

T.C
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI



**FARKLI KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN METİSİLİN
DİRENÇLİ VEDUYARLI STAPHYLOCOCCUS AUREUS
SUŞLARININ TOKSİN PROFİLİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mücella BAYIRLI

Danışman

Prof. Dr. Özkan ASLANTAŞ

Hatay 2021

T.C
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

**FARKLI KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN METİSİLİN
DİRENÇLİ VE DUYARLI STAPHYLOCOCCUS AUREUS
SUŞLARININ TOKSİN PROFİLİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi
Mücella BAYIRLI

Danışman
Prof. Dr. Özkan ASLANTAŞ

Bu tez, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü
Birimi tarafından 19.YL.051 nolu proje olarak desteklenmiştir.

T.C
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

**FARKLI KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN METİSİLİN
DİRENÇLİ VE DUYARLI STAPHYLOCOCCUS AUREUS
SUŞLARININ TOKSİN PROFİLİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mücella BAYIRLI

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 10.02.2021 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oyçokluğu/oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez jürisi: Jüri Başkanı : Prof. Dr. Özkan ASLANTAŞ

Üye : Prof. Dr. Burçin ÖZER

Üye : Prof. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ

Bu tez, Enstitümüz Mikrobiyoloji (Tıp) Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Prof. Dr. İbrahim Halil ÇERÇİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca sabrını ve emeğini bendenesirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Özkan ASLANTAŞ'a;

Kıymetli bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr.Nizami DURAN ve Sayın Prof. Dr. Burçin ÖZER'e;

Tez çalışmamda emeği olan ve güler yüzlülüğünü benden esirgemeyen Sayın Uzm. Dr. Fatma BAĞCI'ya;

Kattıkları bilgi, tecrübe ve dostluklarından dolayı Uzman Funda ÇİMENAÇIKGÜL'e, Uzman Emrah AY'a ve Dr. Tuba KAYA'ya;

Çalışmamda emeği geçen Emine HAMŞUOĞLU'na, Uzman Elif YAPRAK'a;Uzman Sibel DAĞLI'ya;

İzolatları toplamamda yardımcı olan, emeklerini esirgemeyen tüm MikrobiyolojiLaboratuvarı çalışanlarına;

Bu günlere gelmemde maddi ve manevi her zaman desteklerini hissettiğim sevgili annem Hatice BAYIRLI'ya, sevgili babam Mustafa BAYIRLI'ya, sevgili kız kardeşlerim Ayşe BAYIRLI'ya, Muazzez ÇELİK'e, ayrıca sevgili arkadaşım Leyla EREN'e;

Son olarak sabrından ve desteğinden ötürü sevgili hayat arkadaşım Yusuf NACAROĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
Kabul ve Onay.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV-V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII-IX
ÖZET.....	X
ABSTRACT.....	XI
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Etiyoloji, Epidemiyoloji ve Patogenezis.....	2
2.2. <i>Staphylococcus aureus</i> Tarafından Sentezlenen Toksinler.....	6
2.2.1. Por Oluşturan Toksinler.....	6
2.2.1.1. Hemolizinler.....	6
2.2.1.2. Lökotoksinler.....	10
2.2.1.3. Fenolde Çözünen Modüller (PSM'ler).....	13
2.2.2. Eksfoliyatif Toksinler (ET'ler).....	14
2.2.3. Süperantijenler (SAg'ler).....	16
2.2.3.1. Toksik Şok Sendrom Toksin-1 (TSST-1).....	17
2.2.3.2. Stafilokokal Enterotoksin (SE)'ler	19
2.3. Agr Sistemi.....	32
2.3.1. RNA III-Bağımlı Gen Regülasyonu	34
2.3.2. RNA III-Bağımsız Gen Regülasyonu.....	35
2.3.3. Agr sisteminin Akut Enfeksiyon ve Toksisite Üzerine Etkisi.....	35
2.3.4. Agr sistemi Tarafından Kontrol Edilen Virulans Determinantlar.....	36
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	39

3.1. Gereç.....	39
3.2. Yöntem.....	39
3.2.1. <i>S.aureus</i> izolatların fenotipik ve genotipik identifikasyonu.....	39
3.2.2. DNA izolasyonu.....	39
3.2.3. <i>mecA</i> geninin PZR ile tespit edilmesi.....	39
3.2.4. Stafilokokal enterotoksin (SE) genlerinin araştırılması.....	40
3.2.5. TSST-1ve ET genlerinin araştırılması.....	43
3.2.6. Lökositin ve hemolizin genlerinin araştırılması.....	43
3.2.7. Agr tiplerinin belirlenmesi.....	44
3.2.8. İstatistiksel analiz.....	44
4. BULGULAR.....	45
4.1. Agr-Tiplendirme.....	46
4.2. MSSA ve MRSA izolatlarında SE genlerinin dağılımı.....	47
4.2.1. <i>S. aureus</i> izolatlarında <i>sea-sed</i> genlerinin dağılımı.....	47
4.2.2. <i>S. aureus</i> izolatlarında <i>seh, sei, seg, sej, selj, selp</i> genlerinin dağılımı.....	48
4.2.3. <i>S. aureus</i> izolatlarında belirlenen <i>selq, selr, sell, seln</i> genlerinin dağılımı.....	49
4.2.4. <i>S. aureus</i> izolatlarında belirlenen <i>selo, selk, selm</i> genlerinin dağılımı.....	50
4.3. MSSA ve MRSA izolatlarında <i>eta, etb</i> ve <i>tst</i> genlerinin dağılımı.....	53
4.4. MSSA ve MRSA izolatlarında hemolizin genlerinin dağılımı.....	53
4.5. MSSA ve MRSA izolatlarında lökositin genlerinin dağılımı.....	54
4.5.1. MSSA ve MRSA izolatlarında <i>lukED</i> genlerinin dağılımı.....	54
4.5.2. MSSA ve MRSA izolatlarında <i>pvl</i> geninin dağılımı.....	55
5. TARTIŞMA.....	56
6. SONUÇ.....	62
7. KAYNAKLAR.....	63
ÖZGEÇMİŞ.....	75

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa no
Şekil 2.1. <i>S. aureus</i> biyofilm gelişim modeli.....	5
Şekil 2.2. α -hemolizin'in (Hla) etki mekanizması.....	7
Şekil 2.3. Lökotoksinlerin etki mekanizması.....	11
Şekil 2.4. Fenolde çözünen modüller için por formasyon mekanizması.....	14
Şekil 2.5. Stafilokokal eksfoliyatif toksinlerin invazyon ve bulla oluşum modeli.....	15
Şekil 2.6. Süperantijenlerin etki mekanizması.....	17
Şekil 2.7. Stafilokokal enterotoksinlerin regülasyonu	25
Şekil 2.8. Enterotoksine bağlı kusmanın mekanizması.....	29
Şekil 2.9. Stafilokoklarda aksesuar gen regülatör sisteminin kontrolü.....	33
Şekil 4.1. <i>nuc</i> geninin agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	45
Şekil 4.2. <i>mecA</i> geninin agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	45
Şekil 4.3. <i>S. aureus</i> izolatlarında belirlenen <i>agr</i> tiplerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	46
Şekil 4.4. <i>S. aureus</i> izolatlarında belirlenen <i>sea</i> , <i>seb</i> , <i>sec</i> , <i>sed</i> genlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	47
Şekil 4.5. <i>S. aureus</i> izolatlarında belirlenen <i>seg</i> , <i>seh</i> , <i>sei</i> , <i>selj</i> , <i>selp</i> genlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	48
Şekil 4.6. <i>S. aureus</i> izolatlarında belirlenen <i>selq</i> , <i>selr</i> , <i>sell</i> , <i>seln</i> genlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	49
Şekil 4.7. <i>S. aureus</i> izolatlarında belirlenen <i>selo</i> , <i>selk</i> , <i>selm</i> genlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	50
Şekil 4.8. <i>tst</i> , <i>eta</i> ve <i>etb</i> genlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.	53
Şekil 4.9. Hemolizin genlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	54
Şekil 4.10. Lökotoksin ED geninin agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	55
Şekil 4.11. Panton Valentin Lökotoksin geninin agaroz jel elektroforez görüntüsü	55

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 2.1. Lökotoksinlerin "S" ve "F" protein alt üniteleri ve hücre spesifitesi.....	11
Çizelge 2.2. Stafilokokkal enterotoksinlerin emetik ve süperantijenik aktiviteleri.....	22
Çizelge 3.1. <i>S. aureus</i> izolatlarının servislere, hastaların cinsiyet ve yaşlarına göre dağılımı.....	40
Çizelge 3.2. <i>S. aureus</i> izolatlarının klinik servislere ve servislerden gelen materyallere göre dağılımı.....	41
Çizelge 3.3. SE genlerinin amplifikasyonunda kullanılan primerler.....	42
Çizelge 3.4. <i>tst</i> , <i>eta</i> ve <i>etb</i> genlerinin amplifikasyonunda kullanılan primerler.....	43
Çizelge 3.5. Lökosidin ve hemolizin genlerinin belirlenmesinde kullanılan primerler.....	43
Çizelge 3.6. <i>agr</i> tiplerinin belirlenmesinde kullanılan primerler.....	44
Çizelge 4.1. Metisilin dirençli <i>S. aureus</i> suşlarının izole edildikleri klinik materyallere göre dağılımı.....	45
Çizelge 4.2. <i>agr</i> gruplarının MRSA ve MSSA izolatlarına göre dağılımı.....	46
Çizelge 4.3. MSSA ve MRSA izolatlarında belirlenen SAg ve ET toksin genleri.....	47
Çizelge 4.4. <i>sea</i> , <i>seb</i> , <i>sec</i> , <i>sed</i> genlerinin MRSA ve MSSA izolatlarına göre dağılımı.....	48
Çizelge 4.5. <i>seg</i> , <i>seh</i> , <i>sei</i> , <i>selj</i> , <i>selp</i> genlerinin MRSA ve MSSA izolatlarına göre dağılımı.....	49
Çizelge 4.6. <i>selq</i> , <i>selr</i> , <i>sell</i> , <i>seln</i> genlerinin MRSA ve MSSA izolatlarına göre dağılımı.....	50
Çizelge 4.7. <i>selo</i> , <i>selk</i> , <i>selm</i> genlerinin MRSA ve MSSA izolatlarına göre dağılımı.....	51
Çizelge 4.8. <i>S. aureus</i> izolatlarında belirlenen SAg toksin profilleri ve MGE ile ilişkisi.....	52
Çizelge 4.9. MRSA ve MSSA izolatlarında belirlen hemolizin gen kombinasyonları.....	54
Çizelge 4.10 MSSA ve MRSA izolatları arasında <i>pvl</i> geninin dağılımı.....	55

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Agr	: Aksesuar gen regülatör
AIP	: Otomatik indükleyici peptid
APC	: Antijen sunan hücre
ATP	: Adenozin trifosfat
EPS	: Ekzopolimerik substant
ET	: Eksfoliyatif toksin
HK-MRSA	: Hastane kökenli MRSA
Hla	: α -hemolizin
Hlb	: β -hemolizin
HlgAB/HlgCB	: γ -hemolizin
IL-8	: Interlökin-8
INF	: İnterferon
iNKT	: Invariant doğal öldürücü hücre
LA-MRSA	: Çiftlik hayvanları ile ilgili MRSA
LukAB	: LökotoksinAB
LukED	: LökotoksinED
MAIT	: Mukoza ile ilişkili invariant T hücre
MGE	: Mobil genetik element
MHC	: Büyük doku uyum kompleksi
MRSA	: Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	: Metisilin duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
PFT	: Por oluşturan toksin
PIA	: Polisakkarit intrasellüler antijen
PNL	: Polimorfonükleer lökosit
PSM	: Fenolde çözünen modüller
PVL	: Panton-Valentine lökositidin
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
Rot	: Represör toksin protein
SaeRS	: Stafilokokal solunum yanıt sistemi
SAg	: Süperantijen

SE	: Stafilokokal enterotoksin
SFP	: Stafilokokal gıda zehirlenmesi
SrrAB	: Stafilokokal solunum yanıt düzenleyici
SSL	: Stafilokokal süperantijen benzeri
SSSS	: Stafilokokal haşlanmış deri sendromu
TCR	: T hücre reseptörü
TK-MRSA	: Toplum kökenli MRSA
TNF- α	: Tümör nekrozis faktör-alfa
Treg	: Regülatör T hücre
TSST-1	: Toksik şok sendrom toksin-1
UAMDSS	: Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Kurumu Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi
V α	: Değişken alfa zinciri
V β	: Değişken beta zinciri
5'UTRs	: Genin 5'ucunun transle edilmemiş bölgeleri

ÖZET

Farklı Klinik Örneklerden İzole Edilen Metisilin Dirençli ve Duyarlı *Staphylococcus aureus* Suşlarının Toksin Profilinin Araştırılması

Staphylococcus aureus hem hastane (nozokomiyal) hem de toplum kaynaklı enfeksiyonların yanı sıra gıda kaynaklı enfeksiyonların önde gelen nedenlerinden biridir. *S. aureus*, deri ve doku enfeksiyonlarından yaşamı tehdit eden hastalıklara kadar geniş bir yelpazede enfeksiyonlara neden olmaktadır. *S. aureus*'un farklı özelliklere sahip enfeksiyonlara neden olma ve konakçı bağışıklık sistemi mekanizmalarından kaçma yeteneği, etkenin geniş bir virülans gen repertuarına sahip olması ile açıklanmaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada, farklı klinik materyallerden izole edilen toplam 190 *S. aureus* suşunda süperantijenik (SAg) [stafilokokal enterotoksin (SE), toksik şok sendromu toksin-1 (TSST-1)] toksin, eksfoliatif toksin (ET), hemolizin (HLY) ve lökotoxin (LUK) genleri polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile araştırıldı. Ayrıca izolatların accessory gene regulator (*agr*) tipleri de PZR ile belirlendi. İzolatların 87'sinde (% 45.8) *mecA* geni tespit edilirken, 103'ü *mecA* geni yönünden negatif bulundu. İncelenen 190 *S. aureus* izolatından 159'unda (%83.7) SAg toksin genleri belirlenirken; 17 (%15.9) MSSA ve 14 (%16.9) MRSA izolatında ise incelenen SAg toksin genlerinden hiçbirisi saptanmadı. MRSA ve MSSA izolatları arasında SAg toksin genlerinin prevalans oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı ($P>0.05$). İzolatlar arasında *seg* (78/190, %41) en yaygın belirlenen SAg toksin geni olup; bunu sırasıyla *sei* (74/190, %39), *selo* (74/190, %38.9), *selm* (54/190, %28.4), *sea* (49/190, %25.8) ve *tst* (35/190; %18.4) genleri izledi. İzolatların hiçbirinde ise *see* geni bulunmadı. İzolatlar arasında 71 farklı SAg toksin profili belirlendi. *seg*, *sei*, *selm*, *seln* ve *selo* genlerini kodlayan Tip I vSaß (37, %19.5) en yaygın mobil genetik element (MGE) olarak saptandı. Hemolizin genlerinden *hla*, *hly*, *hld*, *hlg* ve *hlg2* sırasıyla 176 (%92.6), 3 (%1.6), 188 (%98.9), 2 (%1.1) ve 60 (%31.6) izolatla tespit edildi. Çalışmada en yaygın hemolizin gen kombinasyonu *hla+hld* izolatların 111 (%58.4)'inde gözlemlendi. Yirmialtı izolat *pvl* geni yönünden pozitif bulunurken; MRSA izolatlarının 11(%12.6)'inde ve MSSA izolatlarının ise 15 (%14.6)'inde bu gen tespit edildi ($p>0.05$). İncelenen lökositin genlerinden sadece *lukED* izolatların 128 (%67.4)'inde tespit edilirken; *lukM* izolatların hiçbirinde tespit edilmedi. *lukED* yönünden MSSA izolatlarının 69'u (%67) ve MRSA izolatlarının ise 59'u (%67.8) pozitif bulundu ($p>0.05$). Çalışmanın sonuçları, izolatlar arasında yüksek genetik çeşitlilik olduğunu ve toksin genotipleri ile MGE'lerin kodladığı toksin genleri arasında güçlü bir korelasyon olduğunu gösterdi.

