 540 µl), temiz bir 1,5 ml RNaz içermeyen santrifüj tüpüne aktarılmıştır.
5. 1,5 hacim (genellikle 810 µl) %100 etanol eklenerek birkaç kez yukarı ve aşağı pipetleyerek iyice karıştırılmıştır.
6. 750 µl çözelti, kit içeriğinde verilen spin column TR'ye aktarıldı ve 12.000 x g'de 2 dakika santrifüj yapılarak akış atılmıştır.
7. Kalan çözelti tekrar spin column TR'ye aktarılarak 12.000 x g'de 30 saniye santrifüj yapılarak akış atılmıştır.
8. Spin Column TR'ye 0,5 ml RPE Solüsyonu eklenerek, 12.000 x g'de 30 saniye santrifüj edildi ve akış atılmıştır.
9. 8.adım tekrarlanmıştır.
10. 30 saniye boyunca 12.000 x g'de tekrar santrifüj yapılmıştır, bu adım etanolün tamamen uzaklaştırılması için önemlidir.

Kolon, yeni bir 1,5 ml'lik santrifüj tüpüne yerleştirilerek, 30-50 µl RNaz içermeyen su eklenerek 2 dakika bekletilmiştir. Daha sonra, 30 saniye boyunca 12.000 x g'de santrifüj yapılarak ayrıştırılan RNA çözeltisi -80°C'de saklanmıştır.

3.6. cDNA Eldesi

Ölçümleri yapılan RNA'ların gerekli hesaplamalar yapılarak aşağıda verilen (abm® Hot cDNA Synthesis Kit, Canada) ait tablo uygulanarak tüm örnekler için Tablo 3.1'deki reaksiyon uygulandı.

Tablo 3.1. cDNA kullanılan bileşenler ve miktarları.

Component	Volume
5x RT Buffer	4 μ l
dNTP	1 μ l
Primers	1 μ l
Total RNA or poly (A) 4 mRNA	Variable (1ng – 2 μ g7rxn)
OneScript® Plus RTase	1 μ l
Nuclease-free H ₂ O	up to 20 μ l

50-55°C'de 15 dakika inkübe ederek cDNA sentezini gerçekleştirin. 85°C'de 5 dakika ısıtarak reaksiyonu durdurun ve buz üzerinde soğutun.

3.7. Real Time PCR

Aşağıda tabloda verilen primerler çalışıldı. (LightCycler® 96-Roche)

Tablo 3.2. PCR çalışmasında kullanılan primerler ve primer dizileri.

Gen	Primer Dizisi
16srRNA	F: GTAGGTGGCAAGCGTTATCC R: CGCACATCAGCGTCAG
Agr(A)- <i>Staphylococcus aureus</i>	F: ACAAAGTTGCAGCGATGGAT R: TGGGCAATGAGTCTGTGAGA
Agr(C)- <i>Staphylococcus aureus</i>	F: TTTACGCGCCCAAGAAATGA R: GCAACGCGAATGATAGGGTC
Mec a- <i>Staphylococcus aureus</i>	F: GCTATCCACCCTCAAACAGGT R: AACGTTGTAACCACCCCAAGA
Mec c - <i>Staphylococcus aureus</i>	F: GCCCGCATTGCATTAGCATT R: CGCCTTGGCCATATCCTGAA
LUKSPV1-LUKSPV2 <i>Staphylococcus aureus</i>	F: GATGGCGCTGAGGTAGTCAA R: GGAAAGGCCACCTCATTGCT

BlasTaq™ 2X qPCR MasterMix içerisinde verilen koşullar sağlanarak real time PCR reaksiyon protokolü oluşturuldu.

Tablo 3.3. PCR reaksiyon protokolü.

BlasTaq™ 2X qPCR MasterMix	10 ul
F-primer	0,6 ul
R-primer	0,6 ul
ddH ₂ O	3,8 ul
cDNA	5 ul
Toplam Hacim	20 ul
Denaturasyon	95°C de 180 sn
Amplifikasyon Bu işlem, 40 kez tekrarlanır. (40 döngü, Ramp-rate 1,6°C/sn, saniyedeki ısı değişimi.)	95°C de 10 sn. X°C de 30 sn 72 °C de 5 sn
Melting Curve	95°C de 10 sn. 65 °C de 60 sn. 97 °C de continue (Acquisitions 3 per/°C)
Cooling	37 °C de 30 sn

X: Çalışılan primere ait bağlanma sıcaklığı.

1X lik TAE ve 0,9 g Agarose ile % 1,5'luk jel hazırlanmış. PCR ürünleri kuyucukara yüklenerak 60V'da 40 dk yürütülmüştür. Ardından UV Translüminatör ile görünüteleme yapılmıştır. PCR işlemi için kullanılan primerler Tablo 3.2.'te gösterilmiştir.

DNA izolasyonundan PCR aşamasında kullanılan malzemeler ve kimyasallar;

Kullanılan kimyasallar:

1. SanPrep Column microRNA Miniprep Kit- BioBasic (SK8811)
- 2- SanPrep Column microRNA Miniprep Kit içeriği;
 - mirnaextractor
 - Klorofom
 - PPE solüsyon
 - PNaz-free Water
- 3- Etanol
- 4- Applied biological Materials (abm) Cdna izolasyon kiti (G236)
- 5- Applied biological Materials (abm) Blas Taq™ 2X qPCR MaSsterMix (G891)

B- Laboratuvar Araçları ve Kullanılan Cihazlar

- 1- Real Time PCR (LightCycler ® 96)
- 2- KIRGEN- 0.1 ml Qpcr 8-Sstrip with flath caps, CLEAR (KG2541)
- 3- Mikrosantrifüj (Hettich Mikro 200)
- 4- Vorteks karıştırıcı (BIOSAN-FVL- 2400N)
- 5- (DNAse & RNAse free) ddH₂ O
- 6- 96-100% Etanol
- 7- Mikrosantrifüj tüpleri (1.5 ml, 2.0 ml)
- 8- Mikropipet seti ve steril filtreli mikropipet uçları
- 9- spin kolonlar
- 10- Toplama tüpleri
- 11- Elüsyon tüplerli
- 12-NUVE-LN 120- Laminer Hava Kabini

3.8. Kongo Kırmızısı Agar Yöntemi

İzolatların biyofilm yapma yetenekleri fenotipik olarak değerlendirilmek üzere Freeman ve ekibinin tanımladığı yöntem kullanıldı (Freeman vd., 1989). Bu kapsamda, bir litrelik besiyerine 50 g sakkaroz (Liofilchem, İtalya), 37 g brain heart nfusion agar (Neogen, Türkiye) ve 0,8 g kongo kırmızısı (Merck, Almanya) eklenerek besiyeri hazırlandı. Çalışmada yer alan izolatlar, pozitif ve negatif kontrol suşlarıyla birlikte KKA besiyerine yayma plak tekniği kullanılarak ekildi. Ardından, 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edildikten sonra, koloni morfolojisine göre değerlendirilen petriler, oda sıcaklığına alınarak 24 saat sonra tekrar gözden geçirildi. Kuru, opak siyah ve koyu kırmızı-siyah renkteki koloniler biyofilm pozitif olarak kabul edilirken, pembe-kırmızı renkteki koloniler biyofilm negatif olarak değerlendirildi (Gündoğ vd., 2023).

3.9. İstatistiksel Analiz

Kategorik değişkenler için frekans ve yüzde tanımlayıcı istatistikleri verilmiştir. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki kare ve Fisher exact testleri kullanılmıştır. Analizler R 4.3.2 (R Core Team,2024) programı ile yapılmıştır. p<0.05 anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Deneyde kullanılan örnekler klinik kan, yara, idrar, dreanaj, balgam, boğaz kültürü, burun sürüntüsü, BOS, apse, vajinal akıntı örneklerinden alınan, MALDİ-TOF MS cihazı ile *S.aureus* olarak tanımlanan ve 57 tanesi MRSA 43 tanesi ise MSSA olacak şekilde 100 adet örnek çalışılmıştır. Çalışmamızda pozitif kontrol grubu olarak ATCCBAA1026 (metisiline dirençli) standart suşu, negatif kontrol grubu olarak ATCC 29213 (metisiline duyarlı) suşu kullanılmıştır. Tüm izolatların yaş, cinsiyet ve numune türüne göre sayı ve yüzdeleri Tablo 4.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Numune ve katılımcı yaş / cinsiyet dağılımı.

	Kadın		Erkek		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Kan	11	11	7	7	18	18
Drenaj	5	5	8	8	13	13
İdrar	3	3	10	10	13	13
Yara	10	10	22	22	32	32
Balgam	3	3	9	9	12	12
Boğaz Kültürü	1	1	1	1	2	2
Apse	2	2	3	3	5	5
BOS	1	1	0	0	1	1
Burun	2	2	1	1	3	3
Vajinal Akıntı	1	1	0	0	1	1
TOPLAM	39	39	61	61	100	100

Suşlardan izole edilen 100 adet öreneğin örneklere göre oksasilin ve sefoksitine direnç göstermelerine göre dağılımları Tablo 4.2.'de gösterilmiştir gösterilmiştir. Bazı örnekler her iki antibiyotiğe de dirençlidir. Sefoksitin oksasiline göre daha dirençli olduğu örneklerin zon çapı değerlendirilmesinde yüzde olarak gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Örneklerin dağılımına göre sefoksitin ve oksasilin karşılaştırılarak metisilin direnç oranları.

<i>n</i>		FOX	OX
<i>KAN (n:18)</i>	n	7	8
	%	38.9	44.4
<i>DRENAJ (n:13)</i>	n	8	7
	%	61.5	53.8
<i>İDRAR (n:13)</i>	n	7	3
	%	53.8	23.1
<i>YARA (n:32)</i>	n	19	17
	%	59.4	53.1
<i>BALGAM (n:12)</i>	n	9	6
	%	75	50
<i>BOĞAZ KÜLTÜRÜ (n:2)</i>	n	1	1
	%	50	50
<i>APSE (n:5)</i>	n	4	4
	%	80	80
<i>BOS (n:1)</i>	n	1	1
	%	100	100
<i>BURUN (n:3)</i>	n	2	1
	%	66.6	33.3
<i>VAJİNAL AKINTI (n:1)</i>	n	0	0
	%	0	0
<i>Toplam (n:100)</i>	n	58	48
	%	58	48

QS (+) izolatların antibiyotik direnç düzeylerinin ise QS (-) izolatlara oksasilin ve sefoksitin için istatistiksel olarak anlamlı olduğu görölmüştür. Oksasiline dirençli izolatların QS'e pozitif yani biyofilm oluşturan hedef genlerin eksprese olma olasılıkları sefoksitine göre biraz daha yüksek bulunmuştur. İzolatların antibiyotik duyarlılıklarının QS ile ilişkisine dair veriler Tablo 4.3.'te gösterilmiştir.

Tablo 4.3. İzolatların metisilin duyarlılıkları ve QS ile ilişkisi.

	n: 100	QS (+) n:55	QS (-) n:45	P Değeri
FOX (R)	58	26 (47.3%)	32 (13.3%)	0.016
FOX (S)	42	29 (52.8%)	13 (28.9%)	
OX (R)	51	21 (38.18%)	30 (66.7%)	0.005
OX (S)	49	34 (61.81%)	15 (33.3%)	

Çalışmamızda kullanılan antibiyotik direnç geni olan *mecA* 100 adet hiç birisinde pozitif anlamlı bir sonuç bulunamamıştır. *mecA* geni varlığında sefoksitin ve oksasilin olan direnç anlamlı olarak bulunmuştur. *mecA* geninin antibiyotik duyarlılıkları arasındaki ilişki Tablo 4.4.'te gösterilmiştir.

Tablo 4.4. İzolatlardaki direnç genleri *mecA/C* ve antibiyotik duyarlılıklarının ilişkisi.

Direnç Geni	FOX (R) n:58	FOX (S) n:42	P Değeri
<i>mecA</i> (-)	0 (0%)	42 (100%)	0.016
<i>mecA</i> (+)	58 (100 %)	0 (0%)	
	OX (R) n:51	OX (S) n:49	
<i>mecA</i> (-)	2 (3.93%)	41 (83.67%)	<0.001
<i>mecA</i> (+)	49 (96.07%)	8 (16.33%)	

Çalışmamızda kullanılan 100 adet örneğin 13 adedi PVL (+) olarak bulunmuştur. PVL geninin *mecA* geni ve MRSA yönünde değerlendirilmesi örnek yüzdesi açısından anlamlı bulunmuştur. 13 adet PVL(+) örneğin 10 tanesinde *mecA* geni pozitif olduğu bulunmuştur. *mecA* geninin pozitif olduğu durumda PVL toksini geninin varlığı yüksek bulunmuştur. Tablo 4.5.'te gösterilmiştir.

Tablo 4.5. MRSA içindeki *mecA*'nın PVL pozitiflik açısından ilişkisi.

Direnç Genleri	PVL n:13
<i>mecA</i> (+)	10 (76.9%)
<i>mecA</i> (-)	3 (23.1%)

Örnek türlerinin ile toksin geni olan PVL, QS ile ilişkilendirilen *agrA/C* genleri ve bunların biyofilm oluşumunu fiziksel olarak gözlemlediğimiz kongo kırmızısı yönünden

değerlendirildiğinde idrar, drenaj, yara ve apse örneklerinde yüksek yüzde oranları ile anlamı olarak ilişkilendirilmiştir. Örnek türlerinin PVL pozitif yönünden değerlendirilmesinde yara ve apse örneklerinde yüksek yüzde oranları tespit edilmiştir. Tablo 4.6.'da gösterilmiştir.

Tablo 4.6. Örnek türlerine göre PVL agrA/C MRSA, kongo kırmızı ilişkisi.