Anahtar kelimeler: *Staphylococcus aureus*, metisilin direnci, toksin, gen

ABSTRACT

Investigation of Toxin Profile of Methicillin Resistant and Sensitive *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Different Clinical Specimens

Staphylococcus aureus is one of the leading causes of both hospital and community-acquired infections as well as food-borne infections. *S. aureus* can cause a wide range of infections ranging from skin and tissue infections to life-threatening diseases. The ability of *S. aureus* to cause infections with different characteristics, and to evade from host immune system mechanisms are attributed to the fact that the agent has a large repertoire of virulence genes. Therefore, in this study, a total of 190 *S. aureus* isolates from different clinical materials were investigated in terms of superantigenic (SAg) toxin [staphylococcal enterotoxin (SE), toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1)], exfoliative toxin (ET), haemolysin (HLY) and leukotoxin (LUK) genes using polymerase chain reaction (PCR). In addition, accessory gene regulator (*agr*) type of each isolate was also evaluated. Eighty seven (45.8%) isolates were positive for *mecA* gene, the rest of the isolates were negative for *mecA*. Of 190 *S. aureus* isolates examined, 83.7% (159) of the isolates harbored SAg's genes. Seventeen (15.9%) MSSA and 14 (16.9%) MRSA isolates were found to be negative for the presence of SAg's genes. There was no statistically significant difference in prevalence rates of toxin genes between MRSA and MSSA isolates ($P>0.05$). The *seg* (78/190, 41.%) gene was the most prevalent toxin gene, followed by *sei* (74/190, 38.9%), *selo* (74/190, 38.9%), *selm* (54/190), *sea* (49/190, 25.8%), and *tst* (35/190), respectively. The *see* gene was not found in any of the isolates tested. Among the isolates, 71 different SAg toxin profiles were identified. Type I ν Sa β encoding *seg*, *sei*, *selm*, *seln* and *selo* was the most common mobile genetic element (MGE), which was detected in 37 isolates (19.5%). The *hla*, *hly*, *hld*, *hlg* and *hlg2* genes were detected in 176 (92.6%), 3 (1.6%), 188 (98.9%), 2 (1.1%) and 60 (31.6%) of the isolates, respectively. The most common coexistence of haemolysin genes was the *hla*+*hld*, observed in 58.4% (111) of the isolates. The presence of *pvl* gene was determined in 26 isolates, 11 (12.6%) of the isolates were from MRSA isolates, 15 (14.6%) were from MSSA isolates ($p>0.05$). The *lukED* gene was detected in 67.4% (128) of the isolates, of which 69 (67%) were from MSSA and 59 (67.8%) were from MRSA, respectively ($p>0.05$). *lukM* was not detected in any tested isolates. The results of the study showed that there was high genetic diversity among the isolates and a strong correlation between toxin genotypes and toxin genes encoded by MGE's.

Key words: *Staphylococcus aureus*, methicillin resistance, toxin, gene

1. GİRİŞ

Staphylococcus aureus, deri ve mukoz membranlara lokalize olan fırsatçı bir patojendir. *S. aureus* tarafından oluşturulan enfeksiyonlar hafif cilt enfeksiyonlarından şiddetli nekrotizan pnömoniye kadar değişen şiddette olabilmektedir. Bakteriyemi ve infektif endokarditisin önde gelen nedeni olmanın yanı sıra; osteoartiküler, cilt ve yumuşak doku, plöropulmoner ve cihazla ilişkili enfeksiyonlara da neden olabilmektedir (Tong ve ark. 2015). Bununla birlikte, farklı sınıftan antimikrobiyallere zamanla dirençli suşların ortaya çıkması enfeksiyonların tedavisinin daha zor olmasının ana nedenlerinden biri haline gelmiştir (McGuinness ve ark. 2017, Howden ve ark. 2010).

S. aureus konakçı savunma mekanizmalarından kurtulmasına yardımcı olan çeşitli direnç mekanizmalarını ve virülans faktörlerini eksprese edebilmektedir. Etken tarafından üretilen virülans faktörleri arasında toksinler, enzimler ve hücre yüzeyi ile ilişkili antijenler sayılabilir. Toksinler, konakçı hücrelerinin yapısını bozabildikleri, doğal ve spesifik bağışıklık tepkilerini manipüle edebildikleri ve *S. aureus* proliferasyonuna katkısı olan hücreler arası yolakları bozabildikleri için kolonize oldukları organizmanın zayıf bir tepki vermesine neden olurlar (Grumann ve ark. 2014). Bu nedenle, etkenin sahip olduğu virülans genleri ile neden oldukları bazı hastalık semptomları arasında güçlü bir korelasyon kurulmuştur. Örneğin, bu toksinler toksik şok sendromuna (TSS), stafilokok haşlanmış deri sendromuna (SSSS), nekrotizan pnömoni veya derin doku enfeksiyonları gibi hastalıklara neden olmaktadır (Ladhani 2003, Jarraud ve ark. 2002).

Toksinler ve bazı hastalıklar arasındaki bu açık ilişki, *S. aureus*'un patogenezinin, etiyolojisinin, epidemiyolojisinin, patofizyolojisinin ve daha kesin olarak da toksin sentez mekanizmasının regülasyonunun acil ve daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır. Bu nedenle stafilokok enfeksiyonlarının kontrol edilmesinde önleyici yaklaşımların önemli rol oynayacağı görüşü ileri sürülmektedir. Çünkü *S. aureus*'un bir patojen olarak gücü esas olarak sahip olduğu virülans faktörlerine atfedilmektedir (Otto 2010, Bartlett ve Hulten 2010).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Etiyoloji, Epidemiyoloji ve Patogenez

S. aureus farklı karakterde infeksiyöz hastalık tablolarına neden olan major bir patojendir. Etken, sitoplazmik membranı çepeçevre saran peptidoglikan, teikoik asit ve lipoteikoik asitten oluşan bir hücre duvarına sahiptir. Hücre duvarı lipoteikoik asit ile sitoplazmik membrana bağlanmış durumdadır.

Peptidoglikan, stafilokok hücre duvarının ana bileşenidir (%50) ve iki farklı polisakkarit alt biriminin (N-acetylglucosamine ve N-acetylmuramic acid) β -1,4 glikozid bağı ile birleşmesinden oluşmuştur. Peptidoglikan hücre duvarına sertlik verir, bakterinin şeklini belirler ve ozmotik lizisten korur. Hücre duvarının %40'ını oluşturan diğer bir bileşen olan teikoik asit ise fosfat içeren bir polimerdir (Tong ve ark. 2015). Teikoik asit stafilokok hücre yüzeyine negatif bir yük verir ve metal iyonlarının kazanılmasında ve bu iyonların lokalizasyonunda rol oynar (Wilkinson 1997). Bu iki komponent birlikte hücre duvarı ağırlığının %90'ını oluştururken, geri kalan %10'luk kısmını ise yüzey proteinleri, ekzoproteinler ve otolizinler oluşturur (Harris ve ark. 2002).

S. aureus ilk kez 1884'te Alman cerrah Anton Rosenbach tarafından tanımlanmıştır. Rosenbach izole ettiği iki Staphylococcus suşunu (*S. aureus* ve *S. epidermidis*) bunların kolonilerinin pigment görünümüne göre adlandırmıştır. Bu keşif sırasında *S. aureus* ile enfekte hastaların çoğunluğu ölmekte ve *S. aureus* bakteriyemisi olan hastalarda ölüm oranı yaklaşık %82 oranlarına ulaşmaktaydı. Bu mortalite oranı penisilinin klinik uygulamaya sokulmasından sonra büyük ölçüde azalmıştır (Tong ve ark. 2015). Bununla birlikte, 1940'ların başında ilk penisiline dirençli *S. aureus* suşları ortaya çıkmış ve takip eden yıllar içinde ise hastane kaynaklı suşların yaklaşık %25'i penisiline dirençli hale gelmiştir (Chambers, 2001).

Her ne kadar 1960'larda bu direnç sorununun üstesinden gelmek için metisilin ve oksasilin geliştirilmiş olsa da kullanılmalarından sadece bir yıl sonra metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) suşları ortaya çıkmıştır (Jevons, 1961).

1960'lı ve 1980'li yıllar arasında, hastane kaynaklı MRSA (HK-MRSA) enfeksiyonları daha sık görülür hale gelmiş ve 1990'larda ise HK-MRSA enfeksiyonları tüm dünyada görülmeye başlamıştır (Panlilo ve ark. 1992; Boyce ve Causey 1982). Bu

tarihten itibaren MRSA'lı hastalar ile temasın ve antimikrobiyallerin kullanılmasının bu etken ile infekte olma yönünden bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (Tong ve ark. 2015) Ancak, 1990'ların sonlarında, hastane ortamına maruz kalmayan sağlıklı, genç bireylerde de toplum kökenli MRSA (TK-MRSA) enfeksiyonları bildirilmeye başlanmıştır (Tong ve ark. 2015).

Günümüzde yaygın görülen ve ciddi bir problem haline gelen TK-MRSA enfeksiyonları, nozokomiyal MRSA enfeksiyonlarında olduğu gibi önemli bir morbidite ve mortalite nedeni haline gelmiştir. Fakat TK-MRSA suşları epidemiyolojik, genotipik ve fenotipik olarak HK-MRSA suşlarından farklılık göstermekte ve HK-MRSA suşlarına göre antimikrobiyallere daha dirençli olma eğilimindedir (Tong ve ark. 2015).

Hastanede yatan hastalar, esas olarak bağışıklık sistemlerinin zayıflamış olması, antimikrobiyallere uzun süre maruz kalmaları, ventilatör veya kateter gibi kontamine invaziv ekipmanların kullanımı nedeniyle HK-MRSA enfeksiyonlarına halen yatkınlık göstermektedir. Mevcut terapötik seçenekler *S. aureus* suşlarının antibiyotiklere farklı mekanizmalarla direnç geliştirme yeteneğinden dolayı etkisiz kalmaktadır. Bu durum, bakteriyel enfeksiyonların kontrolü için bakteri genetik ve biyokimyasının daha derinlemesine anlaşılmasını ve biyofilm sentezinin antibiyotiklerin etkisini ve direncin gelişimini nasıl etkilediğine dair daha kapsamlı çalışmalar yapılmasını gerektirmektedir (Chatterjee ve Otto, 2013).

Bakteriler biyofilm içinde hapsediklerinden iyi karakterize edilmiş bireysel hücre direnç mekanizmalarından farklı olarak topluluk direnç mekanizmalarına sahiptirler. (Penesyan ve ark. 2015). Bakteriyel topluluklar büyüme, gen ekspresyonu ve proteinüretimi açısından farklı bir fenotip sergilerler ve ayrıca tek hücrelerin yapamayacağı çevresel strese tolerans gösterebilirler (Archer, 2011).

Bakterileri çevreleyen biyofilm matriksi bakterileri fagositozdan, antimikrobiyallerden, dezenfektanlardan, konağın doğal ve kazanılmış bağışıklık mekanizmalarından ve enflamatuar sistem elamanlarından korumakta; ayrıca hücre için gerekli olan karbon, azot ve fosfat gibi besin maddelerinin tutulmasına izin vermektedir (Bahna ve ark. 2007).

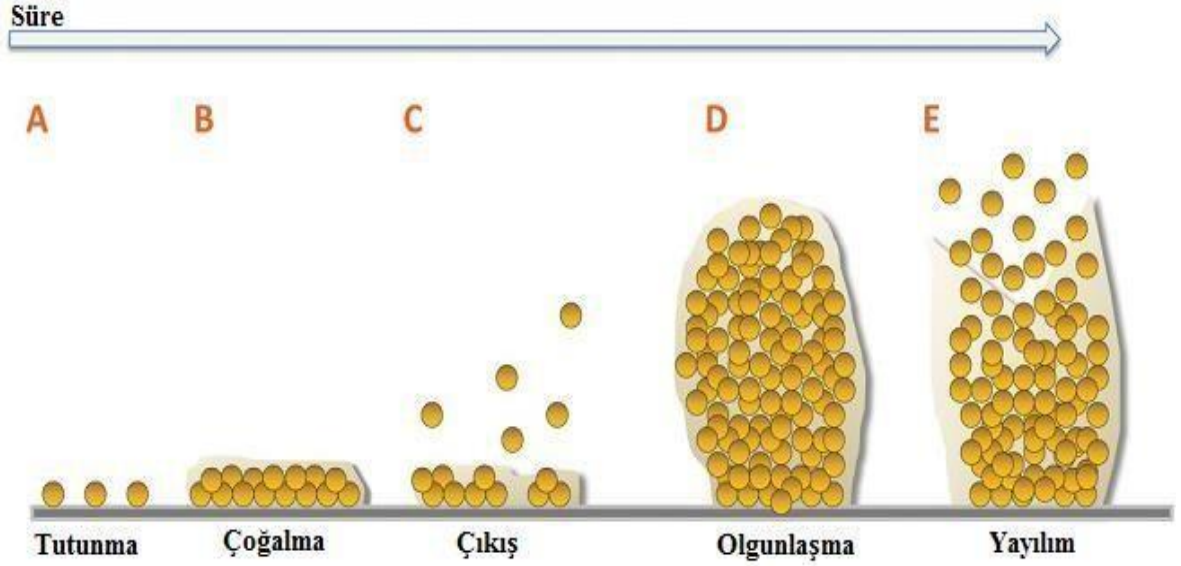
S. aureus tarafından üretilen çok katmanlı biyofilm esas olarak teikoik asitlerden (%80), stafilokok ve konakçı proteinlerinden oluşan ekzopolimerik bir substans (EPS) matrisi içine gömülmüştür (Hussain ve ark. 1993). Stafilokok biofilmlerin EPS yapısı esas olarak polisakkarit hücreler arası antijen (PIA), ekstrasellüler DNA, proteinler ve amiloid

fibrillerden oluşur. PIA sentezi ise *ica*ADBC lokusu tarafından kontrol edilen β -1,6-bağlı N-asetilglukozamin (PNAG) rezidülerinin (%80-85) birleşmesinden oluşan pozitif yüklü bir fraksiyondur (Arciola ve ark. 2015).

Doğal biyofilm gelişim döngüsünün bir parçası olarak, olgun biyofilmler içindeki hücreler biyofilmden planktonik bir yaşam tarzına kaymayı indükleyebilen bileşikler üretir (Penesyan ve ark. 2015). Bu değişim biyofilmlerden hücre dispersiyonu süreci içinde gereklidir (McDougald ve ark. 2011). *S. aureus*'ta biyofilmden kopmalar quorum-sensing sistemi (uzaktan algılama sistemi) Agr (accessory gene regulator) tarafından kontrol edilir (Boles ve Horswill, 2008; Yarwood ve ark. 2004). Bu sistemin planktonik hücre ve biyofilm arasında önemli bir düzenleyici olduğu ve *S. aureus*'un vücudun diğer bölgelere yayılmasına ve kolonizasyonuna katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir (Boles ve Horswill, 2008).

S. aureus quorum-sensing sistemi, aksesuar gen regülatör (*agr*) lokusu tarafından kodlanmakta ve bu lokusun otomatik indükleyici peptid (AIP) adı verilen bir iletişim molekülü üretmektedir (Novick ve Geisinger, 2008). AIP kritik bir konsantrasyona ulaştığında çok sayıda virülans faktörü eksprese edilir. Bu sistem, sırasıyla iki ayrı promotordan (P2 ve P3) başlatılan iki farklı (RNAII ve RNAIII) transkriptten oluşur. P2 operonu *agr*BDCA içerir ve RNAII transkriptini kodlarken; P3 *agr* lokusu RNAIII efektör molekülünün transkripsiyonunu yönlendirir (Novick ve Geisinger, 2008; Yarwood ve ark. 2006).

P2 ve P3'un transkripsiyonundaki artışın hücre içi RNAIII konsantrasyonunda ve bunun da salgılanan virülans faktörlerinin ekspresyonunu bir artışa neden olduğu (Yarwood ve ark. 2006). Salgılanan *S. aureus* virülans faktörlerinin büyük çoğunluğunun toksinler olduğu tanımlanmıştır. Toksinler bakteri tarafından salgılanıp konağı doğrudan etkilediğinden diğer virülans faktörlerinden farklılık göstermektedir (Otto, 2014).



Şekil 2.1. *S. aureus* biyofilm gelişim modeli. *S. aureus* biyofilm gelişimi beş aşamada tanımlanmaktadır: (A) tutunma, (B) çoğalma, (C) çıkış, (D) olgunlaşma ve (E) yayılım. A) *S. aureus* 'un hidrofobik etkileşimler veya microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules (MSCRAMM'ler) yoluyla abiyotik veya biyotik yüzeylere bağlanması. B) Bağlanmayı takiben eDNA ve protein matristen oluşan biyofilm gelişimi. C) Belli bir yoğunluğa ulaştıktan sonra mikrokolonilerin oluşumunu sağlamak için Sae tarafından regüle edilen nükleaz aracılı eDNA yıkımlanması yoluyla biyofilmden hücrelerin salındığı kitlesel hücre çıkış dönemi. D) Biyofilmden dışarı çıkış aşamasında bağlı kalan hücre odaklarından mikrokoloniler oluşumu. Bu aşama PSM (phenol soluble modulün)'ler ve eDNA dahil proteinlerden oluşan güçlü kümeler oluşturan hızlı hücre bölünmesi ile karakterizedir. E) Aktive edilmiş Agr-aracılı quorum sensing, proteaz aktivasyonu ve/veya PSM üretimi aracılığı ile biyofilm matriksin modülasyonu ve hücrelerin dispersiyonunun başlatılması (Moormeier ve ark. 2017).

Bazı toksinlerin biyofilm gelişimindeki etkisinin araştırıldığı çalışmalarda bazı toksinlerin biyofilm oluşumunun ilerlemesinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Biyofilmin kalıcılığı üzerine hemolizin- α (Hla veya a-toksin) ve lökotoxin AB (LukAB) olumlu yönde etki göstermektedir (Scherr ve ark. 2015). Sherr ve ark. (2015) murin ortopedik implant biyofilm enfeksiyon modeli kullanarak bu toksinlerin etkilerinin değerlendirilmişler; Hla ve LukAB'ın makrofaj disfonksiyonuna ve hücre ölümüne neden olarak sinerjik bir rol oynadığını göstermişlerdir. Makrofaj fagositozundaki fonksiyon bozukluğu *S. aureus*'un biyofilm oluşturma aşamasında konağın yıkıcı etkisinden kaçınma yeteneğini kolaylaştırmaktadır. Toksinlerin biyofilm formasyonunun gelişimindeki etkisini gösteren başka bir çalışma ise Dastgheyb ve ark. (2015) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma ile PSM'lerin, matriks moleküllerinin bakteriyel hücre yüzeyi ile etkileşimlerini bozarak biyofilm oluşumuna etki ettiği gösterilmiştir. *S. aureus* yüzey proteinlerinin fibrin gibi konak matriks proteinleri ile etkileşimi kümeleşmeyi başlatmakta ve spesifik koşullar altında PSM ekspresyonunun olmaması nedeniyle son derece büyük boyutlara

ulaşmaktadır. Periasamy ve ark. (2012) tarafından yapılan *in vitro* bir çalışmada ise *S. aureus* tarafından sentezlenen PSM'lerinin biyofilm formasyonundaki benzer etkilere neden olduğunu gösterilmiştir. Bu çalışmada PSM'lerin biyofilm formasyonunu tahrip ettiği ve yüzey aktif madde özelliği ile de dağılmasına yol açtığı gösterilmiştir.

2.2. *Staphylococcus aureus* tarafından sentezlenen toksinler

S. aureus'un patojenik kapasitesinde önemli rol oynayan çok sayıdaki virülans faktörü içinde toksinler önemli bir yere sahiptir. (Otto 2010; Barlet ve Hulten 2010). *S. aureus* tarafından sentezlenen toksinler üç ana gruba ayrılabilir: (i) por oluşturan toksinler (PFT'ler), (ii) eksfoliyatif toksinler (ET'ler) ve (iii) süperantijenler (SAg's). Por oluşturan toksinler ayrıca α -hemolizin (Hla veya α -toksin), β -hemolizin, lökotoxinler ve fenolde çözünen modüller (PSM'ler) olmak üzere dört alt tipe ayrılmaktadır (Gruman ve ark. 2014). Bu toksinlerin sentezi çok çeşitli koşullara yanıt olarak gerçekleşmekte ve bu mekanizmaların anlaşılması stafilokok enfeksiyonlarının etkin kontrolünde önem taşımaktadır.

S. aureus tarafından sentezlenen toksinler toksik şok sendromu, (TSS), stafilokokal haşlanmış deri sendromu (SSSS), nekrotizan pnömoni veya derin doku enfeksiyonları ile ilişkilidir. Toksinler etkilerini hücrelerarası bağlantıları bozarak veya immün yanıtı modüle ederek göstermekte ve bu sayede de konağın hücre membranlarına zarar vermektedir (Gruman ve ark. 2014).

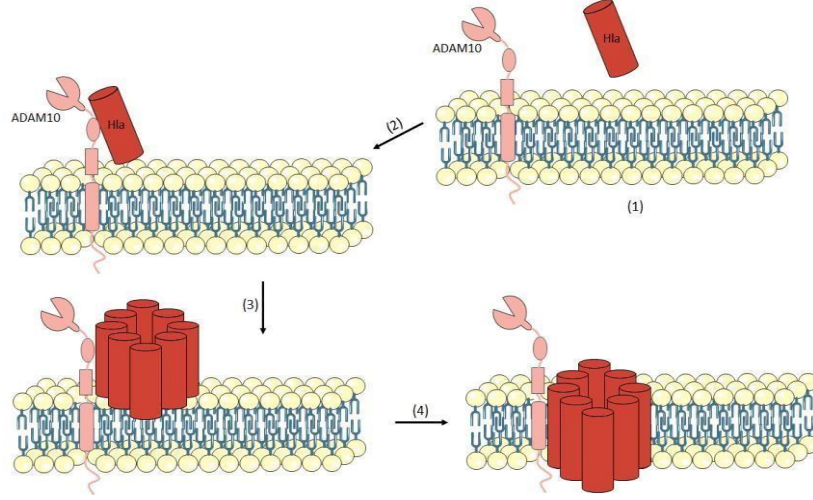
2.2.1. Por Oluşturan Toksinler

2.2.1.1. Hemolizinler

α -hemolizin (Hla veya α -Toksin): Hla, klinik *S. aureus* izolatlarının %95'i tarafından sentezlenen 33 kDa ağırlığında bir polipeptiddir (Gruman ve ark. 2014). Hla suda eriyebilen monomer olarak salgılanan ve hücre membranında silindirik porlar (beta- barrel) oluşturan bir toksindir (Gruman ve ark. 2014; Otto, 2014). Bu toksin tek başına toksik kabul edilmez. Etkin hale geçmesi için toksinin konak hücre membranına bağlanma kapasitesi ve heptamerik yapıya oligomerizasyonu önemli bir husustur (Song ve ark. 2006; Gouaux ve ark. 1994).

Hla hedef hücre membranına bağlandığında lipid bilayer hücre membranı boyunca hidrofilik transmembran kanal oluşturmak üzere öncelikle por (pre-por) yapıya oligomerize olur (Şekil 2.2) (Oliveira ve ark. 2018). Bu toksin küçük silindirik por

oluşturan sitotoksinlerin (PFTs) bir prototipidir (Bhakdi ve Tranum-Jensen, 2017).



Şekil 2.2. α -hemolizin (Hla) etki mekanizması. Hla suda çözünür bir monomer olarak salgılanır (1). Hla, α -toksin için hücrel bir reseptör olan transmembran proteini ADAM10'a bağlanır (2). Daha sonra, toksin plazma membranı üzerinde oligomerize olarak bir heptamer haline gelir ve bir ön por oluşur (3) ve sonunda transmembran kanalının oluşumu meydana gelir (4) (Oliveira ve ark. 2018).

Uzun yıllar boyunca por oluşumu ve hücrel lizis Hla etkisinin en belirgin sonucu olarak kabul edilmiştir. Bu etkilerinin yanısıra son yıllarda yapılan çalışmalar toksinin hücre proliferasyonu, enflamatuvar yanıt, sitokin sekresyonu ve hücre-hücre etkileşimlerini içeren farklı hücre sinyal yollarında da bir etkinliğine sahip olduğunu ortaya koymuştur (Parker ve Feil 2005; Song ve ark. 1996; Gouaux ve ark. 1994).

Ayrıca, bu toksinin epitel hücreleri, endotel hücreleri, T lenfositleri ve makrofajlar dahil çok çeşitli insan hücre tipi üzerinde de bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Berube ve Bubeck Wardenburg, 2013; Nygaard ve ark. 2012; Powers ve ark. 2012; Bubeck Wardenburg ve ark. 2007; Bhakdi ve ark. 1988).

Hla, sadece toksinin relatif konsantrasyonuna bağlı olarak değil, aynı zamanda maruz kalan hücre tipine göre de hedef hücrede farklı sinyal yollarını indükler (Berube ve Bubeck-Wardenburgi 2013). Toksin hücre membranına yaklaştığında daha önce var olan küçük por'lar ATP ve K^+ iyonlarının hücre içinden dışarıya hızlı salınmasına izin verirken, aynı zamanda makromoleküllerin hücre zarı boyunca hareketini de kısıtlar (Berube ve Bubeck-Wardenburgi 2013). Por oluşumundan hemen sonra ise hücre içine hücre dışından kalsiyum akışı olur. Hücre içi kalsiyum düzeyindeki artış, membran fosfolipidlerinin

hidrolizini ve araşidonik asidin lökotrienlere, prostaglandinlere ve tromboksan A2'ye metabolize olmasını uyarır (Rose ve ark. 2002). Daha sonra protein kinaz C'nin aktivasyonu ve NF-κB nükleer translokasyonunun uyarılması da gerçekleşir. Tüm bu olaylar, IL-1β, IL-6 ve IL-8 üretimi ile birlikte pro-enflamatuar bir uyarıma da neden olur (Rose ve ark. 2002; Grimmer ve ark. 1997).

Hla'nın temel hedefi olan epitel hücrelerinde, E-kaderin ADAM10 için ana bir substrattır (Maretzky ve ark. 2008; Maretzky ve ark. 2005). Hla için hücrel bir reseptör olan ADAM10, çoğu konakçı hücrenin yüzeyinde tip I transmembran proteini olarak eksprese edilen çinko bağımlı bir metalloproteazdır (Edwards ve ark. 2008; Seals ve Courtneidge 2003). E-kaderini yıkımlayan enzim epitel doku bariyer fonksiyonunu tehlikeye atan Hla bağından sonra aktive olur ve bu da *S. aureus*'un invazyonuna izin verir (Grumann ve ark. 2014; Inoshima ve ark. 2011).

ADAM10'un Hla için bir hücrel reseptör olarak keşfi belirli bir hücre popülasyonunda toksinin etkileri üzerinde daha detaylı incelemelerin yapılmasına neden olmuştur. Bu toksinin *S. aureus* patogeneğinde önemli bir rol oynadığı hipotezi iki kanıtın varlığı ile doğrulanmıştır. Birincisi, *S. aureus* kaynaklı bir enfeksiyona maruz kalan ve toksinin ekspresyonu ile tutarlı olarak toksine karşı serum antikor sentezi geliştiren kişilerle ilgilidir (Fritz ve ark. 2013; Adhikari ve ark. 2012; Kolata ve ark. 2011). İkincisi ise bakteriyel genetik ve protein profili analizi ile ilgilidir (Berube ve ark. 2013). 1950'lerde ve 1960'larda salgın olaylarından sorumlu olan *S. aureus* suşlarının *hla* ve *agr* lokuslarının analizi, bu izolatların Hla eksprese etme yeteneğine sahip olduğunu göstermiş ve Hla aracılı oluşturulan deneysel hayvan enfeksiyon modellerinde ise bu izolatların yüksek virulens fenotipine sahip olduğu doğrulanmıştır. Bu çalışmalar sağlıklı bireylerde invaziv hastalığın patogenezi için Hla ekspresyonunun gerekli olabileceğinin bir göstergesi olarak kabul edilmiştir (De Leo ve ark. 2011).

β-hemolizin (Sfingomiyelinaz C): β-hemolizin ilk olarak 1935 yılında Glenny ve Stevens tarafından tanımlanmış ve *hly* geninin DNA dizi analizi 1989 yılında yapılmıştır (Projan ve ark. 1989). Bu toksinin koyun eritrositlerine karşı oldukça yüksek hemolitik aktivite gösterdiği, tavşan eritrositlerine karşı ise hemolitik aktiviteye sahip olmadığı tespit edilmiştir (Dinges ve ark. 2000). Eritrositlerin toksine karşı duyarlılığındaki bu fark, bu hücrelerin farklı sfingomiyelin içeriğine sahip olmalarına atfedilmektedir. Çünkü toksin aynı zamanda bir sfingomiyelinaz olarak da bilinmektedir. Sfingomiyelinazlar,

sfingomiyelinleri parçalayan fosforik diester hidrolazlardır ve sfingomyelin ökaryotik hücre membranlarında en yaygın bulunan sfingolipiddir (Flores-Díaz ve ark. 2016).