<i>n</i>		PVL	agrC	agrA	MRSA	KONGO KIRMIZISI	agrA/C
KAN (n:18)	n	2	8	16	9	14 *pozitif	7
	%	11.1	44.44	88.88	50	%77.77	38.88
DRENAJ (n:13)	n	0	8	10	7	11*pozitif	8
	%	0	61.53	76.92	53.85	84.61	61.54
İDRAR (n:13)	n	0	9	12	8	13*pozitif	8
	%	0	69.23	92.30	61.54	%100	61.54
YARA (n:32)	n	7	19	30	19	23*pozitif	18
	%	21.87	59.38	93.75	59.37	71.88	56.25
BALGAM (n:12)	n	1	6	10	9	8 *pozitif	6
	%	8.33	50	83.33	75	66.66	50
BOĞAZ KÜLTÜRÜ (n:2)	n	0	1	2	1	1*pozitif	1
	%	0	50	100	50	%50	50
APSE (n:5)	n	3	3	5	4	3*pozitif	3
	%	60	60	100	80	%60	60
BOS (n:1)	n	0	0	0	1	1*pozitif	0
	%	0	0	0	100	%100	0
BURUN (n:3)	n	0	2	3	2	3*pozitif	2
	%	0	66.66	100	66.66	%100	66.66
VAJİNAL AKINTI (n:1)	n	0	1	1	0	1*pozitif	1
	%		100	100	0	%100	%100
Toplam (n:100)	n	13	57	89	60	78	54
	%	13.9	57,9	89,9	60.9	78.9	54.9

*POZİTİF ile gösterilenler güçlü pozitif olarak değerlendirilmiştir.

QS ile ilişkilendirilen agr A/C genlerinin MRSA, MSSA, PVL ve Kongo Kırmızı yönünden değerlendirilmesinde agrA/C'nin (+); PVL(+) olduğu durumda PVL(-) olduğu duruma göre sayısal olarak daha yüksektir ve Kongo kırmızısı besiyeri morfolojik görüntüsü ile pozitif yönde ilişkisi vardır. PVL(+) örneklerinin tamamı agrA(+) olduğu için anlamlıdır. AgrA(+) olanlarda RNA transkripsiyonunun gerçekleştiğini ve QS in devrede olduğunu Kongo kırmızısı pozitif vermesi ile de biyofilm oluşumunun pozitif olduğu Tablo 4.7.'te gösterilmiştir.

Tablo 4.7. AgrA/C genlerine göre MRSA, MSSA, PVL ve kongo kırmızısı ilişkisi.

QS genleri		MRSA n:57	MSSA n:43	PVL n:13	KONGO KIRMIZISI n:78
AgrA (+)	n	50	39	13	68 *pozitif
	%	87.7	90	100	87.1
AgrA (-)	n	7	4	0	10 *pozitif
	%	11.66	10	0	12.8

<i>AgrC (+)</i>	n	28	28	8	39 *pozitif
	%	46.66	70	61.54	50
<i>AgrC (-)</i>	n	32	12	5	39 *pozitif
	%	53.33	30	38.46	50
<i>AgrA/C (+)</i>	n	26	28	8	38 *pozitif
	%	43.33	70	61.54	50
<i>AgrA/C (-)</i>	n	5	4	5	9 *pozitif
	%	8.33	10	38.46	11.5

*POZİTİF ile gösterilenler güçlü pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Kongo kırmızısı besiyerine ekilen örnekler koloni morfolojisine göre; kuru opak siyah ve koyu kırmızı- siyah koloniler biyofilm pozitif olarak, pembe-kırmızı renkli koloniler ise biyofilm negatif olarak değerlendirildi. QS ile ilişkilendirilen *agr A/C* genlerinin varlığının Kongo kırmızısı pozitiflik yönünden değerlendirilmesinde *agr C (+)* ve *agr A/C (+)* iken p değeri anlamlı olarak Tablo 4.8’de gösterilmiştir. *Agr C (+)* sayısal verisi *agrA (+)*’e göre ne kadar az olsada *Agr C*’ye oto indikleyici (AIP) peptitlerin bağlanması *agrA*’nın fosforile olduğu unutulmamalıdır; Tablo 4.8 de gösterilmiştir.

Tablo 4.8. Kongo kırmızısı ile *agrA/C* genleri arasındaki ilişki.

	Kongo Kırmızısı Pozitif	Kongo Kırmızısı negatif	P değeri
<i>AgrA (+)</i>	68	21	0.273
<i>AgrA (-)</i>	10	1	
<i>AgrC (+)</i>	39	18	0.008
<i>AgrC (-)</i>	39	4	
<i>AgrA/C (+)</i>	38	17	0.054
<i>AgrA/C (-)</i>	9	0	

Antibiyotik direnç geni olan *mec A* ve toksin geni olan PVL pozitif izolatlarda QS (+) izolatlarda QS (-) olan izolatlara kıyasla daha yüksek oranda anlamlı olarak tespit edilmiştir. PVL için QS (+) istatistiksel olarak anlamlı çıkmasa da 13 adet PVL (+) nin 8 tanesi QS (+) pozitif bulunmuştur. İzolatlardaki antibiyotik direnç genlerinin QS ile ilişkisi Tablo 4.9.’da gösterilmiştir.

Tablo 4.9. İzolatlardaki antibiyotik direnç genlerinin QS ile ilişkisi.

	QS (+) n:55	QS (-) n:45	P Değeri
<i>mecA</i> (+)	26 (47.2%)	31 (68.9%)	0.03
<i>mecA</i> (-)	29 (52.72%)	14 (31.1%)	
<i>pvl</i> (+)	8 (14.5%)	5 (11.1%)	0.611
<i>pvl</i> (-)	47 (85.5%)	40 (88.9 %)	

*QS(+); *agrA*/*agr C*'nin her ikisinin de aynı anda pozitif olduğu durumlarda pozitif kabul edildi.

İzolatların antibiyotik duyarlılıklarında QS genleri olan *AgrA* ve *AgrC*'nin her biri için ayrı ayrı bir farklılık gözlenmemiştir. Klindamisin ve tetraksiklin için anlamlı sonuçlar bulunmuştur. İki ayrı genin antibiyotik direnci ile ilişkisi Tablo 4.9.'da gösterilmiştir.

Tablo 4.10. İzolatlardaki antibiyotiklerin QS direnç genleri ile ilişkisi.

QS Genleri	Amikasin (R) n:3	Amikasin (S) n:97	P Değeri
<i>AgrA</i> (+)			0.86
<i>AgrC</i> (-)	1 (58%)	33 (34 %)	
<i>AgrC</i> (+)	2 (42%)	53 (55 %)	
<i>AgrA</i> (-)			-
<i>AgrC</i> (-)	0 (0%)	9 (9%)	
<i>AgrC</i> (+)	0(0%)	2 (2%)	
	Ciprofloxacin (R) n:12	Ciprofloxacin (S) n:88	
<i>AgrA</i> (+)			0.597
<i>AgrC</i> (-)	5 (42%)	29 (33%)	
<i>AgrC</i> (+)	6 (50%)	49 (56%)	
<i>AgrA</i> (-)			0.621
<i>AgrC</i> (-)	1(8%)	8 (9%)	
<i>AgrC</i> (+)	0 (0%)	2(2%)	
	Daptomycin (R) n:3	Daptomycin (S) n:97	
<i>AgrA</i> (+)			0.302
<i>AgrC</i> (-)	2 (66%)	32 (33%)	
<i>AgrC</i> (+)	1 (33%)	54 (56%)	
<i>AgrA</i> (-)			
<i>AgrC</i> (-)	0 (0%)	9 (9%)	
<i>AgrC</i> (+)	0 (0%)	2 (2%)	

	Eritromycin (R) n:34	Eritromycin (S) n:66	
AgrA (+)			0.094
AgrC (-)	18 (53%)	5 (8%)	
AgrC (+)	11 (32%)	0 (0%)	
AgrA (-)			0.154
AgrC (-)	5 (15%)	4 (6%)	
AgrC (+)	0 (0%)	2 (3%)	
	Fusidic Acid (R) n:10	Fusidic Acid (S) n:90	
AgrA (+)			0.751
AgrC (-)	3 (30%)	31 (34%)	
AgrC (+)	6 (60%)	49 (54%)	
AgrA (-)			0.621
AgrC (-)	1 (10%)	8 (9%)	
AgrC (+)	0 (0%)	2 (2%)	
	Gentamicin (R) n:4	Gentamicin (S) n:96	
AgrA (+)			0.578
AgrC (-)	1 (25%)	33 (34%)	
AgrC (+)	3 (75%)	52 (54%)	
AgrA (-)			-
AgrC (-)	0 (0%)	9 (9%)	
AgrC (+)	0 (0%)	2 (2%)	
	Klindamisin (R) n:18	Klindamisin (S) n: 82	
AgrA (+)			0.001
AgrC (-)	11 (61%)	21 (26%)	
AgrC (+)	4 (22%)	51 (62%)	
AgrA (-)			0.338
AgrC (-)	3 (17%)	6 (7%)	
AgrC (+)	0 (0%)	2 (3%)	
	Levofloxacin (R) n:4	Levofloxacin (S) n:96	
AgrA (+)			0.578
AgrC (-)	1 (25%)	33 (34%)	
AgrC (+)	3 (75%)	52 (54%)	
AgrA (-)			-
AgrC (-)	0 (0%)	3 (3%)	
AgrC (+)	0 (0%)	9 (9%)	
	Moxifloxacin (R) n:6	Moxifloxacin (S) n:94	
AgrA (+)			0.617
AgrC (-)	1 (17%)	31 (33%)	

AgrC (+)	3 (50%)	52 (55%)	
AgrA (-)			-
AgrC (-)	0 (0%)	9 (10%)	
AgrC (+)	0 (0%)	2 (2%)	
	Rifampicin (R) n:7	Rifampicin (S) n:93	
AgrA (+)			0.538
AgrC (-)	3 (43%)	31 (33%)	
AgrC (+)	3 (43%)	52 (56%)	
AgrA (-)			0.621
AgrC (-)	1 (14%)	8 (9%)	
AgrC (+)	0 (0%)	2 (2%)	
	Tetrasiklin (R) n:28	Tetrasiklin (S) n:72	
AgrA (+)			<0.001
AgrC (-)	16 (57%)	18 (25%)	
AgrC (+)	7 (25%)	48 (67%)	
AgrA (-)			0.887
AgrC (-)	4 (14%)	5 (7%)	
AgrC (+)	1 (4%)	1 (2%)	
	amp./sulb (R) n:56	amp./sulb (S) n:44	
AgrA (+)			0.467
AgrC (-)	20 (36%)	14 (32%)	
AgrC (+)	28 (50%)	27 (61%)	
AgrA (-)			0.425
AgrC (-)	7 (13%)	2 (5%)	
AgrC (+)	1 (2%)	1 (2%)	
	trimetop/sulfamet (R) n:8	trimetop/sulfamet (S) n:92	
AgrA (+)			0.137
AgrC (-)	4 (50%)	30 (0%)	
AgrC (+)	2 (25%)	53 (0%)	
AgrA (-)			-
AgrC (-)	0 (0%)	0 (0%)	
AgrC (+)	0 (0%)	0 (0%)	

İzolatların antibiyotik direnç geni bulundurması açısından AIP peptitlerini tanıyan ve histidinkinaz reseptörü olan QS reseptörlerini kodlayan *AgrA* geni ile *AgrC* geni arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. *MecA* geni varlığında QS genleri pozitifdir; dolayısıyla biyofilm oluşumunun da pozitif eğilimde olduğu gösterilmiştir. İzolatlardaki QS genleri ve *mecA* ile direnç genleri arasındaki ilişki Tablo 4.10.'da gösterilmiştir.

Tablo 4.11. İzolatlardaki QS genleri AgrA/C ve direnç genlerinin ilişkisi.