Bu toksinin hastalıktaki rolü tam olarak anlaşılmamıştır. β -hemolizin, büyük oranda hayvan kaynaklı *S. aureus* izolatları tarafından sentezlenmektedir ve bu toksinin yüksek düzeyde ekspresyonu beta-hemolizin sentezleyen suşlara selektif bir avantaj sağlamaktadır (Dinges ve ark. 2000). Bu toksin, sığır mastitislerinden (Aarestrup ve ark. 1999) ve insanlardaki kronik deri enfeksiyonlarından (Katayama ve ark. 2013) izole edilen *S. aureus* suşları tarafından da büyük oranlarda sentezlenmektedir. β -hemolizin insan keratinositlerine, polimorfonükleer lökositlere (PNL), monositlere ve T lenfositlerine karşı da sitotoksik etkiye sahiptir ve endotelial hücreler tarafından interlekin-8 (IL-8) ekspresyonunu da inhibe etmektedir. Tüm bu faktörler *S. aureus*'un fagozomlardan kaçmasına ve biyofilm oluşumunun indüklenmesine katkıda bulunabilmektedir (Katayama ve ark. 2013; Huseby ve ark. 2010; Tajima ve ark. 2009).

Yapılan çalışmalar *S. aureus*'un patojenitesi için bu toksinin önemini göstermiştir. Hlb sentezi yönünden mutant *S. aureus* suşu ile oluşturulan pnömoni ve fare kulak derisi enfeksiyon modellerinde virülansının azaldığı gösterilmiştir (Katayama ve ark. 2013; Hayashida ve ark. 2009). Diğer bir çalışmada ise biyofilm sentezleme yeteneğine sahip fakat hlb eksprese edemeyen mutant bir suşun tavşan endokardit modelinde düşük patojeniteye sahip olduğu saptanmıştır (Huseby ve ark. 2010).

γ -hemolysin (HlgAB/HlgCB): HlgAB ilk kez 1938 yılında tanımlanmış olmasına rağmen; 1970'lerde biyolojik ve biyokimyasal işlevleri daha güvenilir saflaştırma yöntemleri ile belirlenmiştir. γ -hemolizin grubu içinde farklı alt birim HlgAB, HlgCB ve HlgACB kombinasyonlarına sahip üç protein yer almaktadır. HlgAB ve HlgCB aynı F alt birimini (HlgB) paylaşırken, S alt biriminde farklılık gösterir (Yoong ve Torres, 2013). HlgA (32 kDa) ve HlgC (32 kDa), sadece HlgB (36 kDa) ile birleştiğinde litik aktivite sergiler (Cooney ve ark. 1993). HlgAB özellikle insan eritrositlerinin parçalanmasında etkili olup; insan ve tavşan lökositlerine karşı da sitolitik aktivite gösterir (Vandenesch ve ark. 2015). Aksine, HlgCB eritrositler üzerinde sınırlı aktiviteye sahiptir (Seilie ve Bubeck Wardenburg, 2017).

HlgACB'nin *S. aureus*'un virülansındaki rolü tam olarak anlaşılmamıştır. Sadece *hlgACB* lokusunun insan ve sığırlara kolonize olabilen suşlarla oldukça ilişkili olduğu bilinmektedir. Ancak henüz belirli bir enfeksiyon tipiyle hiçbir ilişki bulunmamıştır

(Shukla ve ark. 2010).

HlgAB'ın dolaşım sistemi enfeksiyonları sırasında *S. aureus*'un canlılığı ve proliferasyonu için (muhtemelen makrofaj fagositozundan kaçma ve eritrositlerden Fe^{2+} salınımı nedeniyle) gerekli olduğu gösterilmiştir (Spaan ve ark. 2015; Spaan ve ark. 2014).

2.2.1.2. Lökotoksin

Lökotoksinler, silindirik por oluşturmak için bir araya gelen iki farklı protein komponentinden oluşmaktadır (Yamashita ve ark. 2011; Aman ve ark. 2010). Şu ana kadar, insan kaynaklı enfeksiyonlardan izole edilen *S. aureus* suşlarından yapısal olarak Hla'ya benzeyen dört bikomponent lökotoksin izole edilmiştir: Panton-Valentine Lökosidin(PVL), γ -Hemolysin (HlgA, HlgC, HlgB), Lökotoksin ED (LukE, LukD) ve Lökotoksin AB/GH (LukAB/LukGH) (Yoong ve Torres, 2013).

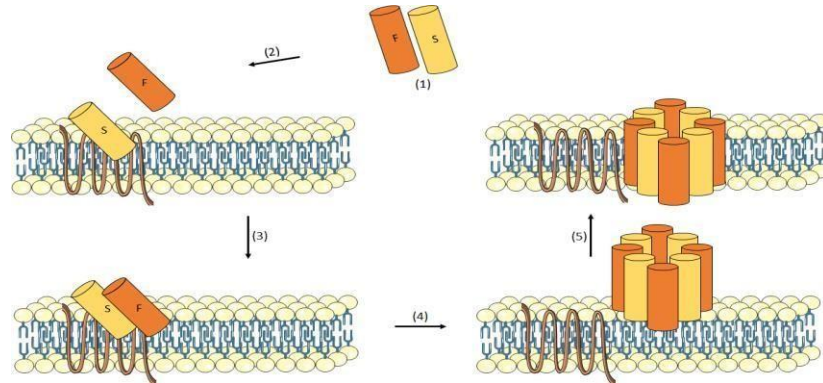
Lökotoksinler, “S” ve “F” olarak sınıflandırılan iki farklı protein komponentinden oluşur. S komponenti hücre reseptörlerine bağlanarak hücre spesifitesi sağlar (Çizelge 2.1) (Yoon ve Torres, 2013; Yamashita ve ark. 2011; Aman ve ark. 2010). S komponenti bağlandıktan sonra F komponenti ile dimerizasyona izin verecek şekilde konformasyonel bir değişikliğe uğrar (Spaan ve ark. 2015). Daha sonra, silindirik transmembran kanalının şekillenmesinden önce ön por oluşumu için bir oligomerizasyon meydana gelir (Jayasinghe ve Bayley, 2005; Miles ve ark. 2002; Sugawara-Tomita ve ark. 2002). Miles ve ark. (2002) tarafından LukF ve LukS'in dört alt birimini içeren oktamerik bir por oluşumunu tarif edilmiştir. Sugawara-Tomita ve ark. (2002) insan eritrosit membranları üzerindeki γ -hemolizin porlarını saflaştırmış ve bunların elektron mikroskopundaki görüntülerini heptamer olarak yorumlanmıştır. Jayasinghe ve ark. (2005) ise Luk porunun LukF ve LukS tarafından oluşturulan ve tavşan eritrositleri üzerine assemble olmuş oktamer yapıda olduğuna dair ikna edici kanıtlar sağlamıştır. Jayasinghe ve Bayley (2005) ise dört LukF ve LukS alt biriminin varlığını göstermişlerdir. Bu iki bileşenli toksinlerin hücre zarında por oluşturma mekanizması Şekil 2.3'te göstermiştir. Dört lökotoksin tipinin PNL'ler dahil tüm lökotoksik hücre hatlarını lize ettiği ve sadece γ -hemolizin ve LukED'in eritrositlere karşı litik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Young ve Torres 2013).

Çizelge 2.1. Lökotoksin "S" ve "F" protein alt üniteleri ve hücre spesifitesi (Yoong ve Torres, 2013)

Lökotoksin	S Alt Ünitesi	F Alt Ünitesi	Hücre Spesifitesi
PVL	LukS-PV	LukF-PV	Lökositler ve nötrofiller
Luk AB/Luk GB	LukA/LukH	LukB-LukG	İnsan monositleri, dendritik hücreler, nötrofiller ve lökositler
LukED	LukE	LukD	Tavşan kan hücreleri ve lökositler, insan nötrofilleri ve fare fagositleri
γ -hemolizin	HlgA,HlgC	HlgB	İnsan alyuvarları, nötrofiller, insan ve tavşan lökositleri

LukED: LukED tavşan kan hücrelerine ve lökositlere karşı sitolitik aktivite göstermektedir. Ancak, bu toksin fare fagositleri üzerinede yüksek etkinlikte letal aktiviteye sahiptir (Seilie ve Bubeck Wardenburg, 2017; Alonzo ve ark. 2013; Alonzo ve ark. 2012). Epidemiyolojik veriler bu toksinin *S. aureus* suşlarında yaygın olmasına rağmen epidemik suşlarda daha yaygın olduğunu göstermiştir. (Seilie ve Bubeck Wardenburg, 2017).

LukED sentezinden sorumlu genler Japonya'daki klinik *S. aureus* suşlarının %87-93'ünde ve dünyadaki MRSA suşlarının ise %88-99'unda tespit edilmiştir. Bu veriler *S. aureus* suşlarının patojenitesi için toksinin potansiyel katkısını göstermektedir (Liu ve ark. 2015; Yoong ve Torres, 2013; Morinaga ve ark. 2003; Vandenesch ve ark. 2003).



Şekil 2.3. Lökotoksinlerin etki mekanizması. Monomerler ayrı ayrı salgılanır (1), S-komponenti hücre membranında reseptörüne bağlanır (2), daha sonra S-komponentine F komponenti bağlanır ve dimerizasyon meydana gelir (3), Bu dimerler hücre membranı üzerinde oligomerize olur ve bir ön por oluşur (4), Sonunda transmembran kanalı oluşumu meydana gelir (5) Oliveira ve ark. 2018)

LukAB/GH: LukAB (LukGH olarak da bilinir) lökotosin grubunda bulunan en yeni toksindir ve bu toksinin *in vivo* enfeksiyonlardaki rolü hala belirsizdir (Ventura ve ark. 2010; Dumont ve ark. 2001). Diğer yandan *in vitro* çalışmalar LukAB/GH'nin monositleri, dendritik hücreleri ve lökositleri hedeflediğini ve birlikte eksprese edildiğinde PVL ile sinerjik etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Melehani ve ark. 2015; Shukla ve ark. 2013; Dumont ve ark. 2011). Bu iki bileşenli lökotosin fagosit ve nötrofil fagositozundan kurtulmada önemli rol oynadığı için *S. aureus*'un daha uzun süreli canlılığını sürdürebilmesini sağlayan tek toksin olarak bilinmektedir (Dumont ve ark. 2013; Dumont ve ark. 2011).

Bu toksinin *S. aureus*'un canlılığının devamındaki mekanizma kanda hiçbir hemolitik aktivite tespit edilemediğinden nötrofillere karşı olan toksisitesi ile ilişkili olması muhtemeldir. Son zamanlarda LukAB/GH'nin virulansa olan katkısı sistemik birenfeksiyon modeli kullanılarak gösterilmiştir. Bu modelde toksin varlığının enfekte olmuş böbreklerde daha yüksek bakteri yükü ile ilişkisi belirlenmiştir (Dumont ve ark. 2011).

Hücre yüzeyine bağlandıktan sonra oligomerize olan monomerler olarak salgılanan diğer lökotosinlerin aksine; LukAB/GH hücre yüzeyi reseptörüne bağlamadan önce heterodimerize olur. Bu durum, LukAB/GH dimerizasyonunun salgılamadan önce meydana geldiğini düşündürmektedir. Çünkü alt ünitelerin birlikte ekspresyonunun, ayrı ayrı saflaştırılmış alt birimlerin karışımından daha toksik olduğu görülmüştür (Badarau ve ark. 2015; Dumont ve ark. 2014).

Panton-Valentine Lökosidin (PVL): PVL ilk olarak *S. aureus* V8 suşunun kültür süpernatantından saflaştırılmıştır. Saflaştırma basamağından S ve F olarak adlandırılan 32 kDa ve 38 kDa büyüklüğünde iki protein bileşeni karboksimetil selüloz kolonundaki göçlerine göre ayrılmıştır (Kaneko ve ark. 1998). Tüm PVL üreten izolatlar, PVL (LukS-PV ve LukF-PV) için spesifik S sınıfı ve F sınıfı proteinler üretir ve tüm PVL genleri (*lukS*-PV ve *lukF*-PV) Sa2 integras eksprese eden sınırlı sayıda bakteriyofaj tarafından kodlanır (Goerke ve ark. 2009; Kaneko ve ark. 1998).

Bu lökotosinin *S. aureus* suşlarının virülansına katkısı henüz kesin olarak kanıtlanmamıştır. PVL'nin klinik *S. aureus* izolatlarının küçük bir oranı (yaklaşık %5) tarafından sentezlendiği bilinmektedir. Ancak özellikle pnömoniye, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olan TK-MRSA suşlarının yaklaşık %85'inde PVL toksininin varlığı bildirilmiştir (Yoong ve Torres, 2013). Virülan suşlarla PVL'nin bu bağlantısı

sağlıklı insanlarda bu toksinin ölümcül enfeksiyonlara neden olabileceğini düşündürmektedir (Naimi ve ark. 2003; Lina ve ark. 1999).

Gillet ve ark. (2002) PVL-pozitif *S. aureus* ile ilişkili pnömoni vakalarını PVL-negatif *S. aureus* kaynaklı vakalar ile karşılaştırdıklarında PVL-pozitif *S. aureus* suşlarının daha öldürücü olduğunu; bu hastaların otopsileri yapıldığında ise PVL-pozitif *S. aureus* izole edilen hastalarda akciğerlerde ülser, hemoraji ve aşırı inflamasyon şekillendiği gösterilmiştir. Şiddetli inflamasyon PVL'nin makrofajlarda ve nötrofillerde neden olduğu lizise bağlanmıştır (Gillet ve ark. 2002; Finck-Barbançon ve ark. 1993).

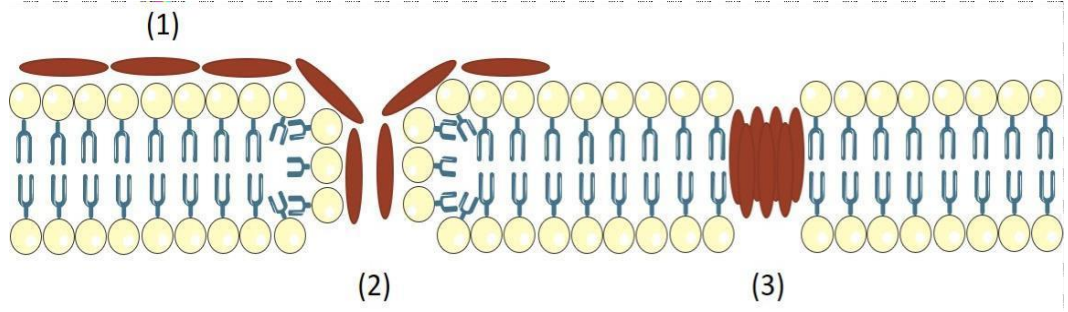
PVL, lökositleri etkileyen ve doku nekrozuna neden olan bir sitotoksindir ve frunkül, deride apseler ve şiddetli nekrotik cilt enfeksiyonları ile ilişkilendirilmiştir (Prevost ve ark. 1995; Cribier, 1994). Bununla birlikte, PVL genlerine ne endokardit, hastane kaynaklı pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları ve enterokolit vakalarından sorumlu suşlarda ne de toksik şok sendromuna neden olan suşlarda rastlanmıştır (Oliveira ve ark. 2018).

2.2.1.3. Fenolde Çözünen Modüller (PSM'ler):

PSM'ler ilk kez Mehlin ve ark. (1999) tarafından *S. epidermidis* kültür filtratlarında tespit edilmiştir. Üç farklı peptid belirlenmiştir. (PSM α , PSM β ve PSM γ) ve bu çalışmada kültür filtratından sıcak fenol ekstraksiyonu ile izole edilen pro-enflamatuvar bir kompleks olarak tanımlanan 3 farklı peptid (PSM α , PSM β ve PSM γ) tanımlanmıştır. (Wang ve ark. 2007; Mehlin ve ark. 1999). PSM γ , *S. epidermidis* δ -toksin ile aynı olduğundan δ -toksin olarak da adlandırılmaktadır (McKevitt ve ark. 1990).

Yapılan çalışmalar ile ayrıca *S. aureus* izolatlarında da PSM'lerin varlığı belirlenmiştir. *S. aureus* suşlarında belirlenen PSM'ler genomda üç farklı yerde lokalize olan genler tarafından kodlanmaktadır (Wang ve ark. 2007). PSM α peptidleri (PSM α 1- PSM α 4) *psma* operonunda, PSM β (PSM β 1, PSM β 2) *psm β* operonunda kodlanırken, δ - toksini RNAlII'yi kodlayan operon içinde yer almaktadır (Peschel ve Otto, 2013).

PSM'lerin hücre membrana spesifik olmayan bir şekilde bağlandığına ve membran parçalanmasına neden olduğuna inanılmaktadır. Hücrelerin PSM'lere duyarlılığı için fosfolipid bileşimi ve membran yükünün önemli olduğu kabul edilmektedir (Otto, 2014). PSM'lerin por formasyon mekanizması Şekil 2.4'te verilmiştir.



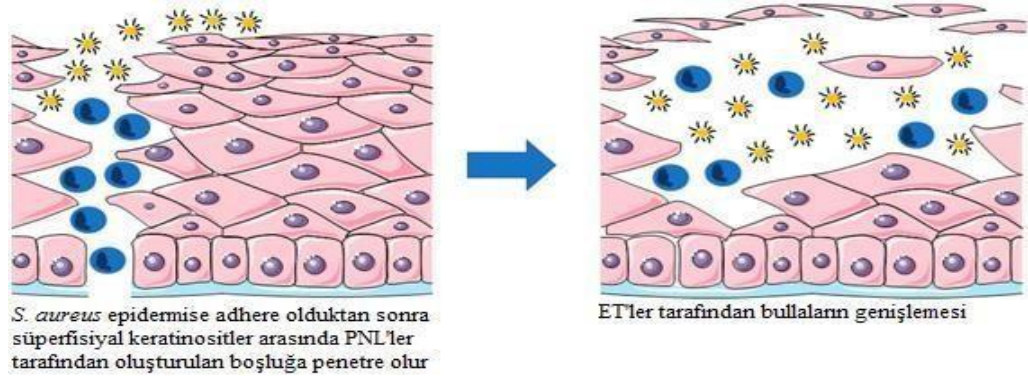
Şekil 2.4. PSM'ler için por formasyon mekanizması. PSM'ler hücre membrana spesifik olmayan bir şekilde bağlanır (1). Bu bağlanma membranın parçalanmasına yol açabilir (2). PSM'ler kısa ömürlü oligomerler şeklinde birikme ve por oluşturma eğilimindedir (Oliveira ve ark. 2018).

PSM'ler elektrik yüklerine göre de farklılık gösterir. PSM α pozitif yüklü ve PSM β negatif yüklü iken PSM δ nötr yüklüdür. PSM'lerin kısa ömürlü porlar oluşturarak oligomerler şeklinde agreste olma eğilimleri, yüzeyler üzerinde yayılmayı kolaylaştırma, biyofilmleri yapılandırma kapasiteleri patogenezdaki ana hususlar olarak görünmektedir (Peschel ve Otto, 2013).

Wang ve ark. (2007) PSM α peptidlerinin TK-MRSA suşlarının deri enfeksiyonu ve bakteriyemi neden olma yeteneği üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu; δ -toxin ve PSM β 'nin ise *S. aureus* fare enfeksiyon modellerinde çok az etkiye veya hiçbir etkiye sahip olmadığını göstermiştir. *S. aureus* kaynaklı PSM peptidlerinin biyofilm formasyonu üzerinde de etkinlikleri bulunmaktadır. Bu durum fiziko-kimyasal özellikleri nedeniyle biyofilm gelişimi üzerine PSM peptidlerinin etkisinin olduğunu ifade etmektedir (Periasamy ve ark. 2012). Ayrıca, PSM'lerin insan nötrofillerini parçalama ve inflamatuvar yanıt uyarma yeteneklerinden dolayı, stafilokokalların invazif enfeksiyonlara neden olma kapasitelerinin yüksek olduğuna inanılmaktadır (Periasamy ve ark. 2012; Rautenberg ve ark. 2011).

2.2.2. Eksfoliyatif Toksinler (ET'ler)

Epidermolitik toksinler olarak da bilinen eksfoliyatif toksinler (ET'ler), *S. aureus* tarafından salgılanan son derece spesifik serin proteazlardır. Bu proteazlar, derinin yüzeysel katmanlarındaki dezmozom kaderinlerini tanır ve hidrolize eder (Bukowski ve ark. 2010). ET'ler keratinosit bağlantılarının kopmasına ve konağın epidermisinde hücre-hücre yapışması ile ilişkili olan; cilt soyulmasına ve kabarcık oluşumuna neden olabilen ekzotoksinlerdir (Şekil 2.5) (Oliveira ve ark. 2018).



Şekil 2.5. Stafilokokal ET'lerin neden olduğu bakteriyel invazyon ve bulla oluşumu için önerilen model(Oliveira ve ark. 2018)

İlk olarak von Rittershain tarafından 1878 yılında yeni doğanlarda epidermal eksfoliyasyonun klinik özellikleri tanımlanmıştır. Ancak deride pul pul dökülme ve *S. aureus* arasındaki ilişki ise ilk kez 1967'de Lyell tarafından keşfedilmiştir. Von Rittershain ve Lyell'in keşifleri arasındaki gecikme, kabarcık sıvısı ve pul pul dökülmüş bölgelerin genellikle kulture edilebilir stafilokoklardan yoksun olmasından kaynaklanmıştır. Çünkü toksin kan dolaşımı yoluyla enfeksiyon bölgelerinden uzak bölgelere yayılmaktadır (Bukowski ve ark. 2010). Melish ve ark. (1972) ise daha önce Lyell tarafından önerilen varsayımsal bir toksinin varlığını keşfetmiş ve deneysel model olarak kullanılan yeni doğan farelerde bu toksinlerin patojenik rolünü göstermişlerdir.

Şu ana kadar ET'lerin eksfoliyatif toksin A/B/C/D (ETA, ETB, ETC, ETD) olmak üzere dört tipinin olduğu bildirilmiştir. ETA ve ETB insanlarda en fazla deri hasarına neden olan tiplerdir. ETC ise sadece atlardaki enfeksiyonlardan izole edilen izolatlarda tespit edilmiş olup; insan enfeksiyonları ilişkisi bulunmamıştır (Oliveira ve ark. 2018). ETD ise sadece 2002 yılında insanlardaki klinik *S. aureus* izolatlarında tanımlanmıştır (Nishifuji ve ark. 2008).

ET'ler *S. aureus* suşlarının yaklaşık %5'i tarafından sentezlenmektedir. ETA tipi sıklıkla Avrupa, Afrika ve Amerika kıtasındaki ülkelerde görülürken; ETB tipi Japonya'da daha yaygın olarak görülmektedir (Ladhani, 2001). Bazı *S. aureus* suşlarında ET üretimi, bullöz impetigo gibi lokalize epidermal enfeksiyonlar ve SSSS gibi genel hastalıklarla ilişkilidir (Oliveira ve ark. 2018).

SSSS cildin pul pul dökülmesi ile karakterize bir sendromdur. Ancak, erken belirtileri ateş, cilt aşırı duyarlılığı ve eritemdir. Ardından yüzeysel sıvı dolu bulla

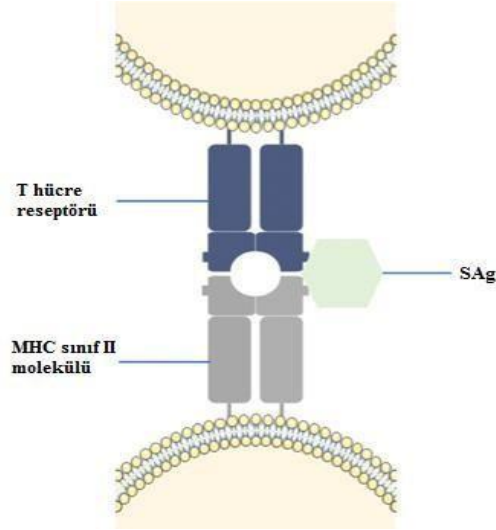
oluşumu ve ciltte ayrılmalar görülür (Popov ve ark. 2014; Bukowski ve ark. 2010). SSSS vücudun büyük bir bölümünü etkileyebilir. Ancak, daha kısıtlı alanların etkilendiği büllöz impetigo olarak kategorize edilen durumlar da görülebilir. Yukarıdaki her iki tablo da aynı etiyolojiyi paylaşır ve sadece etkilenen cilt yüzeyi miktarında farklılık görülür (Bukowski ve ark. 2010). SSSS immün sistemlerinin daha tam olarak gelişmemesi ve toksinlerin renal klirensinin zayıf olmasından dolayı esas olarak bebeklerde ve çocuklarda görülür (Bukowski ve ark. 2010; Ladhani, 2003). Çocuklar uygun tedaviye tabi tutulursa mortalite oranı oldukça düşer (yaklaşık %5) (Yamaguchi ve ark. 2002). Aksine bu sendrom yetişkinleri etkilediğinde, özellikle bağışıklık sistemleri baskılanmış olanlarda mortalite oranı yaklaşık %59'dur (Popov ve ark. 2014).

2.2.3. Süperantijenler (SAg'ler)

Orijinal olarak süperantijenler (SAG'ler), kusma ve ishal gibi tipik *S. aureus* gıda zehirlenmesi semptomlarına neden oldukları için stafilokokal enterotoksinler (SE'ler) olarak adlandırılmıştır (Gruman ve ark. 2014). Ancak, bu gruba ait en son tanımlanmış toksinlerin bazıları bu emetik özellikleri taşımadığından, 2004 yılında Uluslararası İsimlendirme Komitesi (International Nomenclature Committee) SE'lerde yeni isimlendirmeler yapmıştır (Lina ve ark. 2004).

Günümüzde 23'ten fazla tanımlanmış stafilokokal SAg toksini bulunmaktadır. Bunlar: toksik şok sendrom toksin-1 (TSST-1), stafilokokal enterotoksinler (SEA-SEE, SEG-SEJ, SEL- SEQ ve SER-SET) ve 11 stafilokokal süperantijen benzeri (SS) toksinlerden (SEIK- SEIQ, SEIU-SEIX) oluşmaktadır (Gruman ve ark. 2014; Wilson ve ark. 2011; Grumann ve ark. 2011; Ono ve ark. 2008; Bröker, 2005; Lina ve ark. 2004; Holtfreter ve Proft ve Fraser 2003).

SAG'lerin etki mekanizması ilk olarak 1988'de Bernhard Fleischer ve Hubert Schrezenmeier tarafından tanımlanmıştır. SAG'ler antijen sunan hücrelerin (APC) büyük doku uyuşum kompleksi sınıf II (MHC sınıf II) molekülleri üzerindeki korunmuş yapılarla T hücre reseptörünün V β ilmeği arasında doğrudan çapraz bağlantı kurmak suretiyle aktivasyona neden olmaktadır (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. SAg'lerin etki mekanizması. SAg MHC sınıf II moleküllerine ve T hücre reseptörünün değişken bölgesine bağlanarak çok sayıda T hücrenin uyarılmasına yol açar (Oliveira ve ark. 2018).

Bu bağlantının sonucu olarak SAg'lar sistematik olarak çok sayıdaki T-hücresinin büyük miktarlarda pro-enflamatuar sitokinler (IL-2, IFN- γ ve TNF) sentezlemesine; yüksek ateş, döküntü, deskuamasyon, kusma, ishal, hipotansiyon ve çoklu organ yetmezliği gibi semptomların ortaya çıkmasına neden olur (Oliveira ve ark. 2018; McCormick ve ark. 2001).

Aşırı sitokin sentezlenmesini T hücrelerinin sayısının artmadığı veya IL-2 sentezleyemediği bir dönem takip eder. Bu dönemde T hücrelerinin ölümü de görülebilir (Alderson ve Tough, 1995; Rellahan, 1990). Bu durum SAg'ların antikor yanıtına neden olduğunu ve oluşan antikorlar ile inhibe olan güçlü immünojenler olduğunu düşündürmektedir (Grumann ve ark. 2011; Holtfreter ve ark. 2006).

SAg'lerin sepsis, deri ve hava yolu alerjileri gibi bazı hastalıklardaki rolü tartışma konusudur (Bachert ve ark. 2010; Barnes, 2009; Bachert ve ark. 2008). Örneğin, intrinsik astımın görüldüğü kronik rinosinüzitli hastalar araştırıldığında, yaygın olarak hastaların serumlarında veya poliplerinde SAg'ye spesifik IgE antikorlarına yüksek titrelere sahip oldukları da görülmüştür. Bu durum SAg'lerin kronik solunum yolu inflamasyonunu harekete geçirdiğini veya en azından artışına neden olduğunu göstermektedir (Bachert ve ark. 2010; Zhang ve ark. 2001).

2.2.3.1. Toksik şok sendrom toksin-1 (TSST-1)

TSST-1 ilk olarak 1978'de tanımlanmış ve 1980'li yıllar boyunca daha önce

sağlıklı olan genç kadınlarda yüksek emici özelliğe sahip tamponların kullanıma girmesi ile hastalık vakaları bildirilmiştir. Bu tamponların TSST-1 için bir risk faktörü olduğunun ortaya çıkmasının ardından ve daha sonra piyasadan çıkarılmasını takiben görülme sıklığı istikrarlı bir şekilde azalma göstermiştir. Genel olarak, sadece *S. aureus* izolatlarının (<%10) küçük bir oranının TSST-1'i kodlayan *tst* genini taşıdığı ve yetişkin kadın popülasyonunda toksijenik *S. aureus* suşlarının vajinal taşıyıcılığının prevalansının %1-3 arasında olduğu rapor edilmiştir. *S. aureus*'un kolonizasyonundan enfeksiyona geçiş aşamasındaki mekanizmalar halen net değildir. TSST-1 vücudun herhangi bir bölgesindeki stafilokok enfeksiyonlarını takiben gelişebilir, ancak çoğu durumda fokal enfeksiyon kaynağı tanımlanmamıştır (Silversides ve ark. 2010).