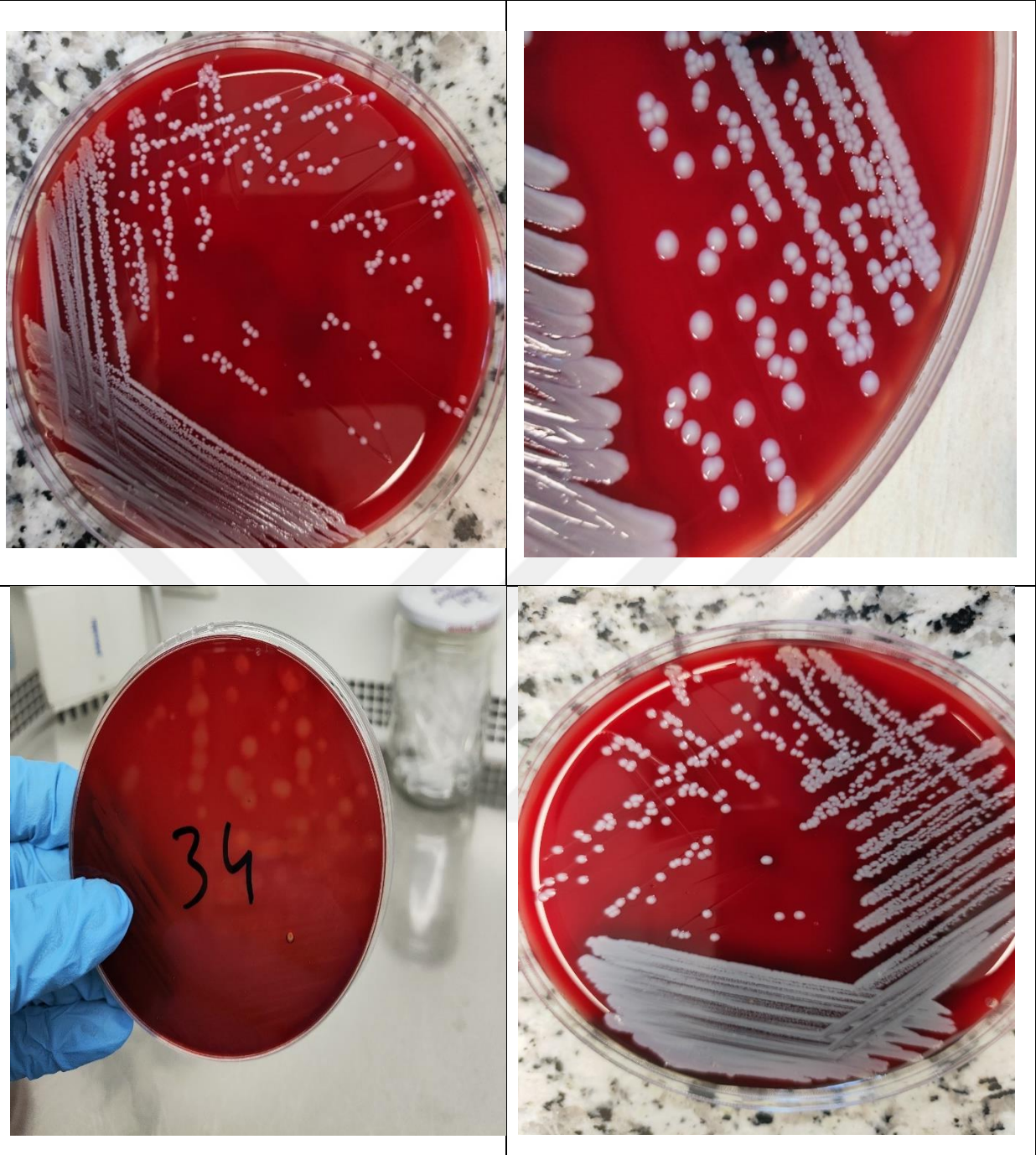
QS Genleri	<i>mec A</i> (-) n: 43	<i>mec A</i> (+) n:57	P Değeri
<i>AgrA</i> (+)			0.031
AgrC (-)	10 (80%)	24 (57%)	
AgrC (+)	29(20%)	26 (46%)	
<i>AgrA</i> (-)			0.237
AgrC (-)	4 (0%)	5 (6.1%)	
AgrC (+)	0 (0%)	2 (94%)	

QS (+) izolatların antibiyotik direnç düzeylerinin ise QS (-) izolatlara göre eritromycin, klindamisin, levofloksasin ve tetrasiklin için istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür. İzolatların antibiyotik duyarlılıklarının QS ile ilişkisine dair veriler Tablo 4.12.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.12. İzolatların antibiyotik duyarlılıkları ve QS ile ilişkisi.

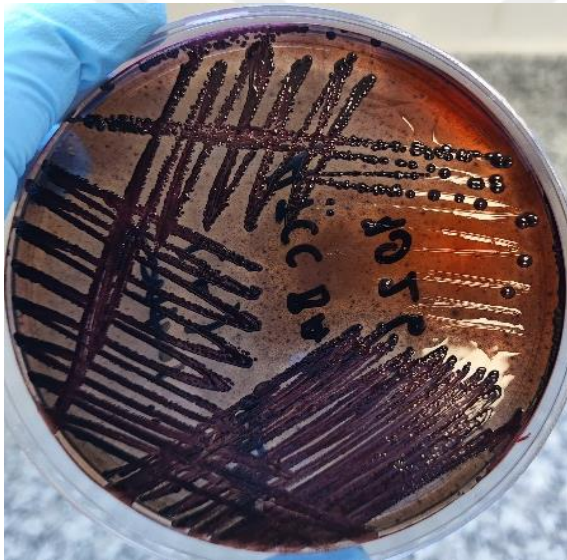
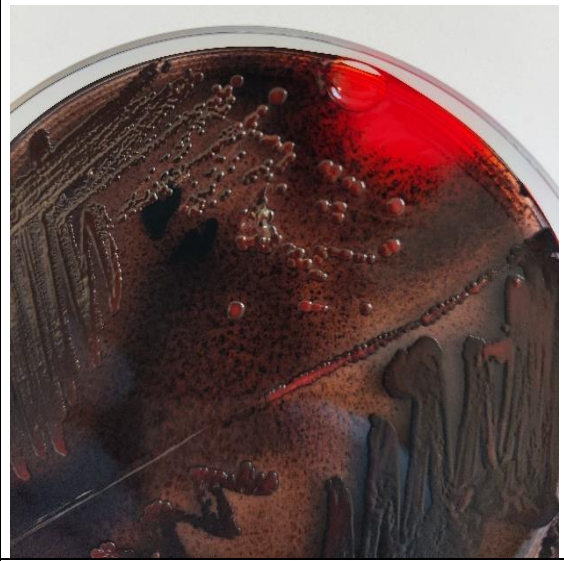
	QS (+) n:55	QS (-) n:45	P Değeri
Amikasin (R)	2 (3.6%)	1 (2.2%)	0.68
Amikasin (S)	53 (96.4%)	44 (97.8%)	
Ciprofloxacin (R)	6 (10.9%)	6 (13.3%)	0.71
Ciprofloxacin (S)	49 (89.1%)	39 (86.7%)	
Daptomycin (R)	1 (1.8%)	2 (4.4%)	0.44
Daptomycin (S)	54 (98.2%)	43 (95.6%)	
Eritromycin (R)	11 (20.00%)	23 (51.1%)	<0.001
Eritromycin (S)	44 (80.00%)	22 (48.9%)	
Fusidic Acid (R)	6 (10.9%)	4 (8.9%)	0.74
Fusidic Acid (S)	49 (89.1%)	41 (91.1%)	
Gentamicin (R)	3 (5.4%)	1 (2.2%)	0.41
Gentamicin (S)	52 (94.6%)	44 (97.8%)	
Klindamisin (R)	4 (7.3%)	14 (31.1%)	0.002
Klindamisin (S)	51 (92.7%)	31 (68.9%)	
Levofloxacin (R)	33 (60%)	1 (2.2%)	<0.001
Levofloxacin (S)	22 (40%)	44 (97.8%)	

Moxifloxacin (R)	3 (5.4%)	3(6.7%)	0.80
Moxifloxacin (S)	52 (94.6%)	42 (93.3%)	
Rifampicin (R)	3 (5.4%)	4 (8.9%)	0.50
Rifampicin (S)	52 (94.6%)	41 (91.1%)	
Tetrasiklin (R)	7 (12.7%)	21 (46.7%)	<0.001
Tetrasiklin (S)	48 (87.3%)	24 (53.3%)	
amp./sulb (R)	28 (50.9%)	28 (62.2%)	0.26
amp./sulb (S)	27 (49.1%)	17 (37.8%)	
trimetop/sulfamet (R)	2 (3.6%)	6 (13.3%)	0.44
trimetop/sulfamet (S)	53 (96.4%)	39 (86.7%)	



Şekil 4.1. Koyun kanlı agar *S.aureus* kolonileri.

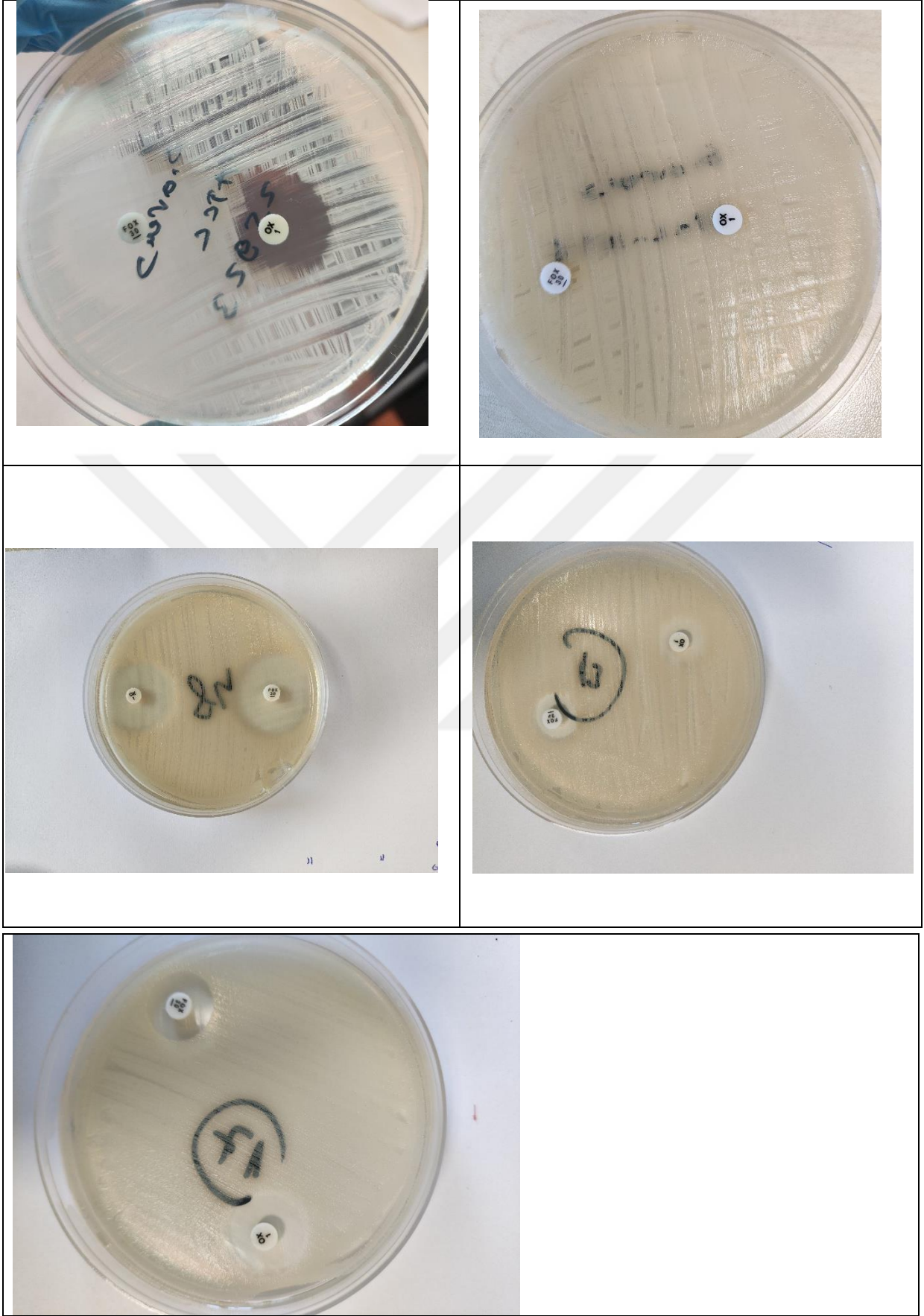
Koyun kanlı agar besiyerinde üretilen *S.aureus*'un beta hemoliz, yuvarlak, parlak görünümü Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.



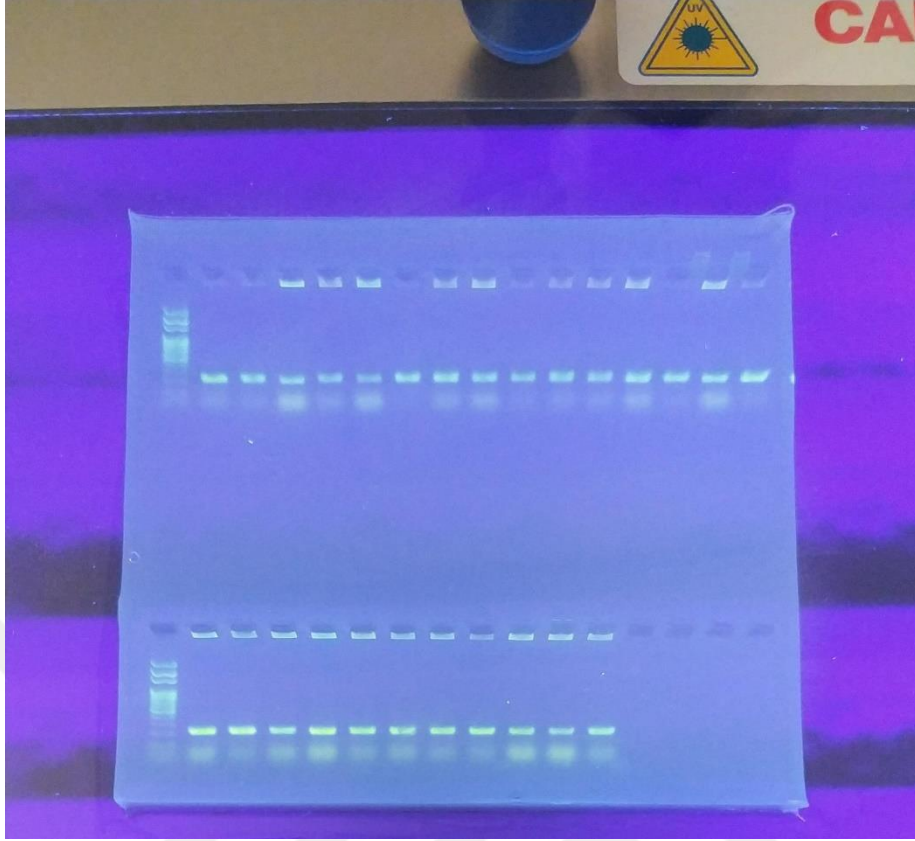


Şekil 4.2. Kongo kırmızısı besiyeri *S.aureus* kolonileri.

Kongo kırmızısı besiyerinde fenotipik olarak görülen biyofilm görüntüsü besiyerinde siyah bir zon ile karakterizedir. Hiç biyofilm üretmeyen bir başka stafilokok görüntüsü Şekil 4.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Mueller Hinton Agar besiyeri *S.aureus* antibiyotik disk görüntüleri.



Şekil 4.4. 16S rRNA için yapılan jel elektroforezi görüntüsü.