S. aureus tarafından sentezlenen süperantijenlerden biri olan TSST-1, IL-1, IL-2, TNF- α ve diğer sitokinlerin salınmasını uyarak TSS'una neden olmaktadır. SE'lerin aksine, TSST-1 kusmaya neden olmaz. *S. aureus* izolatlarının %95'i tarafından üretilen SEIX haricinde, diğer SE'ler ve TSST-1 yalnızca az sayıdaki *S. aureus* suşu tarafından sentezlenmektedir (Wilson ve ark. 2011).

TSST-1 yoğun T hücre aktivasyonuna ve sitokin alınımlına neden olan stafilokokal bir süperantijendir. *tst* geni tarafından kodlanan TSST-1, *S. aureus* kromozomu üzerinde yer alan stafilokokal patojenite adaları (SaPI) olarak adlandırılan mobil genetik elementler(MGE) üzerinde yer alır. SaPI'ler ise belirli *S. aureus* klonları ile ilişkilidir (Novick, 2003). İnsan kökenli *S. aureus* suşlarında TSST-1 sentezinden sorumlu gen SaPI1, SaPI2 ve SaP68111 patojenite adaları üzerinde yer alır (Li ve ark. 2011; Novick ve ark. 2010). *tst* geninin bilinen regülatörleri arasında efektör molekül RNAIII aracılığıyla *S. aureus* yardımcı gen düzenleyici operon (*agr*) stafilokokal solunum yanıt düzenleyici AB (SrrAB), bir glikoz katabolit baskılayıcı CcpA, stafilokokal aksesuar regülatör A, σ B (12) ve SaeRS 2 bileşenli sistem sayılabilir (Andrey ve ark. 2015; Seidl ve ark. 2008; Pragman ve ark. 2004).

TSST-1 multisistemik bir hastalık tablosuna neden olmaktadır. Genellikle hızlı bir şekilde ateş ve hipotansiyon ile ortaya çıkar, saatler içinde progresif çoklu organ yetmezliği gelişir. Olguların çoğunda belirgin septik bir odak bile yoktur. TSS vakalarının büyük bir kısmı menstruasyon ile ilgili olmasına rağmen, bildirilen diğer toksijenik *S. aureus* kaynakları arasında cerrahi yaralar, enfekte yanıklar dahil yumuşak dokü enfeksiyonları, doğum sonrası enfeksiyonlar, intrauterin cihazlar, burun tamponları ve

zatürre sayılabilir. Postoperatif TSS vakaları yaygın olarak operasyonun ikinci gününde şekillenir ve benign görünümlü bir yara ile ilişkili olabilir. TSST-1 üreten *S. aureus* taşıyıcılığı kronik rinosinüziti olan hastaların önemli bir kısmında da tanımlanmıştır (Silversides ve ark. 2010).

2.2.3.2. Stafilokokal enterotoksinler (SE)

Stafilokokal enterotoksinler (SE'ler), ortak filogenetik ilişkilere, yapıya, fonksiyona ve sekans homolojisine sahip geniş bir stafilokokal ve streptokokal pirojenik ekzotoksin (PT) ailesine aittir. Bu toksinler, toksik şok benzeri sendromlara, gıda zehirlenmesine, çeşitli alerjik ve otoimmün hastalıklara neden olur. Bu grupta SE, TSST-1 ve bir grup streptokok pirojenik ekzotoksin yer alır. SE'ler, ısıya dayanıklı ve serolojik olarak farklı tiplere sahip geniş bir enterotoksin ailesidir. SE'ler, hem güçlü gastrointestinal toksinler olarak hem de spesifik olmayan T hücresi proliferasyonunu uyaran SAg olarak işlev görür (Balaban ve Rasouly, 2000).

Bu özellikler, proteinlerin iki ayrı domainine lokalize olmuş iki ayrı fonksiyon olmasına rağmen, bu aktiviteler arasında yüksek bir korelasyon vardır ve çoğu durumda süperantijen aktivitesinin genetik bir mutasyon nedeniyle kaybı enterotoksik aktivite kaybına da yol açmaktadır (Harris ve ark. 1993).

SE Süperailisi: SE ve enterotoksin benzeri (SEls) protein süper ailesi birçok ortak özelliğe sahiptir. Glikozile olmamış, antijenik olarak farklı, düşük molekül ağırlıklı (19-29 kDa), homolog olarak globuler yapıya katlanmış tek zincirli proteinlerdir (Çizelge 2.2) (Thomas ve ark. 2007). *S. aureus* suşlarında klasik SE'lerin (SEA-SEE) ilk karakterizasyonundan bu yana (Marrack ve Kappler, 1990), moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler 1980'li yıllar boyunca süperantijenik ve emetik aktivitelere sahip proteinler ile yakın ilişkili bir grup genin identifikasyonuna yol açmıştır (Fisher ve ark. 2018).

Tanımlanan SE'lerin sayısındaki bu ani artış, SE'lerin nomenklatürünün standardize edilmesine neden olmuştur (Lina ve ark. 2004). Sadece maymunlarda emetik potansiyeli gösterilen enterotoksinler SE olarak değerlendirilmiş; bu etkiyi göstermeyen veya primatlarda bu etkisi araştırılmamış olan enterotoksinler ise enterotoksin benzeritoksinler (SEl) olarak tanımlanmıştır. Bu kuralın tek istisnası, orijinal olarak SEF olarak adlandırılan TSST-1'dir (Reiser ve ark. 1984). Bu toksinin emetik aktivite eksikliği, muhtemelen diğer SE'lerden daha az stabil olması nedeniyledir (Edwin ve Kass, 1989) ve

bu durum adının TSST-1 olarak değiştirilmesine yol açmıştır ve o zamandan beri de bu şekilde adlandırılmaktadır. TSST-1'e katılan SEIJ, emetik olmayan diğer SE'dir (Orwin ve ark. 2001, 2002; Munson ve ark. 1998). SEIX, SEIV, SEIV, SEIV ve SEY'nin ise non-human primatlarda emetik aktivitesi henüz test edilmemiştir (Fisher ve ark. 2018).

SE genlerinin genomik lokalizasyonu: SE genlerinin lokalizasyonları göz önüne alındığında, *selx* (Wilson ve ark. 2011) ve *sely* (Ono ve ark. 2015) genleri sadece genomda bulunmaları yönünden benzersizdir. *selx* geni *S. aureus* suşlarının yaklaşık %95'inde bulunabilirken; *sely* daha az sıklıkla görülür ve şimdiye kadar sadece sınırlı sayıda izolatta tespit edilmiştir. Buna karşılık, diğer SE genleri bazen tek başına, ancak daha yaygın olarak gruplar halinde, MGE üzerinde bulunur (Argudin ve ark. 2010; Fraser ve Proft, 2008).

Bu MGE'ler profajlar, plazmidler, transpozonlar, SaPI'ler ve enterotoksin gen kümelerini (*egc*=enterotoxin gene cluster) (Çizelge 2.2) içermektedir. *egc* lokusu, SEG, SEI, SEM, SEN, SEO ve iki pseudo, (*øent1* ve *øent2*) geni kodlayan bir operona ev sahipliği yapmaktadır (Jarraud ve ark. 2001; Monday ve Bohach, 2001). *egc* içindeki delesyon, dublikasyon ve rekombinasyon olayları, yeni SE tiplerinin ve varyantlarının ortaya çıkmasında önemli bir rol oynamaktadır (Thomas ve ark. 2006; Letertre ve ark. 2003).

MGE'lerin kazanılmasının genom büyüklüğünde ve yapısında çarpıcı farklılıklara neden olması nedeniyle genel olarak genom üzerinde önemli bir etkisi vardır. Farklı *S. aureus* suşlarında SE genlerinin varlığı araştırıldığında SE gen kompozisyonunun spesifik genetik klonlarda güçlü bir şekilde bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Bu durum SE genlerini kodlayan MGE'lerin horizontal transferinden ziyade vertikal olarak aktarılmasının önemini vurgulamaktadır (Goerke ve ark. 2009).

S. aureus izolatlarının yaklaşık %80'i (komensal, klinik ve gıda zehirlenmesi vakalarından izole edilen suşlar dahil) ortalama 5–6 SE geni taşır (Umeda ve ark. 2017; Hait ve ark. 2014; Holtfreter ve ark. 2007, 2004; Becker ve ark. 2003; Baba ve ark. 2002; Jarraud ve ark. 2001).

Nukleotid ve aminoasit dizilerine göre sınıflandırılması: Halihazırda tanımlanmış 24 SE ve SEI nükleotid ve amino asit dizilerine dayalı olarak birkaç evrimsel gruba ayrılabilir: SEA grubu (SEA, SED, SEE, SEIJ, SEH, SEIN, SEIO, SEIP, SES), SEB grubu (SEB, SECs, SEG, SER, SEIU, SEIW) önceden SEIU2 olarak bilinmekteydi, SEI grubu

(SEI, SEK, SEL, SEQ, SEM, SEIV) ve SEIX grubu (TSST-1, SET, SEIX, SEY) ve süperantijen benzeri SSL toksinler olarak adlandırılan başka bir stafilokokal ekzotoksin grubunun üyeleri (Ono ve ark. 2015; Fraser ve Proft, 2008) (Çizelge 2.2).



Çizelge 2.2. Stafilokoklar enterotoksinlerin emetik ve süperantijenik aktiviteleri (Fisher ve ark. 2018)

Enterotoksin	Genetik element	SAg Aktivite	Emetik aktivite		Tip	Filogenetik grup
			Maymun	Kır Faresi		
SEA	Profaj	+	+	+	Klasik	SEA
SEB	Kromozom, SaPI, plazmid (pZA10)	+	+	+	Klasik	SEB
SEC1	SaPI	+	+	TE*	Klasik	SEB
SEC2	SaPI	+	+	+	Klasik	SEB
SEC3	SaPI	+	+	TE	Klasik	SEB
SED	Plazmid (pIB485)	+	+	+	Klasik	SEA
SEE	Profaj	+	+	+	Klasik	SEA
SEG	<i>egc1, egc2, egc3, egc4</i>	+	+	+	Yeni	SEB
SEH	Transpozon (MGEmw2/mssa476 <i>seh/Dseo</i>)	+	+	+	Yeni	SEA
SEI	<i>egc1, egc2, egc3</i>	+	<100 µg/kg	+	Yeni	SEI
SE/J	Plazmid (pIB485, pF5)	+	TE	TE	Yeni	SEA
SEK	Profajlar, SaPI1, SaPI3, SaPI5, SAPIbov1	+	+	+	Yeni	SEI
SEL	Profajlar, SaPIin1, SaPIin1, SaPIinw2, SAPIbov1	+	+	+	Yeni	SEI
SEM	<i>egc1, egc2</i>	+	+	+	Yeni	SEI
SEN	<i>egc1, egc2, egc3, egc4</i>	+	+	+	Yeni	SEA
SEO	<i>egc1, egc2, egc3, egc4</i> , transpozon	+	+	+	Yeni	SEA
SEP	Profaj (Sa3n)	+	+	+	Yeni	SEA
SEQ	Profaj, SaPI1, SaPI3, SaPI5	+	+	+	Yeni	SEI
SER	Plazmid (pI485, pF5)	+	<100 µg/kg	<100 µg/kg	Yeni	SEB
SES	Plazmid (pF5)	+	<100 µg/kg	<100 µg/kg	Yeni	SEA
SET	Plazmid (pF5)	+	<100 µg/kg	<100 µg/kg	Yeni	SE/X
SEU	<i>egc2, egc3</i>	+	TE	TE	Yeni	SEB
SE/W (SE/U2)	<i>egc4</i>	+	TE	TE	Yeni	SEB
SEV	<i>egc4</i>	+	TE	TE	Yeni	SEI
SE/X	Kromozom	+	TE	TE	Yeni	SE/X
SE/Y	Kromozom	T hücre bağımlı	TE	TE	Yeni	SE/X

*Tespit edilmedi

spesifik yapısal özelliğın varlığı veya yokluğu SE'lerin süperantijenik ve enterotoksijenik özelliklerini ağırlıklı olarak tanımlar ve evrimsel gruplar arasındaki aktivite farklılıklarını açıklar. Birincisi, SEIX ve SEB gruplarına ait enterotoksinler sadece düşük affiniteli zincirleri ile majör doku-uyuşum kompleksi (MHC)-II'ye bağlanma bölgesine sahip iken, SEA ve SEI gruplarındaki enterotoksinler düşük affiniteli zincirleri ile MHC-II molekülünün α -zincirine ve genellikle süperantijenik aktivite kazandıran yüksek afiniteli zinciri β zinciri ile de MHC-II molekülünün V β ilmediğine bağlanır. SEIX ve SEB gruplarına ait enterotoksinler MHC sınıf II kompleksini bağlanan düşük affiniteli bir zincire sahip iken; SEA ve SEI gruplarındaki enterotoksinin MHC sınıf II molekülünün α - zincirine bağlanma bölgelerine sahiptir (Kozono ve ark. 1995).

Ayrıca SE'lerin, amino asit bileşimindeki farklılıklar SEB, SEC, SED, SEG, SEI, SEK, SEM, SEN, SEO, SEIU ve SEIV genlerinde varyansların oluşumuna yol açmıştır (Pinchuk ve ark. 2010). SE'lerdeki bu mutasyonlar *S. aureus*'un farklı konakçı türlerine adapte olma stratejisinin bir parçası olarak da görölmektedir. İkincisi, disülfid bağı meydana getiren 2 sistein rezidüsü ile çevrili 9–19 arasında değişen amino asit zincirinin evrimsel olarak SEA ve SEB gruplarındaki SE üyelerinin neden olduğı kusmanın (emetik etkinin) temel bir özelliğı olarak görölmektedir (Pinchuk ve ark. 2010). Bununla birlikte, bu halkanın mutasyonel analizleri kusma için halkanın kendisinden ziyade sadece ikisistein rezidüsü arasındaki disülfid bağının gerekli olduğunu göstermiştir (Hovde ve ark. 1994). Bu veriler halkadan yoksun SE'lerin primatlarda hala kusmaya neden olabileceğini gösteren deneyler ile tutarlıdır (Omoe ve ark. 2013) ve SE'lerdeki ek tanımlanamayan kusma ile ilişkili yapısal determinantlar olduğı sonucuna neden olmaktadır.

SE sentezinin kontrolü: *S. aureus* suşlarında toksin sentezi kompleks regölatör yollarla ile kontrol edilir. *S. aureus* ortamdaki değişikliklere bir çevre algılama (QS=quorum sensing) sistemi (Waters ve Bassler, 2005) ve diğeri iki bileşenli sistemler (two component system) ile yanıt verir. *S. aureus* izolatlarında bugüne kadar iki bileşenli sistemlerden en az 16'sı (Haag ve Bagnoli, 2016) ve pek çok trans-acting regölatör protein (Bronner ve ark. 2004) keşfedilmiştir.

S. aureus önemli fizyolojik özellikler, ilaç direnci, metabolizma, konak savunma mekanizmalarından kaçınma ve virölans ile ilişkili genlerin düzenlenmesinde hızlı bir şekilde değişiklikler yapmak için bu sistemlere ihtiyaç duyar. Her sistem doğrudan veya dolaylı olarak belirli gen kümelerinin transkripsiyonunu kontrol edebilir. Bununla birlikte,

bir genin regülasyonu ek katmanların regülasyonuna yol açan birden fazla sistemden etkilenebilir (Fisher ve ark. 2018).