Tüm örnekler DNA çoğalması için jel elektroforezde kontrol edildi. DNA çoğalması Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Çoğalma görülmeyen örnekler tekrar çalışıldı.



5. TARTIŞMA

S.aureus, bir enfeksiyon etkeni olarak dünya çapında morbidite ve mortalitenin en yaygın nedenlerinden biridir. Bu patojen, hafiften şiddetliye kadar değişen geniş bir hastalık yelpazesine neden olabilir, bunlar arasında ölümcül pnömoni ve sepsis de bulunur. *S.aureus* enfeksiyonlarının tedavisi, antibiyotik direnci nedeniyle karmaşıktır ve etkili bir aşı mevcut değildir. *S.aureus*'un ürettiği olağanüstü yüksek sayıdaki toksin ve diğer virülans belirleyicileri ve bunların hastalık üzerindeki etkisiyle ilgili sürekli ve artan bir ilgi olmuştur (Cheung vd., 2021). Antibakteriyel kemoterapideki ilerlemelere rağmen *S.aureus* suşları mevcut tüm antibiyotiklere karşı direnç göstermiştir. Kısmen bu organizmanın muazzam klinik önemi nedeniyle, *S.aureus* patogeneziyle ilişkili genlerin ve düzenleyici mekanizmaların tanımlanmasına yönelik çok büyük miktarda çaba harcanmıştır.

2021'de 76 ülke arasında ortalama MRSA enfeksiyon oranı yaklaşık %35 idi ve bu oran 2017'den %15 arttı. İlk basamak ilaç vankomisin ve yeni nesil ilaçlar olan linezolid ve daptomisin'e direnç rapor edilmiştir. Direnci aşmak için yenilikçi yaklaşımlarla anti-MRSA ilaçları geliştirmek acil bir ihtiyaçtır (Zhu vd., 2024). Obasuyi ve ark. (Obasuyi vd., 2020) Afrika'da *S.aureus* suşlarının ve klonların detaylı moleküler karakterizasyonu ve moleküler epidemiyolojisi incelemiş, Benin City, Nijerya'dan Ocak-Temmuz 2016 tarihleri arasında toplanan 81 tekil *S.aureus* izolatının moleküler epidemiyolojisini ve virülansını belirlemiş ve küresel suşlarla karşılaştırmışlardır. Kırk yedi izolat (%58.0) metisilin duyarlı MSSA olarak bulunurken, 34 (%42.0) izolat metisilin dirençli MRSA bulmuşlar. En baskın gruplar olarak belirlenen ST152-MSSA (%24.7) ve ST7-MRSA-V (%19.8), küresel baskın suşlarla genetik olarak ilişkili değildi, ancak bölgesel bir üstünlük sergiledi. Çalışmanın ilginç bir bulgusu, bölgede yüksek oranda benzer suşların varlığıydı; bunlar genellikle metisiline dirençli gen taşıyıcılığı ve stafilokok kaset kromozom mec (SCCmec) bakımından farklılık gösteriyordu ve MRSA-MSSA çiftleri içindeki suşların genomları arasında %99.4–99.7 oranında benzerlik gösteriyordu. Bu 81 izolattan, 47'si (%58.0) MSSA olarak bulunurken, 34'ü (%42.0) MRSA idi. MSSA'ya kıyasla, MRSA izolatları çok daha yüksek düzeyde antibiyotik direnci gösterdi. Toplam 34 MRSA izolatının (%100) penisilin ve sefoksitine dirençli olduğu belirlendi; bununla birlikte, 22'si (%64.7) gentamisine; 9'u (%26.5) eritromisine; 31'i (%91.2) tetrasikline; 2'si (%5.9) doksisisikline; 28'i (%82.4) siprofloksasine; 27'si (%79.4) levofloksasine; 7'si (%20.6) klindamisine; 13'ü (%38.2) trimetoprim-sülfametoksazola; 1'i (%2.9) rifampisine; ve 1'i (%2.9) linezolide dirençliydi. Hesari ve ark.(Hesari vd., 2018)

yaptığı araştırmaya göre *S.aureus* suşlarının %68'i sefoksitin (MRSA) dirençli hastalardan izole edilmiştir ve bu oran bazı araştırmacıların yaptığı çalışmalara göre daha fazladır. Bu sonuçlar deneklerdeki MRSA suşlarının sıklığının daha çok enfeksiyonoloji ve cerrahi bölümleriyle ilişkili olduğunu göstermiştir. Çalışmamızda dirençleri arasındaki ilişki için sefoksitin ve oksasiline kullanılmıştır. Zon çaplarının EUCAST 2024'e göre değerlendirilmesinde bunlardan 58 adet izolatın sefoksitine dirençli, 42 adedinin ise duyarlı olduğu ve mecA geni pozitifliği ile uyumlu olduğu görülmüştür. Bazı örneklerde sefoksitine dirençli olup oksasiline duyarlı olduğu gözlemlenmiş ve ancak bunlardaki mecA pozitifliğinin daha yüksek olması sebebiyle oksasiline yerine sefoksitin zon çapı direncinin belirlenmesinin daha iyi olacağını gözlemledik.

MRSA izolatlarının hemen hemen tümü mecA geni tarafından kodlanan penisilin bağlayan protein 2a (PBP2a)'yı üretir. MRSA saptanmasında mecA veya mecA'nın kodladığı PBP2a'nın saptanması en kesin yöntemlerdir. MecA geni taşıyan veya mecA geni ürünü olan PBP2a'yı sentezleyen stafilokoklar oksasiline dirençli, mecA geni taşımayan veya PBP2a'yı sentezlemeyen stafilokoklar oksasiline duyarlı olarak verilmelidir. MecA geninin bulunması dışında diğer direnç mekanizmalarının da bulunması nedeniyle disk difüzyon testinde göre minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) testleri yapılmışsa, MİK değerleri ≥ 4 µg/ ml bulunan suşların mecA veya PBP2a negatif olsalar bile oksasiline dirençli olarak bildirilmesi önerilmektedir. Bu suşların sefoksitin disk difüzyon testi ile de duyarlı çıkabileceği bildirilmiştir (Weinstein & Lewis, 2020). *S.aureus*'te metisilin direncin tespitinde altın standart mecA geninin PCR olduğunu belirten Hou ve ark. (Hou vd., 2024) PCR ile mecA geni pozitif olan MRSA ve negatif olan MSSA örneklerinin çeşitli antibiyotiklerle kombinasyon tedavisinin antibakteriyel etkisinin in vitro ve in vivo olarak bireysel tedavilerden daha etkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, SA (Shikimic Acid Restores) veya oksasiline in vitro ve in vivo olarak doğrudan anti-MRSA ilaçları olarak uygun olmayabileceğini, bunun yerine oksasiline için yardımcı ilaçlar olarak değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir. Ali ve Riaz yaptığı çalışmada (Ali & Riaz, 2024) 150 MRSA izolatın tamamını sefoksitine dirençli; 131 inde ise mec A genini tespit etmiştir. MRSA'yı tespit etmek için bu disk testinin tercih edilmesi gerektiği sonucuna varmıştır. Fenotipik ifadesi metisilin direnci bazen heterojendir. O zaman, bunu belirlemek zordur. Sınır direncinin metisilin direnci belirlemede EUCAST tarafından önerilen sefoksitin disk difüzyon testinin kullanılmasıdır. Metisilin direncinin tespiti için rutin laboratuvar uygulamalarında yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Birçok çalışma, sefoksitin disk testinin

oksasilin ile karşılaştırıldığında daha yüksek duyarlılık ve özgüllük değerlerine sahip olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda *S.aureus* fenotipik değerlendirmesi için yapılan disk difüzyon testinde oksasilin(ox) ve sefoksitin (fox) antibiyotik diskleri kullanılmış ve örnekler EUCAST 2024 e göre değerlendirilmiştir. 57 adet MRSA ve 43 adet MSSA örneğinin sefoksitin çapı ve oksasilin çapı ile uyumlu bulunmuştur. 57 adet mecA pozitif örneğin 57 si de sefoksitine dirençli iken 49 adedi oksasiline dirençlidir. Yine 57 adet mecA pozitif örneğin 49 u hem oksasiline hem de sefoksitine dirençli bulunmuştur. Bu ve benzeri makalelere dayanarak, biz de sefoksitin disk testlerinin MRSA pozitif olanları bulmak için tespit edilmesinde kullanılmasının gerekli olduğunu düşünüyoruz. Her iki antibiyotik içinde p değeri <0.001 bulunmuş ve anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda mec C geni hiçbir örnekte bulunmamış olup değerlendirmeye alınmamıştır.

Sawhney ve ark. (Sawhney vd., 2022) yaptığı araştırmaya disk difüzyonu aracılığıyla sefoksitine direnç, mecA aracılı metisilin direncini (MRSA) tahmin etmek için bir işaretleyici belirteçtir. Sefoksitin direncini belirlemek için, 42 izolat CLSI tarafından tarif edilen disk difüzyon yöntemi kullanılarak test edildi. 9 MRSA izolatından 8'i dirençliydi (PBP2a- ve mecA-pozitif izolatlar). Bir MRSA izolatı sefoksitine duyarlıydı (zone boyutu = 25 mm). İki izolat daha kırılma noktasına yakın dirençli çıktı (her ikisi de, 19 mm) ancak PBP2a ve mecA negatif idi. 60 karşılaştırma kan izolatından hiçbirisi sefoksitine dirençli değildi. Oksasilin direnci için de duyarlılık testi yapıldı. İlk olarak, izolatlar oksasilin disk difüzyon yöntemi ile test edildi ve 2007 CLSI kırılma noktaları kullanılarak yorumlandı. Bu tarihsel oksasilin kırılma noktaları, özellikle mecA-aracılı beta-laktam direncinin tespitine odaklandığında arşivlenmişti. 42 izolattan 15'i dirençliydi, bunların içinde 8 onaylanmış MRSA izolatı vardı. Tek sefoksitin-duyarlı MRSA izolatı oksasilin araştırmalıydı. İki ek izolat da oksasilin araştırmalıydı. Karşılaştırma için seçilen 60 kan izolatının hiçbirisi disk difüzyonu ile oksasilin dirençli veya araştırmalı değildi. Bunu takiben, izolatlar direnç oluşturan 2% NaCl tarama agarında hücrelerin ekimi ile direnci indükleyen önceden bildirilen bir gradyan difüzyon yöntemi ile oksasilin direnci için test edildi. 42 izolattan 33'ü dirençli bulunmuş. Karşılaştırma için seçilen 60 kan izolatından da 9'u oksasilin dirençliymiş. İleriki analizler için, BORSA izolatları şu kriterlere göre tanımlandı: mecA/PBP2a-negatif *S.aureus* ve (i) disk difüzyonu ile oksasilin'e dirençli veya araştırmalı (zone boyutu ≤ 12 mm) veya (ii) indüklenmiş 2% NaCl agarında gradient difüzyonu kullanarak oksasilin'e dirençli (tekrarlanan üçlü testte 4 mg/mL'den fazla olan tutarlı MIC).

Arias ve Jinnethe (Arias & Jinnethe, 2017) yaptıkları çalışmada toplamda, Latin Amerika'daki 24 hastaneden 1,346 kan izolatu topladılar. Toplam 161 izolat, sıkça yanlış tanımlama veya kontaminasyondan kaynaklanan protokol ihlalleri nedeniyle projeden çıkartmışlar. Son analiz, 1,010 hastadan alınan 1,185 izolatı içeriyordu. Genel olarak, metisilin direnci tüm izolatların %45'inde bulundu ve önemli bölgesel farklılıklar gösterdi. Genel olarak, çoğu MRSA izolatı eritromisin (%81), klindamisin (%74) ve seftriakson (%78) gibi yüksek direnç oranları sergilemiş. Tüm *S.aureus* izolatları minosiklin (MIN), linezolid (LZD) ve vankomisin (VAN) (MIC90, 1µg/ml) ile duyarlı olduğunu göstermişler. Metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA) izolatları, test edilen antibiyotiklerin çoğuna yüksek oranda duyarlı çıkmıştır.

Ariza ve ark. (Ariza-Miguel vd., 2014) İspanya'da ilk kez, çiftlik hayvanlarında mecC pozitif metisilin dirençli *S.aureus* (mecC-MRSA) bildirdiler. 601 *S.aureus* izolatından elde edilen 229 süt koyunu çiftliğinden alınan süt örneklerinde bir izolat (dizi tipi 130) bulundu. Bu bulgu, mecC pozitif MRSA'nın zoonotik bulaşma potansiyelini vurgulamakta ve varlığını ve klonal evrimini izlemek için gözetim programlarının gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Silva ve ark. (Silva vd., 2021) yabani hayvanlarda tema mecA gen homologu mecC'nin tekrarlanan tespiti, bu hayvanların mecC-MRSA için bir rezervuar olup olamayacağı sorusunu gündeme getirmektedir. Böylece *S.aureus* ve MRSA'yı liman bölgelerinde yaşayan yabani kemirgenlerden elde etmek ve bunların antimikrobiyal dirençlerini ve genetik soylarını karakterize etmeyi amaçlamıştır. 204 yabani kemirgenden ağız ve rektal sürüntü örnekleri elde edildi. Numuneler %6,5 NaCl içeren BHI (Brain Heart Infusion) besiyerinde inkübe edildi ve 37°C'de 24 saat sonra inokulum Baird-Parker agar, Mannitol Salt agar ve ORSAB (2 mg/L oksasilin ile desteklenmiş) plakalara ekildi. Tür tanımlaması şu şekilde doğrulandı: MALDI-TOF MS. Antimikrobiyal duyarlılık testi 14 antibiyotiğe karşı Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle yapıldı. Virülans ve direnç genlerinin varlığı PCR ile gerçekleştirildi. Bağışıklık kaçırma kümesi (IEC) sistemi tüm *S.aureus* örneklerinde araştırıldı. Tüm izolatlar MLST, spa ve agr tiplene ile karakterize edildi. 204 örnekten, 38 *S.aureus* izole edildi ve bunlardan altısı MRSA tespit edildi. Altı MRSA izolatının üçü mecC genini ve diğer üçü mecA genini barındırıyordu. Tüm mecC-MRSA izolatları, sekans tipi (ST) 1945 (CC130'a aittir) ve spa tipi t1535'e atfedilirken, tema mecA izolatları ST22 ve ST36 ile spa tipleri t747 ve t018'e aittir. Yirmi beş *S.aureus* test edilen tüm antibiyotiklere duyarlıydı. *S.aureus* izolatlar 11 MLST ve 12spa tipine

atfedilmiştir. *S.aureus* yabani kemirgenlerde çok çeşitli genetik soylar sunar. Bu Portekiz'deki ilk mecC-MRSA raporudur. Bu çalışmada mec C pozitif hiçbir örnek bulunamıştır. Yapılan çalışmalar bize direnç geninin daha çok zoonotik yolla geçişi olduğunu göstermiştir.

Dhungel ve ark. (Dhungel vd., 2021) yaptığı araştırmada laboratuvarına alınan klinik örneklerin dörtte birinde bakteri üremesi gördü. Klinik örneklerden en sık görülen bakteriler *S.aureus* olup bunu *K. pneumoniae* ve *E. coli* takip etmiştir. Kültür pozitif izolatların dörtte birinin *S.aureus* olduğu belirlenmiş. İzole edilen *S.aureus*'ların tamamı MDR (Multiple Drug Resistant) 'dir ve bunların yaklaşık %90'ı MRSA'dır. 34 MRSA izolatının %94'ünde mecA geni görülmüş ve MRSA'ların hiçbirinde vanA geni olmadığı tespit etmişler.

Hesari ve ark. (Hesari vd., 2018) yaptıkları çalışmada İran'ın Rasht şehrinden izole edilen klinik örnekte antibiyotik direnci, mecA ve pvl genlerin varlığı ve bu izolatların polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemine göre epidemiyolojik tiplendirilmesinin araştırmışlardır. 250 örnekten 50 *S.aureus* olduğu tespit edilmiş. %68'inin (34 örnek) metisiline dirençli olduğunu gösterdi. *S.aureus*ların arasında mecA ve PVL genlerin sıklığı %60 (30 örnek) ve %20 (10 örnek) olduğunu göstermişler. Pvl'nin PCR sonucu, bu bölgede bu genin yüksek frekansını göstermişlerdir. Ayrılmış *S.aureus* suşlarında PVL genin varlığını değerlendirmek için *S.aureus*'a ait bu genin spesifik primerleri kullanıldı ve elektroforez jelde görüntüsü gözlenen 575 bp bandının varlığını gözlemlemeyi beklemişler. PVL gen örneklerin %20'sinde (10 örnek) pozitif, suşlar arasında pvl gen varlığı, örnek tipi ($p<0.046$) ve mecA geni varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığını belirtmişlerdir ($p<0.015$). Khosravi ve ark. (Khosravi, A. D., Hoveizavi, H., Farshadzadeh, 2012) PVL geninin dağılımının MRSA suşlarında %7,2, MSSA suşlarında ise %33,3 olduğunu bildirmişlerdir. Son zamanlarda MRSA'nın pozitif PVL suşları üzerine daha fazla çalışma yapılmıştır, oysa pozitif MSSA'nın enfeksiyonları PVL pozitif suşlarının dağılımı önemli rol oynar. Geçtiğimiz 5 yılda İngiltere'deki PVL'nin pozitif suşlarının yaklaşık %60'ı metisiline duyarlıydı (Otokunefor vd., 2012) . Osman ve ark. (Osman vd., 2015), 210 *S.aureus* örneklerinde PVL geni %58 oranında gözlemlendi. Brown ve ark. (Brown vd., 2012) 1.055S'yi değerlendirdi. *S.aureus* PVL gen varlığına bakıldığında 377 suşun (%35,7) metisilin'e en dirençli olan bu gene sahip olduğu görüldü. Lima ve ark. (Lima vd. 2014), kistik fibrozlu hastalardan izole edilen MRSA suşları üzerinde, suşların neredeyse yarısının PVL gen taşıdığını gösterdi. Bu çalışmada, MRSA suşlarında PVL gen dağılımı, MRSA suşlarında pozitif PVL örneklerinin %60'ından (altı örnek) ve MSSA suşlarında

%40'ından (4 örnek) fazlaydı. Darboe ve ark. (Darboe vd., 2019) 293 hastada yapmış olduğu araştırmada MRSA oranı ne kadar yüksek olsa da Antimikrobiyal direnç ile PVL durumu arasında ilişkiye dair hiçbir kanıt olmadığını göstermişlerdir.

Bu çalışmada yukarıda belirtilen çalışmalardaki örnekler gibi MRSA pozitif olgusu ile mecA geni varlığı arasındaki bağlantı; disk difüzyon testi ile kanıtlanmış olan tüm MRSA örneklerinde yapılan RT-PCR çalışması neticesinde mecA geni pozitifdir. mec A geni için MRSA pozitiflik ve PVL arasındaki ilişkiye bakıldığında 57 MRSA şusunun 13 tanesi (22.8) PVL (+) olarak bulunmuş ve bu gene sahip olduğu belirlenmiştir. Pozitif örneklerin 10 tanesi (%76.9) mec A pozitif, 3 tanesi (%23.1) ise mec A negatif olarak değerlendirilmiştir. Yine antibiyotik disk çapı değerlendirmesinde fox dirençli 58 örneğin 57'si (%98.28) mecA pozitif; ox dirençli 51 örneğin 49 adedi (%96.07) mec A pozitif olarak değerlendirilmiştir. Yine PVL pozitif olan numune örnekleri açısından incelememizde yara (%21.87) ve apse (%60) örneklerinde yüksek yüzde oranları ile anlamı olarak ilişkilendirilmiştir. Bizde PVL'nin deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ile bağlantılı olduğunu kanıtlar nitelikte sonuçlar bulduk.

S.aureus'un enfeksiyonu sürdürmesinin bir diğer önemli yolu da biyofilmlerin oluşmasıdır (Otto, 2018). Bunlar, yerleşik tıbbi cihazların abiyotik materyalinde oluşabileceği gibi, endokardit durumunda kalp kapakçıkları gibi doku yüzeylerinde de oluşabilir. Biyofilm oluşumu üç ana aşamada gelişir: yapışma, olgunlaşma/çoğalma ve ayrılma. İn vivo yapışma, çoğu MSCRAMM ailesine ait olan hücre duvarına sabitlenmiş ve diğer yüzey proteinleri yoluyla insan matriks proteinlerine meydana gelir (Cheung ve ark., 2021). Gronseth 'in (Gronseth, 2023) yapmış olduğu çalışmada farlerin derilerinde biyofilm oluşunu gözlemlemiş, Lugol çözeltisi ve Gentian menekşesi, deri yarası enfeksiyonlarında metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* biyofilmini yok eder. *S.aureus*'tan şüphelenilen topikal biyofilm enfeksiyonunu tedavi etmek için kullanılabileceğini göstermiş. Güçlü biyofilm oluşumu, sınırlı sayıda izolatta belirgindir, İran'daki bulguların aksine (%52.27) ve Çin'deki çok yüksek bir oran gösteren (%83.3) göstermektedir (Yang vd., 2016).

Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler, klasik olarak bir histidin kinaz ve yanıt düzenleyiciden oluşan iki bileşenli düzenleyici sistemler aracılığıyla çevreyi algılama ve tepki verme yeteneğine sahiptirler (Brandis ve ark., 2017). *S.aureus*'un karmaşıklığı toksin üretimi, toksin aktivasyonu ve azalan bağlılık da dahil olmak üzere Agr çekirdek sisteminin etkileriyle birleşerek *S.aureus* için ters etki yaratabilir. Örneğin, agr locus içindeki mutasyonlar, bakteriyel toksin üretiminin baskılanmasıyla sonuçlanır ve bu da persistan S sırasında immün

tanımının kaçmasına yol açabilir. Agr sistemi stafilokokal virülansa güçlü bir şekilde katkıda bulunmasına rağmen, diğer iki bileşenli sistemler ve stafilokok yardımcı regülatör A (SarA), katabolit kontrol proteini A (CcpA) dahil olmak üzere düzenleyici proteinler. *S.aureus* exoprotein ekspresyonu (SaeRS) ve stafilokok solunum yanıtı AB (SrrAB) de virülans faktörü düzenlemesini etkiler. Daha da önemlisi, bu iki bileşenli sistemler virülans faktörlerini hem Agr'a bağımlı hem de Agr'dan bağımsız şekillerde düzenleyebilir (Butrico & Cassat, 2020; Voyich vd., 2009).

Bu çalışmada QS genlerinden olan agr A/C (+) genlerinin numune örnekleri örnekleri yönünden ve MRSA pozitifliğine bakıldığında; kandan izole edilen 18 adet örneğin 7'si (%38), 13 adet idrar örneğinin 8 tanesi (%61.54), 13 adet drenaj örneğinin 8 tanesi (%61.54), 32 adet yara örneğinin 18 adedi (%56.35), 5 adet apse örneğinin 3'ü (%60), 12 adet balgam örneğinin 6'sı (%50), 3 adet burun sürüntüsü örneğinin 2'si (%66) arasında anlamlı sonuç bulunmuştur. Yine çalışmamızda agrA ve C (+) olduğunda mec A(+) 57 örneğin p:0.031 ile anlamlı, mecA (-) iken agrA/C yönünden iken ise anlamlı bulunmamıştır (Tablo 4.11) Bu da bize mecA(+) suşlarda QS mekanizmasını regüle eden genlerin daha çok devreye girerek biyofilm oluşturma özelliğinin arttığını göstermektedir. Agr A ve agr C her ikisi de pozitif olan suşlar QS(+) olarak kabul edilmiştir. QS(+) 55 örneğin 26'sı (% 47.2), QS(-) 45 örneğin 31'inin (%68.9) mecA(+) pozitif olduğunu bulduk. Bu da bize gen regülasyonunda AIP'nin agrC'ye bağlanarak agrA'nın fosforilasyonuna destekler nitelikte olabileceği TABLO 4.11'de agrC pozitifliğinde p değerinin anlamlı olduğunu göstermiştir. MecA (+) olduğu durumlarda QS genlerinin kritik rolü de dikkate alındığında bu genlerin yakından takip edilmesi artan metisilin direnci ile mücadelede önem arz etmektedir. Dolayısıyla hem gen düzeyinde QS ifadesinin tespiti hem de AIP moleküllerinin sinyalizasyon gösterebilmesi ile yapılması gereken daha güvenilir testlere ihtiyaç vardır. Bu çalışmada antibiyotik duyarlılıkları açısından QS (+) ve QS (-) olan gruplar arasında karşılaştırma yapılmış ve QS (+) suşların klindamisin, levofloxacin ve tetrasiklin antibiyotikler daha yüksek oranlarına sahip olduğu ve böylelikle biyofilm oluşturma özelliğinin daha yüksek olduğunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur, Tablo 4.12'de gösterilmiştir.

Gündoğ ve ark. (Gündoğ vd., 2023) yaptığı çalışmada test edilen *S.aureus* izolatlarının %35'i KKA yönteminde, %36'sı MP yönteminde ve %94.4'ü her iki yöntemde de biyofilm pozitif olarak tespit edilmiştir. Benzer şekilde, Shakya ve ark. (Shakya vd., 2022), sığır mastitisine sebep olan 20 MRSA izolatının KKA yönteminde %25'inin ve MP yönteminde

%45'inin biyofilm pozitif olduğunu bildirmişlerdir. Jain ve Agarwal (Jain & Agarwal, 2009), biyofilm tespit yöntemlerini kıyasladıkları çalışmalarında analiz ettikleri 84 adet *S.aureus* izolatının %79'unun MP yöntemiyle ve %75'inin KKA yöntemiyle biyofilm pozitif sonuç verdiğini rapor etmişlerdir. Kırmusaoğlu (Kırmusaoğlu, 2017) ise analiz ettiği *S.aureus* izolatlarının %40'ının KKA yönteminde pozitiflik gösterirken, %51'inin MP testinde pozitif sonuç verdiğini bildirmiştir.

Melo ve arkadaşları (Melo vd., 2013), test ettikleri *S.aureus* suşlarının biyofilm oluşturma özelliğinin belirlenmesinde KKA yönteminin duyarlılığını %86 olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar, KKA'nın *S. aureus*'un biyofilm özelliğini tespit etmede istatistiksel olarak önemli olduğunu; ancak, MP yönteminin duyarlılık açısından daha hassas olduğunu bildirmişlerdir.

Gündoğ ve ark. (Gündoğ vd., 2023), MP (Micro Plate) yöntemine kıyasla KKA (Kongo Kırmızısı Agar) yönteminin *S.aureus* izolatlarının biyofilm oluşturma özelliklerinin saptanmasında yüksek duyarlılığa (%97) sahip olduğunu, *Listeria* spp. izolatlarında ise iyi bir duyarlılığa (%59) ve düşük özgüllüğe (%39) sahip olduğunu göstermişler. Bu veriler, *S. aureus*'un biyofilm yeteneğinin KKA ile güvenilir bir şekilde tespit edilebileceğini, ancak *Listeria* spp. için bu yöntemin tek başına kullanılmasının yanlış pozitiflik veya yanlış negatifliklere neden olabileceğini göstermektedir. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde, önceki çalışmalarda da KKA'nın *S.aureus* biyofilm yeteneğinin belirlenmesinde yüksek duyarlılığa sahip olduğu, diğer çalışmalarda ise bu yöntemin düşük duyarlılık ve güvenilirliğe sahip olduğu rapor edilmişlerdi.