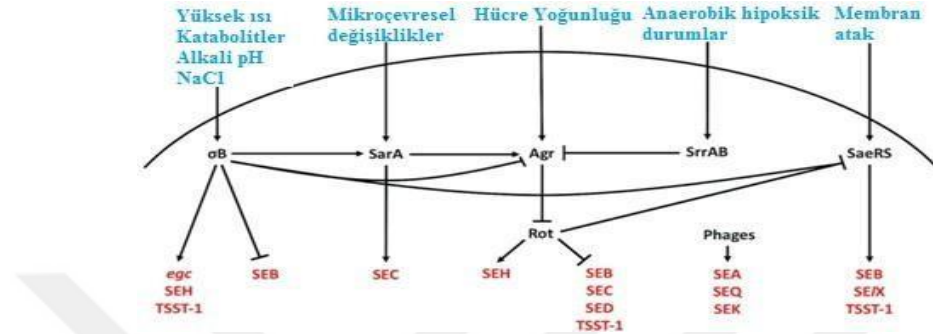
Aksesuar gen düzenleyici (Agr) QS sistemi, yüksek hücre yoğunluklarında aktive olan, zıt yönlerde transkripte edilen iki transkripsiyonel ünitelerden oluşan ve dört geni kopyalayan (*agrA*, *agrB*, *agrC* ve *agrD*) RNAII ve düzenleyici bir role sahip RNAIII'ten oluşmaktadır (Novick ve ark. 1995). Bu transkriptler sırasıyla P2 ve P3 promotorları tarafından kontrol edilir. Otomatik indükleyici peptid (AIP) dizisini içeren AgrD işlenir ve membrana lokalize eksport protein AgrB'nin ve bir tip I sinyal peptidazı olan SpsB aracılığı ile hücre dışına aktarılır (Mayville ve ark. 1999). AIP, membrana bağlı histidin kinaz AgrC için ligand görevi görür ve AgrA'nın fosforilasyonuna yol açar (Lina ve ark. 1998).

Aktive edilmiş ArgA pozitif feedback etkisi oluşturacak şekilde P2 ve P3 promoterlerine bağlanır (Koenig ve ark. 2004). Agr'nin ekspresyonu, Sar regülatör protein ailesi gibi düzenleyiciler (SarR, SarS, SarT, SarU, SarX, SarZ, SarV, MgrA ve Rot), σ B (Lauderdale ve ark. 2009) ve Rot (Cheung ve ark. 2008), SaeRS (Staphylococcal respiratory response AB) olarak adlandırılan çeşitli trans-aktivatörlerden etkilenir (Pragman ve ark. 2004).

Ek olarak, σ B ve Rot diğer iki bileşenli sistem olarak adlandırılan SaeRS'yi etkileyebilir (Li ve Cheung, 2008). Daha önemlisi tüm bu regülatör unsurlar çeşitli çevresel streslere ve uyarıcılara; SaeRS sistemi konak savunması tarafından üretilen antimikrobiyal moleküllerin membran üzerine olan ataklarına (Cho ve ark. 2015; Geiger ve ark. 2008), SarA ise büyük ölçüde mikro ortamlardaki değişikliklere yanıt verirken (Cheung ve ark. 2004); σ B yüksek sıcaklık, katabolitler, alkali pH, yüksek tuzluluğa (Pané-Farré ve ark. 2006; Kullik ve ark. 1998; Kullik ve Giachino, 1997) yanıt verir; SrrAB sisteminin ise anaerobik ve hipoksik koşullar altında bakteri çoğalması için özellikle çok önemli olduğu gösterilmiştir (Mashruwala ve Boyd, 2017; Kinkel ve ark. 2013; Pragman ve ark. 2007; Yarwood ve ark. 2001). Global gen düzenleyicisi olan Rot (Saïd Salim ve ark. 2003) ise antisens bir mekanizma yoluyla RNAIII tarafından negatif olarak regüle edilir (Boisset ve ark. 2007; Geisinger ve ark. 2006).

Klasik SE'lerin regülasyonu: *S. aureus* izolatları arasında SE ile ilişkili MGE'lerin eşit olmayan dağılımı nedeniyle konağa ait faktörlerin enterotoksin sentezi üzerine önemli etkileri vardır (Compagnone-Post ve ark. 1999; Gaskill ve Khan, 1988).

Enterotoksinlerin nasıl regüle edildiğine dair bilgiler halen eksiktir. Ancak enterotoksin sentezinin regülasyonunun büyük ölçüde yukarıda açıklanan regülatör sistemlere bağlı olduğu bilinmektedir. HLA ve PSM'ler gibi Agr kontrolünde olan stafilokok toksinleri erken logaritmik ve durağan fazlar arasında sentezlenir (Queck ve ark. 2008; Morfeldt ve ark. 1995) (Şekil 2.7)



Şekil 2.7. Stafilokokal enterotoksinlerin regülasyonu. Olumsuz üreme koşulları, ortam koşullarındaki değişiklikler, yüksek hücre yoğunluğu, hipoksi ve membran değişiklikleri sırasıyla alternatif sigma faktörü, SarA protein ailesi, Agr quorum sensing sistemi, SrrAB proteini ve iki bileşenli SaeRS sistemi yoluyla doğrudan enterotoksin ekspresyonunu değiştirir. Bu sistemlerin diğer regülatörler ve enterotoksinler üzerindeki uyarıcı ve engelleyici etkisi özetlenmiştir (Fisher ve ark. 2018).

SEB, SEC ve SED toksinlerinin sentezinin bakteri üremesinin logaritmik ve durağan fazları arasında gerçekleştiğini gösteren ilk gözlemler bunların Agr tarafından düzenlenebileceğini göstermiştir. İzogenik *S. aureus agr* mutantları wild tip suşlar karşılaştırıldığında SEC ve SED sentezinde önemli düşüşler olduğunu göstermiştir (Regassa ve ark. 1991). Ancak yapılan çalışmalarda SEB, SEC ve SED toksinlerinin sentezinin indirekt olarak diğer faktörler tarafından düzenlendiği ortaya konulmuştur. Rot'aek olarak, SEB'nin ayrıca negatif olarak σB tarafından da düzenlendiği ortaya konulmuştur (Pané-Farré ve ark. 2006; Rogasch ve ark. 2006; Ziebandt ve ark. 2004). Buna karşılık, yüksek ve düşük SEA sentezleme yeteneğine sahip *S. aureus* suşları bildirilmesine rağmen (Wallin-Carlquist ve ark. 2010; Borst ve Betley, 1994), bakteriyofajla ilişkili SEA üretimi genel olarak yapısal niteliktedir (Thomas ve ark. 2007).

SEA ekspresyonunun SEB, SEC ve SED'den farklı olduğunun bilinmesine rağmen, SEA'nın Agr'den bağımsız olarak regüle edildiği ileri sürülmüş ve doğrulanmıştır (Tremaine ve ark. 1993). SEA sentezinin fajın yaşam siklusu (Cao ve ark. 2012) ile yakın ilişkili olduğu ve bakterinin maruz kaldığı stres durumlarının varlığında indüklenebildiği keşfedilmiştir (Zeaki ve ark. 2015).

Yeni belirlenen SE'lerin regülasyonu: Yeni belirlenen enterotoksinlerin regülasyonu ile ilgili bilgiler henüz yenidir. Çoğu klasik enterotoksinlerin aksine SEIJ ve SEH dahil yeni belirlenen enterotoksinin regülasyonu Agr'den bağımsızdır (Lis ve ark. 2012; Zhang ve ark. 1998). Çoğunlukla bakteriyel üremenin geç ekspanensiyal fazında üretilen SEH'in gıda zehirlenmesi ile ilişkili ekspresyonunun son yıllarda Rot tarafından doğrudan *seh* promotoruna, σ_B 'a, çok sayıda Sar homologuna ve SaeR'a bağlanma yoluyla pozitif olarak regüle edildiği gösterilmiştir.

SaeRS'in SEIX ve TSST-1'in ekspresyonu üzerinde de olumlu bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık, *egc* operonunda kodlanan enterotoksinlerin (SEG, SEI, SEIM, SEIN, SEIO ve SEIU) sentezi ekspanensiyal üremenin erken aşamalarında en yüksek düzeydedir ve σ_B 'ye bağlıdır (Fisher ve ark. 2018).

İlginç bir şekilde, yapılan bir araştırmada SEIK sentezinin SEB varlığına bağlı olduğu gösterilirken (Aguilar ve ark. 2014), *sea* ilişkili fajlarda bulunan SEIK ve SEIQ'nin sentezinin mitomisin C tarafından transkripsiyonel olarak indüklenebileceği gösterilmiştir (Sumbly ve Waldor, 2003). Bu bulgular birlikte ele alındığında, SE'lerin sentezinin farklı çevresel sinyallere yanıt veren çok sayıdaki regülatör faktör tarafından regüle edildiği söylenebilir. Muhtemelen, bu regülatör faktörlerin kolaylaştırdığı enterotoksin ekspresyonundaki hassas denge, komensal ve patojenik *S. aureus* suşlarının yaşam şekilleri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir.

Stafilokokal gıda zehirlenmesine (SFP) neden olan SE'ler: Stafilokokal gıda zehirlenmesini kontrol etmek ve gıda güvenliğini sağlamak için hem yeni hem de klasik SE'lerin rolleri dikkate alınmalıdır. Çok çeşitli SE tespit yöntemlerinin geliştirilmesine rağmen, SE genlerinin moleküler tespiti SE'lerin SFP'ye olası katkılarının araştırılmasında kullanılan en yaygın yöntem olarak halen önemini korumaktadır. Son yirmi yılı kapsayan moleküler çalışmalar *egc* operonu tarafından kodlanan genlerin (*seg*, *seh*, *sei*, veya *selj*) varlığını dünya çapında *S. aureus* kaynaklı gıda zehirlenmesi olgularından izole edilen izolatlarda tespit edildiğini göstermiştir (Shen ve ark. 2017; Umeda ve ark. 2017; Cheng

ve ark. 2016; Song ve ark. 2016; Chao ve ark. 2015; Johler ve ark. 2015; Viçosa ve ark. 2013; Yan ve ark. 2012; Grumann ve ark. 2008; Blaiotta ve ark. 2004). Ek olarak, transpozon ile ilişkili *seh* (Jørgensen ve ark. 2005; McLauchlin ve ark. 2000), plazmid ilişkili *ser* (Wattinger ve ark. 2012) ve SaPI ilişkili *seq* (Hu ve ark. 2017; Alibayov ve ark. 2014; Lv ve ark. 2014; Chiang ve ark. 2008) gibi *egc* tarafından kodlanmayan enterotoksigenlerinin saptanması SFP'de bu yeni SE'lerin rolünü akla getirmektedir.

SE genlerinin belirlenmesinde PCR değerli bir araç olsa da kontaminasyondan şüphelenilen gıda ürünlerinde toksin varlığının fiziksel olarak konfirmasyonu SFP'e olan katkılarını açıkça doğrulamak için gereklidir. Klasik beş SE'nin immünolojik tespiti, SFP salgılarından yaklaşık %80 oranında SEA'nin neden olduğunu (Pinchuk ve ark. 2010; Hennekinne ve ark. 2012), bunun ardından SED, SEB, SEC ve SEE toksinlerinin geldiğinin tespitine yardımcı olmuştur (Hu ve Nakane, 2014). Aksine, hassas tespit yöntemlerinin olmaması nedeniyle, yeni SE'ler için bu tür sonuçlara varmak imkansızdır. Ancak, son on yılda klasik olmayan enterotoksinler için de örneğin SEG (Nagaraj ve ark. 2016), SEH (Su ve Wong, 1996), SEI (Zhao ve ark. 2016), SEK (Aguilar ve ark. 2014), SEM (Zhao ve ark. 2017) ve SEQ (Hu ve ark. 2017) için de artan sayıda immünolojik analiz yöntemleri geliştirilmiştir. Bu testler yeni enterotoksinlerden bir veya daha fazlasının SFP salgılarının potansiyel nedenleri olduğunu göstermiştir. Birden fazla enterotoksinin fiziksel varlığını inceleyen az sayıda çalışma olmasına rağmen, birden çok SE'nin SFP'ye katkıda bulunması büyük olasılıktır. Mevcut multipleks analiz metodlarının genişletilmesi (Adhikari ve ark. 2016; Liang ve ark. 2015) tüm SE'leri aynı anda tespit edilmesinde en etkin strateji olacaktır. Bununla birlikte, her platformun kendine has avantaj ve dezavantajları vardır. Tüm SE'leri tespit etmek için ideal bir platform, yüksek hassasiyete, düşük çapraz reaktiviteye ve universaluyarlanabilirliğe sahip olmalıdır. Böyle bir sistem oluşturmak imkansız olmasa da, önemli kaynak gerektiren son derece zor bir iştir (Wu ve ark. 2016).

SE sentezleyen *S. aureus* suşlarının yayılmasında major rezervuarlar: İnsanlar *S. aureus* ile yaygın olarak kolonize olmaktadır. Etken insanların derisinde (primer olarak ellerde, göğüste ve karında), gastrointestinal kanalda ve nazofarinste bulunabilir. Tüm bu bölgeler, insanlarda hastalığa neden olan *S. aureus* suşlarının yayılımında rezervuar olarak rol oynamaktadır. *S. aureus* ile nazal mukozanın kalıcı kolonizasyonunun (nüfusun yaklaşık %20-30'unu oluşturduğu tahmin edilmekte) özellikle de

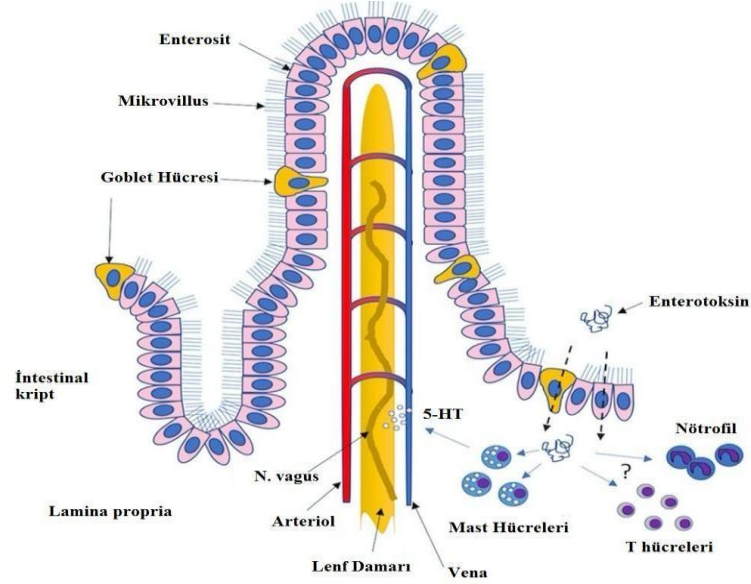
hastane kaynaklı enfeksiyonlarla ilişkili en önemli risk faktörü olduğuna inanılmaktadır (Verhoeven ve ark. 2014; Von Eiff ve ark. 2001).