Yaptığımız çalışmada; 100 adet *S.aureus* suşunun 78'i Kongo kırmızısı güçlü pozitif olarak bulunmuştur. Kongo kırmızı güçlü pozitif değerlendirilen 78 adet örneğin QS ile ilişkilendirilen agr A(+) pozitif değerlendirmesinde 68'i (%87.1) güçlü pozitif, 39'u (%50) agr C (+) ve yine 39 örnek (%50) hem agrA hem de agrC (+) olarak değerlendirilmiştir. Tablo 4.8'de sadece agrC (+) olan ya da her iki gen açısından da pozitif olanlarda p değeri anlamlı olarak bulunmuştur. mec A (+) 57 örneğin 48'i (%84.2) Kongo kırmızısı güçlü pozitif, mec A (-) 43 örneğin 30'u (%69.8) güçlü pozitif olarak bulunmuştur. 13 adet PVL(+) örneğinin 5'i (%38.5) Kongo kırmızısı güçlü pozitif olarak değerlendirilmiştir. Kongo kırmızısının numune türü açısından biyofilm oluşturmalarını değerlendirecek olursak idrar örneklerinin %100 ününde güçlü pozitif olduğu gösterilmiştir. Bu örnek uyumunu %84 ile drenaj %77 ile kan ve %71 ile yara örnekleri takip etmektedir ve Tablo 4.6'da gösterilmiştir.

Bu da bize Kongo kırmızısı ile biyofilm oluşumun gösteriminin daha kolay ve güvenilir; maliyet açısından daha az olduğunu göstermiştir.

Çoklu ilaca dirençli (MDR) stafilokok enfeksiyonlarının sayısının artması, antibiyotik direncine neden olan genetik varyasyonların bakteri popülasyonunda nasıl geliştiğine ilişkin temel soruların araştırılması ihtiyacını doğurmuştur. Sonuç olarak, son yıllarda 16S rRNA geninin dizi analizi, *S.aureus* filogenisi ve taksonomisine ilişkin anlayışımızı doğrulamak için genetik bir belirteç olarak daha yaygın hale geliyor ve klinik ortamda giderek daha yaygın hale geliyor (Kawasaki vd., 2008), (Janda & Abbott, 2007). Mikroorganizmanın direnç kazanma ve iletme yeteneği arttıran bir faktördür. *S.aureus* içindeki coğrafi bağlantı muhtemelen yerel topluluklar içindeki yeniden düzenlemeyle birleşen aileler arası aktarımın bir sonucudur. Sudan'da 16S rRNA gen dizilimi üzerine çok az çalışma yayınlanmıştır. Hassan ve ark., taksonomi için kullanılan Sudan izolatlarından Staphylococci türleri için mikrobiyal tanımlama ve filogenetik belirteçlerin önemini gösterdi (Alfatih vd., 2018) Merghani ve arkadaşları tarafından Sudan'da araştırılan önceki araştırmalar, 16S rRNA gen dizisini hedef alan primerlerle yapılan PCR testinin, bakterilerin tür düzeyinde tanımlanması ve bir türün diğerlerinden ayırt edilmesi için yararlı bir yöntem sunduğunu ileri sürmüştür (Gumaa vd., 2021). Ancak bu çalışmalar, sonuçların polifazik taksonominin sonuçlarıyla örtüşmemesi ve ilgili türlerin her zaman birbirinden ayırt edilemediğini ortaya koyması nedeniyle kesin olarak kabul edilemez nitelikte görülmektedir (Mamoun vd., 2015). Bu nedenle, umut verici başka bir araştırma hattı da olabilir. 16S rRNA'daki mutasyonların varlığını tespit etmek ve *S.aureus* dizilerinin korunmasını araştırmak. Bu noktalar Sudan'da daha önce hiç ele alınmamıştır ve Afrika nüfusuyla ilgili bilgiler sınırlıdır. 16 rRNA geninin moleküler analizi ve yara enfeksiyonlu Sudanlı hastalardan izole edilen *S.aureus* suşlarının filogeni yaklaşımı hakkındaki temel ilkeleri daha iyi anlamayı ele almaktadır. Milano'da yürütülen bir çalışmada ön burun deliklerinden sürüntü örnekleri toplanmış ve temiz olarak sınıflandırılan ameliyata girecek pediatrik hastaların farenksi; 138 (%35,1) çocuklarda *S.aureus* taraması pozitif çıkmıştır. MRSA 40 hastada tanımlanmıştır (pozitif vakaların %29'u *S.aureus*) çocukları için vakalar; Bu mikroorganizmanın kolonileştirici olarak bulunması, bunun neden olduğu ciddi enfeksiyonların gelişmesi daha fazla, ancak çalışma karakterize etmedi MRSA'nın toplumla mı yoksa hastaneyle mi ilişkili olduğu (Messias vd., 2023). Başka bir çalışmada, MRSA kolonizasyonu için bilinen herhangi bir faktör olmaksızın anaokuluna giden çocuklarda MRSA varlığı araştırılmış; toplamda 354 çocuk analiz edildiği; bunların

arasında 20 çocuğun (%5,8) toplumdan edinilen kolonizasyon olduğu gözlenmiş ve MRSA olarak tanımlanmıştır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

S.aureus, enfeksiyonlarının oluşumunda tek bir mekanizmasının olmadığını ve dolayısıyla sorunun tek bir “tedavisi” olmadığını yapılan birçok çalışmada görülmektedir. Bu nedenle, her endikasyon için her ilaca yönelik tedavi başarısızlığının doğasını anlamak, tedaviyi iyileştirmek için çok önemlidir. Günümüzde antibiyotiklere hızla direnç gelişimi ve yeni antibiyotiklerin geliştirilmesindeki sorunlarda dikkate alındığında, enfeksiyonun özellikleri ve bağışıklık durumları da dikkate alınarak antibiyotiklerinin etkinliğinin önündeki engellerin kaldırılmasına yönelik çalışmalara odaklanılmasında fayda olacağı düşünülmektedir. Bu bağlamda, mec A/C geninin inhibe edilerek MRSA oluşumunun izlenmesi ile ilgili çalışmaların yapılmasına odaklanmak gerekir. Yine enfeksiyonlar için güçlü bir virülans faktörü olan biyofilm oluşumundan sorumlu olan agr lokusunun inhibe edildiği invitro ve invivo çalışmalara odaklanılmasında fayda vardır.

Bunun için bir AIP inhibitörü tespit edilerek bu ekspresyon durdurulduğunda agr gen ifadesi geçici olarak mı durur yoksa tamamen mi durur mutlaka incelenmelidir. Fare modelleri bize *S.aureus*' un doğasına dair ölçülemez bir anlayış kazandıran güçlü bir kaynaktır. *S.aureus*'un insanlarda bulunan bazı toksinler reseptörleri farelerde yoktur ve farelerdeki nötrofiller, insan nötrofilleri tarafından eksprese edilen güçlü antimikrobiyal peptid olan defensinleri eksprese etmezler. Antibiyotik etkinliğinin insan birincil hücreleri ve yakın zamanda geliştirilen hümanize fare hatları kullanılarak incelenmesi, fare ilgisinden insan ilgisine kadar olan boşluğu kapatmak için teşvik edilmesinin enfeksiyonla mücadelede ciddi katkı sunacağını umuyoruz. Benzer şekilde invivo ve invitro olarak biyofilmin engellenmesine yönelik çalışmaların yapılmasında fayda vardır. Ayrıca Kongo kırmızısı benzeri ayıraçların kullanılması ile biyofilm araştırma yöntemlerinin kullanılmasının enfeksiyonla mücadelede hız kazandıracağını düşünmekteyiz.

16S rRNA'daki mutasyonların varlığını tespit etmek ve mutasyonların engellenmesi ya da oluşmuş mutasyonların ortadan kaldırılması ile ilgili çalışmalara odaklanmak da önem arz etmektedir.



7. KAYNAKLAR

- Aboelnaga, N., Elsayed, S. W., Abdelsalam, N. A., Salem, S., Saif, N. A., Elsayed, M., Ayman, S., Nasr, M., & Elhadidy, M. (2024). Deciphering the dynamics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm formation: from molecular signaling to nanotherapeutic advances. *Cell Communication and Signaling*, 22(1), 1–28. <https://doi.org/10.1186/s12964-024-01511-2>
- Ahmad-Mansour, N., Loubet, P., Pouget, C., Dunyach-Remy, C., Sotto, A., Lavigne, J. P., & Molle, V. (2021). *Staphylococcus aureus* toxins: An update on their pathogenic properties and potential treatments. *İçinde Toxins* (C. 13, Sayı 10). MDPI. <https://doi.org/10.3390/toxins13100677>
- Alen S, Koneman E, Janda W, Schreckenberger P, Winn W, Woods G, P. G. (1997). *Staphylococci and related organism*. In: Eds. *İçinde Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th Ed, Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins.*
- Alen S, E. (2017). The gram-positive cocci. *İçinde Lippincott Williams &Wilkins. (Ed.), Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology (5th Ed).*
- Alfatih, Y. M., Idris, A. B., Hassan, H. G., & Nour, E. O. M. (2018). Detection of a novel mutation G511T in the 530 loop in 16S rRNA in multi drugs resistant Mycobacterium. *bioRxiv*.
- Ali, A., & Riaz, S. (2024). Jo ur of. *Infection, Genetics and Evolution*, 105592. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2024.105592>
- Arias, C. A., & Jinnethe, R. (2017). A Prospective Cohort Multicenter Study of Molecular Epidemiology and Phylogenomics of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(10), 1–13. <https://doi.org/10.1128/AAC.00816-17>.
- Ariza-Miguel, J., Hernández, M., Fernández-Natal, I., & Rodríguez-Lázaro, D. (2014). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harboring mecC in livestock in Spain. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(11), 4067–4069. <https://doi.org/10.1128/JCM.01815-14>
- Başustaoğlu AC. (2010). *Stafilokoklar ve benzer gram pozitif koklar* (P. M. T. M. Murray PR, Rosenthal KS (ed.); 6. baskı). Atlas Kitapçılık.
- Bien, J., Sokolova, O., & 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. 2011.* <https://doi.org/10.4061/2011/601905>
- Bilgehan H. (2004). Gram Olumlu Koklar. *İçinde Klinik Mikrobiyolojik Tanı* (4. Baskı, ss. 495–523). Fakülteler Kitabevi Bariş Yayınları.
- Bitrus AA, Peter OM, Abbas MA, G. M. (2018). taphylococcus aureus: A Review of Antimicrobial Resistance Mechanisms. *Archives of Anesthesiology and Critical Care*, 4(4), 527–534.
- Brandis, G., Cao, S., Huseby, D. L., & Hughes, D. (2017). Having your cake and eating it-staphylococcus aureus small colony variants can evolve faster growth rate without losing their antibiotic resistance. *Microbial Cell*, 4(8), 275–277. <https://doi.org/10.15698/mic2017.08.587>
- Brewer, T. E., Albertsen, M., Edwards, A., Kirkegaard, R. H., Rocha, E. P. C., & Fierer, N. (2020). Unlinked rRNA genes are widespread among bacteria and archaea. *ISME Journal*, 14(2), 597–608. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0552-3>
- Brown, M. L., O'Hara, F. P., Close, N. M., Mera, R. M., Miller, L. A., Suaya, J. A., & Amrine-Madsen, H. (2012). Prevalence and sequence variation of panton-valentine leukocidin in methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains in the United States. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(1), 86–90. <https://doi.org/10.1128/JCM.05564-11>
- Bukowski, M., Wladyka, B., & Dubin, G. (2010). Exfoliative toxins of *Staphylococcus aureus*. *Toxins*, 2(5), 1148–1165. <https://doi.org/10.3390/toxins2051148>
- Butrico, C. E., & Cassat, J. E. (2020). Quorum sensing and toxin production in staphylococcus aureus osteomyelitis: Pathogenesis and paradox. *Toxins*, 12(8), 1–22. <https://doi.org/10.3390/toxins12080516>
- Cheung, G. Y. C., Bae, J. S., & Otto, M. (2021). Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *İçinde Virulence* (C. 12, Sayı 1, ss. 547–569). Bellwether Publishing, Ltd. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1878688>

- Choudhary, K. S., Mih, N., Monk, J., Kavvas, E., Yurkovich, J. T., Sakoulas, G., & Palsson, B. O. (2018). The *Staphylococcus aureus* two-component system AgrAC displays four distinct genomic arrangements that delineate genomic virulence factor signatures. *Frontiers in Microbiology*, 9(MAY). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01082>
- Darboe, S., Dobreniecki, S., Jarju, S., Jallow, M., Mohammed, N. I., Wathuo, M., Ceesay, B., Tweed, S., Roy, R. B., Okomo, U., Kwambana-Adams, B., Antonio, M., Bradbury, R. S., De Silva, T. I., Forrest, K., Roca, A., Lawal, B. J., Nwakanma, D., & Secka, O. (2019). Prevalence of Pantone-Valentine Leukocidin (PVL) and Antimicrobial Resistance in Community-Acquired Clinical *Staphylococcus aureus* in an Urban Gambian Hospital: A 11-year period retrospective pilot study. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9(MAY), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00170>
- Davis, S. L., Perri, M. B., Donabedian, S. M., Manierski, C., Singh, A., Vager, D., Haque, N. Z., Speirs, K., Muder, R. R., Robinson-Dunn, B., Hayden, M. K., & Zervos, M. J. (2007). Epidemiology and outcomes of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(6), 1705–1711. <https://doi.org/10.1128/JCM.02311-06>
- Dendani Chadi, Z., & Arcangioli, M. A. (2023). Pulsed-Field Gel Electrophoresis Analysis of Bovine Associated *Staphylococcus aureus*: A Review. *Pathogens*, 12(7), 1–20. <https://doi.org/10.3390/pathogens12070966>
- Dhungel, S., Rijal, K. R., Yadav, B., Dhungel, B., Adhikari, N., Shrestha, U. T., Adhikari, B., Banjara, M. R., & Ghimire, P. (2021). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): Prevalence, Antimicrobial Susceptibility Pattern, and Detection of mec A Gene among Cardiac Patients from a Tertiary Care Heart Center in Kathmandu, Nepal. *Infectious Diseases: Research and Treatment*, 14, 117863372110373. <https://doi.org/10.1177/11786337211037355>
- Dinges, M. M., Orwin, P. M., & Schlievert, P. M. (2000). Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(1), 16–34. <https://doi.org/10.1128/CMR.13.1.16-34.2000>
- Doğan, B., Palaz, M., & İzgür, M. (2018). Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* ve Önemi. İçinde *Etlik Vet Mikrobiyol Derg* (C. 29, Sayı 2). <http://vetkontrol.tarim.gov.tr/merkez>
- Duman, Y., Tekeroglu, M. S., & Oflu, B. (2013). Toplum ve hastane kökenli *Staphylococcus aureus* klinik izolatlarında Pantone-Valentine lökositidin varlığının ve klonal ilişkisinin araştırılması TT - [Investigation of the presence of Pantone-Valentine leukocidin and clonal relationship of community- and hosp. *Mikrobiyol Bul*, 47(3), 389–400. <http://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/mdl-23971918>
- DuMont, A. L., Yoong, P., Day, C. J., Alonzo, F., McDonald, W. H., Jennings, M. P., & Torres, V. J. (2013). *Staphylococcus aureus* LukAB cytotoxin kills human neutrophils by targeting the CD11b subunit of the integrin Mac-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(26), 10794–10799. <https://doi.org/10.1073/pnas.1305121110>
- Dunman, P. M., Murphy, E., Haney, S., Palacios, D., Tucker-Kellogg, G., Wu, S., Brown, E. L., Zagursky, R. J., Shlaes, D., & Projan, S. J. (2001). Transcription profiling-based identification of *Staphylococcus aureus* genes regulated by the agr and/or sarA loci. *Journal of Bacteriology*, 183(24), 7341–7353. <https://doi.org/10.1128/JB.183.24.7341-7353.2001>
- Erdem. (2011). *METİSİLİN DİRENÇLİ Staphylococcus aureus SUŞLARININ MOLEKÜLER TİPLENDİRMESİ*. ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ.
- Ergon, M. C., Bıçmen, M., Gülay, Z., Eylül, D., Deü, Ü., & Fakültesi, T. (2010). *Dokuz EylÜniversitesiHastanesi 'NdekiDominaMetisilinDirençli Staphylococcus Aureus Suşunun Moleküler YöntemleTiplendirilmesi* *. 24(2), 65–70.
- Fisher, E. L., Otto, M., & Cheung, G. Y. C. (2018). Basis of virulence in enterotoxin-mediated staphylococcal food poisoning. *Frontiers in Microbiology*, 9(MAR), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00436>
- Freeman, D. J., Falkiner, F. R., & Patrick, S. (1989). FREEMAN; FALKINER; KEANE, 1989.pdf. *Journal of clinical pathology*, 872–874.
- Gilot, P., Lina, G., Cochard, T., & Poutrel, B. (2002). Analysis of the Genetic Variability of Genes Encoding the RNA III-Activating Components Agr and TRAP in a Population of. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(11), 4060–4067. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.11.4060>
- Gumaa, M. A., Idris, A. B., Bilal, N. E., & Hassan, M. A. (2021). First insights into molecular basis identification of 16 s ribosomal RNA gene of *Staphylococcus aureus* isolated from Sudan. *BMC Research Notes*, 14(1), 1–5. <https://doi.org/10.1186/s13104-021-05569-w>

- GÜNDOĞ, D. A., GÜNGÖR, G., GÜNGÖR, C., ERTAŞ ONMAZ, N., & GÖNÜLALAN, Z. (2023). Çeşitli Gıda Kaynaklı Patojenik Bakterilerin Biyofilm Oluşturma Yeteneklerinin Tespitinde Kongo Kırmızısı Agar'ın Etkinliğinin Değerlendirilmesi. *Bozok Veterinary Sciences*, 4(1), 18–26. <https://doi.org/10.58833/bozokvetsci.1287983>
- GÜR VURAL, D., BIYIK, İ., TORUN, E. G., TANRIVERDİ ÇAYCI, Y., BİLGİN, K., & BİRİNCİ, A. (2023). Staphylococcus aureus İzolatlarının Biyofilm Oluşturma Özelliklerinin Karşılaştırılması. *Sağlık Bilimlerinde Değer*, 13(2), 245–249. <https://doi.org/10.33631/sabd.1212896>
- Hasan, R. (2022). PCR KISITLAMA FRAGMAN UZUNLUĞU POLİMORFİZMİ VE VİRÜLANS FAKTÖRÜ GENİNİN DNA SIRASI ANALİZİNE DAYANAN STAPHYLOCOCCUS AUREUS'UN MOLEKÜLER ÇALIŞMASI. Çankırı Karatekin Üniversitesi.
- Hassanin, D. K. (2022). Staphylococcal scalded skin syndrome. <https://dermnetnz.org/topics/staphylococcal-scalded-skin-syndrome#>. <https://dermnetnz.org/topics/staphylococcal-scalded-skin-syndrome#>
- Hennekinne, J. A., De Buyser, M. L., & Dragacci, S. (2012). Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: Characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(4), 815–836. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00311.x>
- Hesari, M. R., Salehzadeh, A., & Darsanaki, R. K. (2018). Prevalence and molecular typing of methicillin-resistant staphylococcus aureus carrying panton-valentine leukocidin gene. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 65(1), 93–106. <https://doi.org/10.1556/030.64.2017.032>
- Hortaç, E. (2016). Investigation of Methicillin Resistance in Staphylococcus aureus Isolates by Using Disc Diffusion, Chromogenic Media, Gradient Diffusion Test, Oxacillin Agar Screening Methods. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*. <https://doi.org/10.5222/tmcd.2016.040>
- Hou, L., Ye, M., Wang, X., Zhu, Y., Sun, X., Gu, R., Chen, L., & Fang, B. (2024). Synergism with Shikimic Acid Restores β -Lactam Antibiotic Activity against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. 1–15.
- Hu, D. L., Li, S., Fang, R., & Ono, H. K. (2021). Update on molecular diversity and multipathogenicity of staphylococcal superantigen toxins. *Animal Diseases*, 1(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s44149-021-00007-7>
- Huang, Q., Xie, Y., Yang, Z., Cheng, D., He, L., Wang, H., Liu, Q., & Li, M. (2021). The cytoplasmic loops of AgrC contribute to the quorum-sensing activity of Staphylococcus aureus. *Journal of Microbiology*, 59(1), 92–100. <https://doi.org/10.1007/s12275-021-0274-x>
- Itou, T., Katayama, Y., & Hiramatsu, K. (2000). A new mobile genetic element, staphylococcal cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in Staphylococcus aureus. *Nippon saikingaku zasshi. Japanese journal of bacteriology*, 55(3), 483–498. <https://doi.org/10.3412/jsb.55.483>
- Jain, A., & Agarwal, A. (2009). Biofilm production, a marker of pathogenic potential of colonizing and commensal staphylococci. *Journal of Microbiological Methods*, 76(1), 88–92. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2008.09.017>
- Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2007). 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: Pluses, perils, and pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(9), 2761–2764. <https://doi.org/10.1128/JCM.01228-07>
- Kaplan SL HK, M. E. (2018). *Staphylococcus aureus Infections (Coagulase-Positive Staphylococci)* (H. P. Cherry JD KS, Steinbach WJ (ed.); 8th baskı).
- Karbuç, A. (2012). YOĞUN BAKIM ÜNİTESİNDE YATAN HASTALARDAN ÜRETİLEN STAPHYLOCOCCUS AUREUS'LAR İÇİN KONAK RİSK FAKTÖRLERİNİN VE S.AUREUS VİRÜLANS FAKTÖRLERİNDEN OLAN PANTON-VALENTİN LÖKOSİDİN(PVL) GENİNİN ARAŞTIRILMASI. DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ.
- Karbuç, A. (2013). ÇOCUKLARDA TOPLUM KÖKENLİ ve HASTANE KÖKENLİ ENFEKSİYON ETKENİ OLAN STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI ve VİRÜLANS FAKTÖRLERİ AÇISINDAN KARŞILAŞTIRILMASI. ANKARA ÜNİVERSİTESİ.
- Kawasaki, S., Fratamico, P. M., Wesley, I. V., & Kawamoto, S. (2008). Species-specific identification of Campylobacters by PCR-restriction fragment length polymorphism and PCR targeting of the gyrase B gene. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(8), 2529–2533. <https://doi.org/10.1128/AEM.00975-07>
- Kaya, İ. B., & Yardımcı, H. (2014). Quorum Sensing. *Etlik Vet Mikrobiyol Dergisi*, 25(1), 25–31.

- Khosravi, A. D., Hoveizavi, H., Farshadzadeh, Z. (2012). The prevalence of genes encoding leukocidins in *Staphylococcus aureus* strains resistant and sensitive to methicillin isolated from burn patients in Taleghani Hospital. *BURNS*, 38, 247–251.
- Kim, M. K., Zhao, A., Wang, A., Brown, Z. Z., Muir, T. W., Stone, H. A., & Bassler, B. L. (2017). Surface-attached molecules control *Staphylococcus aureus* quorum sensing and biofilm development. *Nature Microbiology*, 2. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.80>
- Kırmusaoğlu, S. (2017). The comparison of methods used for the detection of biofilm formation that cause antibiotic resistance of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. *Ortadoğu Tıp Dergisi*, 9(1), 28–33. <https://doi.org/10.21601/ortadogutipdergisi.299940>
- Leob Leo. (1903). THE INFLUENCE OF CERTAIN BACTERIA ON THE COAGULATION OF THE BLOOD. *J Med Res.*, 10(3), 407–419.
- Leonard FC, Abbott Y, Rossney A, Quinn PJ, O'Mahony R, M. B. (2006). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from a veterinary surgeon and five dogs in one practice. *Vet Rec.* 2006 Feb 4;158(5):155-9. doi: 10.1136/vr.158.5.155. PMID: 16461622. *Vet Rec.*, 158(5), 155. <https://doi.org/10.1136/vr>
- Letizia, M., Mellini, M., Fortuna, A., Visca, P., Imperi, F., Leoni, L., & Rampioni, G. (2022). PqsE Expands and Differentially Modulates the RhlR Quorum Sensing Regulon in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology Spectrum*, 10(3). <https://doi.org/10.1128/spectrum.00961-22>
- Lima, D. F., Brazao, N. B., Folescu, T. W., Neves, F. P., Ferreira, A. G., Santos, E. A., Marques, E. A., Leao, R. S. (2014). anton–Valentine leukocidin (PVL) gene carriage among *Staphylococcus aureus* strains with SCCmectypes I, III, IV, and V recovered from cystic fibrosis pediatric patients in Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 78, 59–62.
- Lin, M. H., Liu, C. C., Lu, C. W., & Shu, J. C. (2024). *Staphylococcus aureus* foldase PrsA contributes to the folding and secretion of protein A. *BMC Microbiology*, 24(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03268-7>
- Lina, G., Bohach, G. A., Nair, S. P., Hiramatsu, K., Jouvin-Marche, E., & Mariuzza, R. (2004). Standard nomenclature for the superantigens expressed by *Staphylococcus*. *Journal of Infectious Diseases*, 189(12), 2334–2336. <https://doi.org/10.1086/420852>
- Lina, G., Jarraud, S., Ji, G., Greenland, T., Pedraza, A., Etienne, J., Novick, R. P., & Vandenesch, F. (1998). Transmembrane topology and histidine protein kinase activity of AgrC, the agr signal receptor in *Staphylococcus aureus*. *Molecular Microbiology*, 28(3), 655–662. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00830.x>
- Lous, J., Ryborg, C. T., & Thomsen, J. L. (2011). A systematic review of the effect of tympanostomy tubes in children with recurrent acute otitis media. İçinde *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* (C. 75, Sayı 9). <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2011.05.009>
- Luo, Z. X., Li, Y., Liu, M. F., & Zhao, R. (2023). Ciprofloxacin enhances the biofilm formation of *Staphylococcus aureus* via an agrC-dependent mechanism. *Frontiers in Microbiology*, 14(December), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1328947>
- Mamoun, M., M, E. S., Enan, K. A., Abdo, A. E., & Hassan, M. A. (2015). Molecular Identification Of 16s Ribosomal RNA Gene of *Helicobacter pylori* Isolated from Gastric Biopsies in Sudan. *American Journal of Microbiological Research*, 3(2), 50–54. <https://doi.org/10.12691/ajmr-3-2-1>
- Marcinkiewicz, J., Strus, M., & Pasich, E. (2013). Antibiotic resistance: A “dark side” of biofilm-associated chronic infections. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*, 123(6), 309–313. <https://doi.org/10.20452/pamw.1780>
- McCarthy, H., Rudkin, J. K., Black, N. S., Gallagher, L., O'Neill, E., & O'Gara, J. P. (2015). Methicillin resistance and the biofilm phenotype in *staphylococcus aureus*. İçinde *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* (C. 5). Frontiers Research Foundation. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00001>
- Melo, P. de C., Menezes Ferreira, L., Nader Filho, A., Francisco Zafalon, L., Godoy Vicente, H. I., & de Souza, V. (2013). Comparison of methods for the detection of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(1), 119–124. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013005000031>
- Messias, A. C. M. C., Gama, A. R., de Almeida Prado, L. S., da Silva, P. A. N., Galvão Filho, A. R., Coelho, C.

- J., Avelino, M. A. G., Vieira, J. D. G., & Carneiro, L. C. (2023). Detection of Oxacillin/Cefoxitin Resistance in *Staphylococcus aureus* Present in Recurrent Tonsillitis. *Microorganisms*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030615>
- Mohimani, H., Gurevich, A., Mikheenko, A., Garg, N., Nothias, L.-F., Ninomiya, A., Kentaro Takada, P. C. D., & Pevzner, P. A. (2017). CCR5 is a receptor for *Staphylococcus aureus* leukotoxin ED. *Physiology & behavior*, 176(3), 139–148. <https://doi.org/10.1038/nature11724.CCR5>
- Murray PR, Rosenthal KS, P. M. T. M. (2010). *Stafilokoklar ve benzer gram pozitif koklar* (Baştasaoğlu AC (ed.); 6. Baskı).
- Obasuyi, O., McClure, J., Oronsaye, F. E., Akerele, J. O., Conly, J., & Zhang, K. (2020). Molecular characterization and pathogenicity of *staphylococcus aureus* isolated from Benin-City, Nigeria. *Microorganisms*, 8(6), 1–19. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060912>
- Ogston, A. (1882). *Micrococcus* Poisoning. *Journal of Anatomy and Physiology*, 17(Pt 1), 24–58. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1310127/pdf/janatphys00147-0031.pdf>
- Osman, N. A. M., Alrayah, I. E., Mohamed, Y. M., El-Eragi, A. M., Eldirdery, M. M., & Salih, M. A. (2015). Molecular Study of Panton-Valentine Leukocidin Genes among *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates in Khartoum State, Sudan. *American Journal of Microbiological Research*, 3(3), 107–111. <https://doi.org/10.12691/ajmr-3-3-2>
- Otokunefor, K., Sloan, T., Kearns, A. M., & James, R. (2012). Molecular characterization and Panton-Valentine leucocidin typing of community-acquired methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(9), 3069–3072. <https://doi.org/10.1128/JCM.00602-12>
- Otto, M. (2014). *Staphylococcus aureus* toxins. İçinde *Current Opinion in Microbiology* (C. 17, Sayı 1, ss. 32–37). <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.11.004>
- Otto, M. (2018). Staphylococcal biofilms. *Microbiology Spectrum*, 6(4), 139–148. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0023-2018.Staphylococcal>
- Parks, T., Wilson, C., Curtis, N., Norrby-Teglund, A., & Sriskandan, S. (2018). Polyspecific intravenous immunoglobulin in clindamycin-treated patients with streptococcal toxic shock syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases*, 67(9), 1434–1436. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy401>
- Pervanlar, A. (2020). MALTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ÇOCUK YAŞ GRUBUNDA BURUN SÜRÜNTÜSÜNDE MRSA (METİSİLİNE DİRENÇLİ STAPHYLOCOCCUS AUREUS) TAŞIYICILIĞININ VE RİSK FAKTÖRLERİNİN BELİRLENMESİ İLE MRSA GENOTİPLENDİRMESİ MALTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ. ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI UZMANLIK TEZİ.
- Pezato, R., Świerczyńska-Krępa, M., Nizankowska-Mogilnicka, E., Derycke, L., Bachert, C., & Pérez-Novo, C. A. (2012). Role of imbalance of eicosanoid pathways and staphylococcal superantigens in chronic rhinosinusitis. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 67(11), 1347–1356. <https://doi.org/10.1111/all.12010>
- Pinchuk, I. V., Beswick, E. J., & Reyes, V. E. (2010). Staphylococcal Enterotoxins. *Toxins*, 2(8), 2177–2197. <https://doi.org/10.3390/toxins2082177>
- Rosenbach, F. J. (1984). Mikro-organismen bei den Wund-Infections-Krankheiten des Menschen. İçinde *Mikro-organismen bei den Wund-Infections-Krankheiten des Menschen* (Sayı 0). <https://doi.org/10.5962/bhl.title.22955>
- Rutherford, S. T., & Bassler, B. L. (2012). Bacterial quorum sensing: Its role in virulence and possibilities for its control. İçinde *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* (C. 2, Sayı 11). Cold Spring Harbor Laboratory Press. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012427>
- Salgado-Pabón, W., Breshears, L., Spaulding, A. R., Merriman, J. A., Stach, C. S., Horswill, A. R., Peterson, M. L., & Schlievert, P. M. (2013). Superantigens are critical for *Staphylococcus aureus* infective endocarditis, sepsis, and acute kidney injury. *mBio*, 4(4). <https://doi.org/10.1128/mBio.00494-13>
- Sancak, B. (2012). MrsaDirençMekanizmaları : Dünyada VeTürkiye’de Epidemiyolojisi. *Ankem Derg*, 26(Ek 2), 38–47.
- Sawhney, S. S., Ransom, E. M., Wallace, M. A., Reich, P. J., Dantas, G., & Burnham, C. A. D. (2022). Comparative Genomics of Borderline Oxacillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Detected during a

- Pseudo-outbreak of Methicillin-Resistant *S. aureus* in a Neonatal Intensive Care Unit. *mBio*, 13(1). <https://doi.org/10.1128/MBIO.03196-21>
- Seike, T., Kanaya, T., & Oishi, N. (2022). Menstrual toxic shock syndrome. *Cmaj*, 194(15), E555. <https://doi.org/10.1503/CMAJ.211284>
- Shakya, P., Nayak, A., Jogi, J., Rai, A., Bordoloi, S., Scholar, H. K., Sharma, R., Singh, A., Singh, R., Lade, A., & Sehar, R. (2022). Phenotypic detection and comparison of biofilm production in methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. ~ 1352 ~ *The Pharma Innovation Journal*, 11(3), 1352–1357. <http://www.thepharmajournal.com>
- Shallcross, L. J., Fragaszy, E., Johnson, A. M., & Hayward, A. C. (2013). The role of the Pantone-Valentine leucocidin toxin in staphylococcal disease: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, 13(1), 43–54. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(12\)70238-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(12)70238-4)
- Silva, V., Gabriel, S. I., Borrego, S. B., & Tejedor-junco, M. T. (2021). Antimicrobial Resistance and Genetic Lineages of *Staphylococcus aureus* from Wild Rodents : First Report of in Portugal. *Animal Diseases*.
- Spaan, A. N., Van Strijp, J. A. G., & Torres, V. J. (2017). Leukocidins: Staphylococcal bi-component pore-forming toxins find their receptors. *Nature Reviews Microbiology*, 15(7), 435–447. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.27>
- Srivastava, S. K., Rajasree, K., Fasim, A., Arakere, G., & Gopal, B. (2014). Influence of the AgrC-AgrA complex on the response time of *Staphylococcus aureus* quorum sensing. *Journal of Bacteriology*, 196(15), 2876–2888. <https://doi.org/10.1128/JB.01530-14>
- Sudağidan, M., Çavuşoğlu, C., & Bacakoğlu, F. (2008). BİYOMALZEME YÜZEYLERİNDEN İZOLE EDİLEN METİSİLİNE DİRENÇLİ STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUŞLARINDA VİRÜLANS GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI* INVESTIGATION OF THE VIRULENCE GENES IN METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS STRAINS ISOLATED FROM BIOMATERIAL SURFACES. *mikrobiyoloji bülteni*, 42, 29–39.
- Sutton, J. A. F., Carnell, O. T., Lafage, L., Gray, J., Biboy, J., Gibson, J. F., Pollitt, E. J. G., Tazoll, S. C., Turnbull, W., Hajdamowicz, N. H., Salamaga, B., Pidwill, G. R., Condliffe, A. M., Renshaw, S. A., Vollmer, W., & Foster, S. J. (2021). *Staphylococcus aureus* cell wall structure and dynamics during host-pathogen interaction. *PLoS Pathogens*, 17(3), 1–30. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1009468>
- Suzuki, E., Hiramatsu, K., & Yokota, T. (1992). Survey of methicillin-resistant clinical strains of coagulase-negative *Staphylococci* for *mecA* gene distribution. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 36(2), 429–434. <https://doi.org/10.1128/AAC.36.2.429>
- Temel, A., & Eraç, B. (2018). Bacterial Biofilms: Detection Methods and Role in Antibiotic Resistance. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 48(1), 1–13. <https://doi.org/10.5222/tmcd.2018.001>
- Thurlow, L. R., Hanke, M. L., Fritz, T., Angle, A., Aldrich, A., Williams, S. H., Engebretsen, I. L., Bayles, K. W., Horswill, A. R., & Kielian, T. (2011). *Staphylococcus aureus* Biofilms Prevent Macrophage Phagocytosis and Attenuate Inflammation In Vivo . *The Journal of Immunology*, 186(11), 6585–6596. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1002794>
- Türkyilmaz S, Tekbiyik S, Oryasin E, B. B. (2010). Molecular epidemiology and antimicrobial resistance mechanisms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bovine milk. *Zoonoses Public Health*, 57(3), 197–203.
- UCHIYAMA, T., ARAAKE, M., YAN, X. J., MIYANAGA, Y., & IGARASHI, H. (1992). Involvement of HLA class II molecules in acquisition of staphylococcal enterotoxin A-binding activity and accessory cell activity in activation of human T cells by related toxins in vascular endothelial cells. *Clinical & Experimental Immunology*, 87(2), 322–328. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.1992.tb02995.x>
- Voyich, J. M., Vuong, C., DeWald, M., Nygaard, T. K., Kocianova, S., Griffith, S., Jones, J., Iverson, C., Sturdevant, D. E., Braughton, K. R., Whitney, A. R., Otto, M., & DeLeo, F. R. (2009). The SaeR/S gene regulatory system is essential for innate immune evasion by *Staphylococcus aureus*. *Journal of Infectious Diseases*, 199(11), 1698–1706. <https://doi.org/10.1086/598967>
- Wenzel RP, Reagan DR, Bertino JS Jr, Baron EJ, A. K. (1998). Wenzel RP, Reagan DR, Bertino JS Jr, Baron EJ, Arias K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak: a consensus panel's definition and management guidelines. *Am J Infect Control*. 1998 Apr;26(2):102-10. doi: 10.1016/s0196-6553(98)80029-1. PMID: 9. *Am J Infect Control*., 26(2), 102. [https://doi.org/10.1016/s0196-6553\(98\)80029-1](https://doi.org/10.1016/s0196-6553(98)80029-1)

- Wieczorek, M., Abualrous, E. T., Sticht, J., Álvaro-Benito, M., Stolzenberg, S., Noé, F., & Freund, C. (2017). Major histocompatibility complex (MHC) class I and MHC class II proteins: Conformational plasticity in antigen presentation. *Frontiers in Immunology*, 8(MAR), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00292>
- Wieser A, Schneider L, J., & J, S. S. (2012). MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics-identification of microorganisms and beyond (mini review). 93(3): 965-74, 2012.MALDI-TOF MS in. *Appl Microbiol Biotechnology*, 93(3), 965–974. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3783-4>
- Williams, P., Hill, P., Bonev, B., & Chan, W. C. (2023). Quorum-sensing, intra- and inter-species competition in the staphylococci. *Microbiology*, 169(8). <https://doi.org/10.1099/mic.0.001381>
- Winn W. (2006). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* (6. baskı). Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.
- Wright, J. S., Jin, R., & Novick, R. P. (2005). Transient interference with staphylococcal quorum sensing blocks abscess formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(5), 1691–1696. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407661102>
- Yang, B., Wang, Y., & Qian, P. Y. (2016). Sensitivity and correlation of hypervariable regions in 16S rRNA genes in phylogenetic analysis. *BMC Bioinformatics*, 17(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12859-016-0992-y>
- Yaşar, N., Katranci, H., Atay, A. Ç. A. Ğ., Derbentli, Ş. İ., Fakültesi, İ. T., Mikrobiyoloji, K., Dalı, A., & İstanbul, İ. (2004). İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ'NDE ÇEŞİTLİ ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN STAFİLOKOK SUŞLARINDA GLİKOPEPTİT DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI. *ANKEM Dergisi*, 18(4), 209–212.
- Yiğit, Ö. D. (2013). ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUŞLARINDA PANTON- VALENTIN LÖKOSİDİN TOKSİNİNİN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU İLE ARAŞTIRILMASI. PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ.
- Zhang, X., Hu, X., & Rao, X. (2017). Apoptosis induced by Staphylococcus aureus toxins. İçinde *Microbiological Research* (C. 205, ss. 19–24). Elsevier GmbH. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.08.006>
- Zhu, M., Qu, J., & Deng, Q. (2024). Identification of potential inhibitors against Staphylococcus aureus shikimate dehydrogenase through virtual screening and susceptibility test. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 39(1). <https://doi.org/10.1080/14756366.2024.2301768>



8. EKLER

8.1. Etik Kurul Sonuç Raporu

T.C. NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ DIŞI ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI	
Toplantı Sayısı:176	Toplantı Tarihi: 22 Mayıs 2023

Karar Sayısı:2023/4342:(Başvuru ID:14282) N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Metin DOĞAN'ın "Staphylococcus Aureus Klinik Suşlarında Virülans Faktörleri ve Quorum Sensing Genlerinin Araştırılması" başlıklı yüksek lisans tez çalışması ile ilgili 13.05.2023 tarihli dilekçesi ve ekleri görüşüldü. Yüksek lisans öğrencisi Ayşegül GÜRBAK'ın tez çalışmasının N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Metin DOĞAN'ın sorumluluğunda yürütülmesinin uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.
Not: Çalışma ile ilgili gerekli izinlerin alınması ve yasal sorumluluk araştırmacılara aittir.
Sorumlu Araştırmacı: Prof. Dr. Metin DOĞAN
Yardımcı Araştırmacılar: Yüksek Lisans Öğrencisi Ayşegül GÜRBAK, Arş. Gör. Dr. Said Ramazan GÜLBAY

ASLI GİBİDİR
22.05.2023

Prof. Dr. Saim AÇIKGÖZOĞLU
İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurul Başkanı