FP olgularında burundan (Ho ve ark. 2015; Wattinger ve ark. 2012; Collery ve ark. 2009; Nashev ve ark. 2007) ve barsaktan (Shin ve ark. 2016; Lis ve ark. 2009) alınan örneklerden izole edilen *S. aureus* suşlarında enterotoksin genlerinin varlığını araştıran çalışmalar burun ve bağırsağın enterotoksin üreten *S. aureus* yönünden önemli bir kaynak teşkil ettiğini göstermiştir.

Hayvansal kaynaklı gıdaların enterotoksin sentezleyen *S. aureus* suşları ile kontaminasyonu da SFP vakalarına neden olmaktadır. Gıdaların *S. aureus* tarafından kontaminasyonu doğrudan infekte gıda yönlü yetiştirilen hayvanlardan kaynaklanabildiği gibi üretim veya depolama aşamasındaki yetersiz hijyenden de kaynaklanabilir (Yıldırım ve ark. 2019; Özdemir ve Keyvan 2016).

SE kaynaklı kusma ve diyarenin mekanizması: SE'lerin enterotoksijenik etkilerinin altında yatan moleküler mekanizmalar hayvan modellerinin eksikliği nedeniyle sekteye uğramıştır. Ancak, Asya Ev Sivri faresi (*Suncus murinus*) yakın zamanda uygun bir hayvan modeli ve maymunların kullanılmasına alternatif olarak tanımlanmıştır (Hu ve ark. 2003). Kır farelerinde yapılan araştırmalar, dallı bir bağlantı ağı olan ve vücudun birden fazla organını beyne bağlayan ve vagus olarak adlandırılan sinirin SE kaynaklı kusma için temel bir unsur olduğunu doğrulamıştır. Kır farelerinde yapılan çalışmalarda SE kaynaklı MHC II'den bağımsız mast hücresi granüllerinden 5-hidroksitriptamin (5-HT/Serotonin) salınımının SE tarafından indüklenen kusma için çok önemli olduğunu göstermiştir. Emetik yanıtı dahil olan diğer agonistler de bildirilmiştir (Jett ve ark. 1990; Alber ve ark. 1989; Scheuber ve ark. 1987).

Mast hücrelerine ek olarak SE'lerin epitelyal hücreler (Zhao ve ark. 2016; Danielsen ve ark. 2013; Shupp ve ark. 2002; Hamad ve ark. 1997) ve goblet hücreleri (Hirose ve ark. 2016) için de bir affiniteye sahip olduğu görülmüştür. Mast hücrelerinin aksine, SE'ler bağırsak epitelini geçerek diğer nihai hedeflerine ulaşmak için epitel hücrelerini (Danielsen ve ark. 2013) ve mukus üreten goblet hücrelerini (Hirose ve ark. 2016) kullanır. (Şekil 2.8)



Şekil 2.8. Enterotoksine bağlı kusmanın mekanizması. SE'ler, bağırsak epitelindeki mukus salgılayan goblet hücreleri ve epitel hücrelerinden Lamina propria'ya geçer. L. propria'da SE'ler, 5-hidroksitriptamin (5-HT/serotonin öncüsü) salınımını indükler. 5-HT ise vagus siniri ile etkileşime girerek emetik bir etkinin oluşmasına neden olur. Enterotoksijenik hastalık tablosunun gerçekleşmesinde farklı tipteki T hücreleri ve nötrofillerin uyarılmasının da rolü bulunmaktadır (Fisher ve ark. 2018).

Enterotoksinlerin epitel hücrelerindeki hareketinin, glikolipide bağımlı bir transitozis süreci olduğu düşünülmektedir (Edwards ve ark. 2012). İlginç bir şekilde, enterotoksinlerin A ve B domainleri arasındaki en uzun alfa-helikal zincir içinde yer alan 10 amino asitlik korunmuş bölge dizisi translokasyonu teşvik eden yapısal bir determinantdır (Shupp ve ark. 2002). Güçlü emezisin indüksiyonunun aksine, ishalin klinik semptomları genellikle SFP'de daha az belirgindir. Bu durum kısmen SEA ve SEC gibi bazı SE'lerin sıvı eksudasyonuna ve intestinal segmentlerin dilatasyonuna neden olmadaki yetersizliğine bağlanmaktadır (Mainave ark. 2012).

SEB intoksikasyonunda bazı durumlarda görülen ishalin nedeni ise ince bağırsakta su ve elektrolit geri emiliminin engellenmesine bağlanmaktadır. Şu ana kadar SE'lerin tam olarak ishale nasıl neden olduğu anlaşılamamıştır (Fisher ve ark. 2018).

Enterotoksinlerin süperantijenik aktiviteleri: SE'lerin süperantijenik aktivitesinin altında yatan moleküler mekanizmalar çok sayıda X-ray kristalografisi, yapısal ve mutasyonel analizler ile araştırılmıştır. Geleneksel antijenlerden farklı olarak, T hücrelerinin SE'ler tarafından non-spesifik aktivasyonu, APC'ler tarafından antijenleştirilmesi ve T hücrelerine sunumundan bağımsız olarak gerçekleşir. Bunun yerine, SE'ler APC'ler ve T hücreleri arasında bir köprü görevi görür.

Vakaların çoğunda, SE'ler önce APC'lerde bulunan MHC sınıf II moleküllerine bağlanır ve T hücresi reseptörlerinin (TCR'ler) bir veya daha fazla değişken beta (V_β) zincirine (zincirlerine) bağlanmayı koordine eder (Jarraud ve ark.2001; Choi ve ark. 1990; Kappler ve ark. 1989; White ve ark. 1989). Bununla birlikte, bu moleküler etkileşimler özel değildir ve diğer reseptörlerin de dahil olduğu açıklanmıştır. Örneğin, değişken zincirin alfa ilmeği (V_α) SEH tarafından hedeflenmektedir (Saline ve ark. 2010). Ayrıca, SEB'nin maksimum süperantijenik aktivitesi ilave ko-stimülatör reseptörlere (T üzerinde bulunan CD28 ve APC üzerinde bulunan B7-2) de bağlıdır (Levy ve ark. 2016; Arad ve ark. 2011). Aynı şekilde SEA ve TSST-1'de CD28 bağlanma bölgesini kullanabilmektedir (Arad ve ark. 2011).

Çok sayıda CD4+ ve CD8+ T hücresinin (toplam T hücrelerinin yaklaşık %20'si) poliklonal aktivasyonu (Leder ve ark. 1998; Miethke ve ark. 1992; Marrack ve ark. 1990) ve Th1 hücrelerinden TNF α , IL-1, IL-2, interferon (IFN) (Tiedemann ve Fraser, 1996; Carlsson ve ark. 1988) gibi yoğun sitokin sentezi SE aktivitesi için karakteristiktir. Bu faktörlerin hepsi SE'lerin süperantijenik etkisine katkıda bulunur (Krakauer ve ark. 2016; Krakauer, 2013).

SE'lerin immun sistem hücreleri üzerine immunomodulatör etkileri: SE'lerin süperantijenik ve enterotoksijenik aktiviteleri patojenitelerinin altında yatan en iyi çalışılmış mekanizmalardır. Bununla birlikte, son yıllarda yapılan araştırmalar, SE'lerin bu konvansiyonel fonksiyonlarına ek olarak farklı fonksiyonlara da sahip olduğunu göstermiştir. Örneğin hem TSST-1 hem de SEIX (Wilson ve ark. 2011) stafilokokal süperantijen benzeri (SSL) toksinler olarak adlandırılan diğer stafilokokal ekzotoksin ailesine benzerlik göstermektedir (Fraser ve Proft. 2008).

SSL toksinlerinin V_β -spesifik T hücre proliferasyonu indükleme yeteneği olmamasına rağmen, komplement aktivasyonuna ve nötrofil fonksiyonuna mani olmak gibi immun yanıtı kurtulmada farklı rollere sahiptir (Langley ve ark. 2010).

Son zamanlarda, SEIX'in benzersiz bir sialik asit bağlama motifine sahip olduğu keşfedilmiştir. Bu motif, SEIX'in immun tanıma ve hücre aktivasyonunda rol oynayan adhezyon molekülleri ile etkileşime girmesine olanak verir (Langley ve ark. 2017; Tufts ve ark. 2017). *S. aureus*'a karşı ilk savunma hattı olarak kabul edilen, SEIX'in *S. aureus*'a bağlanma yeteneği tavşan nekrotizan pneumoni modelinde hastalığın ilerlemesi için önemli olduğu kabul edilmektedir. Bu çalışmalar, SE ailesinin alışılmadık bir üyesinin

hem süperantijenik hem de SSL özelliklere sahip olmasını tanımlar (Spaan ve ark. 2013).

Nötrofiller SE'ler tarafından doğrudan veya dolaylı olarak tanınarak hedeflenen büyüyen immun sistem hücrelerinin en yenileri arasındadır. SE'ler tarafından hedeflenen hücreler arasında $\gamma\delta$ T hücreleri (Morita ve ark. 2001), invariant doğal öldürücü T (iNKT) hücreler (Hayworth ve ark. 2012), B hücreleri (Stohl ve ark. 1994), mast hücreleri (Lotfi-Emran ve ark. 2018) ve mukoza ile ilişkili invariant T (MAIT) hücreleri (Shaler ve ark. 2017) bulunmaktadır. Bu hücre tiplerinin SE'ler tarafından aktivasyonu, bağışıklık sisteminin konvansiyonel olmayan aşırı uyarılmasına neden olan bağışıklık sistemi üzerinde önemlietkiye sahiptir. Bu durum B hücresi proliferasyonu ve plazma hücrelerine farklılaşması ile örneklendirilmektedir (Stohl ve ark. 1994).

Ayrıca iNKT hücrelerinin ve $\gamma\delta$ T hücrelerinin doğrudan aktivasyonunun bir sonucu olarak şekillenen aşırı inflamasyon ve sistemik enfeksiyona, fare enfeksiyon modellerinde gösterildiği üzere (Szabo ve ark. 2017), akciğerlerde SE ile ilişkili yangısal hastalık oluşumuna neden olabildiği gösterilmiştir (Rieder ve ark. 2011). SE'ler tarafından immun yanıtın aşırı stimülasyonunun aksine MAIT hücrelerinin aktivasyonunun tam tersi bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Shaler ve ark. 2017).

MAIT hücreleri çeşitli patojenlere karşı doğuştan gelen konak savunmasında önemli rollere sahiptir (Napier ve ark. 2015). Özellikle, MAIT hücrelerinin SE'ler tarafından aktivasyonunun TCR'den bağımsız bir şekilde indüklendiği gösterilmiştir (Shaler ve ark. 2017). MAIT hücrelerinin SE'ler tarafından doğrudan aktivasyonu dışında MAIT hücre aktivasyonuna çoğunlukla SE'lerin direkt etkisiyle T hücreleri tarafından salınan IL-12 ve IL-18 aracılık eder. Bu hiperaktivasyon periyodunu takiben MAIT hücreleri hızla tükenir ve daha fazla yanıt veremez hale gelir (Shaler ve ark. 2017).

Enterotoksitenin T-hücre bağımlı immunomodulasyonu: SE'lerin süperantijenik fonksiyonlarının enterotoksijenik aktiviteleri için gerekli olup olmadığı ilginç bir konudur. Süperantijen kaynaklı hastalığın ayırt edici özellikleri olan şok ve ateş, SFP'li hastalarda genellikle düşüktür veya yoktur (Dinges ve ark. 2000). Bu durum sistemik immun yanıtın aktivasyonuna karşı bir tartışmaya neden olmaktadır. Bununla birlikte SEA'nın bir protein derivatının (süperantijenik aktivite yönden defektif fakat emetik etkisi korunmuş) emetik etkisi maymun modelinde yapısı değiştirilmemiş SEA ile karşılaştırılmış ve kusmayı indüklemek için SEA'nın protein derivatının 5 kat daha fazla verilmesi gerektiği belirlenmiştir (Hoffman ve ark. 1996). Bu gözlem, SE'lerin hem

süperantijenik hem de enterotoksik aktivitelerinin muhtemelen maksimum emetik yanıt için gerektiğini ifade etmektedir.

İmmun etkileşimin araştırılması gereken diğer bir yönü T hücrelerinin SE'lerin enterotoksik aktivite üzerine potansiyel rolünün araştırılmasıdır. Bağırsakta bulunan T-hücrelerinin yaklaşık %10'unu temsil eden (Dusseaux ve ark. 2011; Treiner ve ark. 2003) MAIT hücrelerinin gastrointestinal sistemdeki bakteriyel enfeksiyonlara karşı koruyucu bir rolü olduğu gösterilmiştir (Powell ve Macdonald, 2017; Salerno-Goncalves ve ark. 2017).

Bağırsak mukozasında bulunan T hücrelerinin %50'si $\gamma\delta$ tip TCR'ü taşır (Carding ve Egan, 2002) ve mukozal bağışıklıkta önemli bir rol oynar (Agace, 2008). Ayrıca SE'lerin çok düşük konsantrasyonlarda yüksek potense sahip olması SE'lerin yüksek düzeyde ekspresyonlarının SE aracılı hastalığın ilerlemesi için gerekli olmayabileceği belirtilmiştir. Regülatör T hücreleri (Treg'ler) daha düşük SEC konsantrasyonları ile uyarıldığında, *S. aureus* kolonizasyonundan ve hastalığın ilerlemesinden doğrudan fayda sağlayabilecek bir immünoşüpresif fenotip indükleyebilir (Luu ve ark. 2017).

Sağlıklı bağırsakta Treg'ler uygunsuz bağışıklık tepkilerini kontrol ederek bağırsak homeostazının korunmasında çok önemli bir rol oynar. Bu nedenle, bağırsakta MAIT hücrelerinin, $\gamma\delta$ T hücrelerinin ve Treg'lerin SE'ler tarafından ortak hedeflenmesi SFP'nin patogenezi artırdığı spekülasyonunu cazip hale getirmektedir. MAIT, $\gamma\delta$ T hücreleri ve Treg'lerin SFP'de rol oynayıp oynamadığı çok daha ayrıntılı araştırma gerektirmektedir (Luu ve ark. 2017).

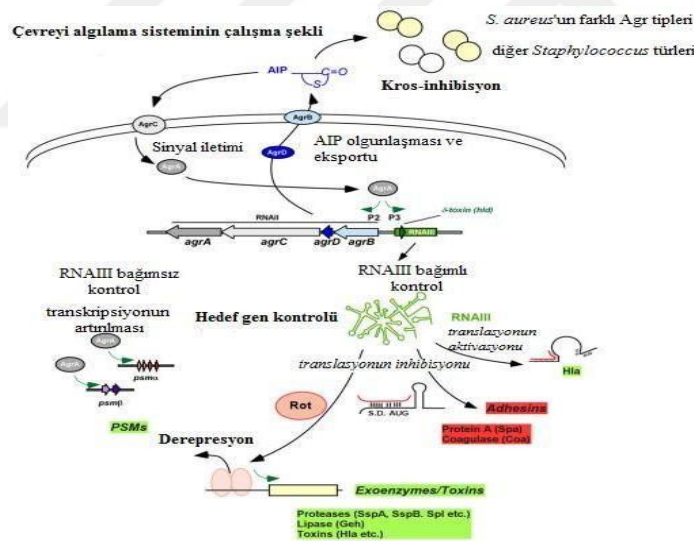
Klasik SE'lerin tarihsel olarak SFP'ye sıklıkla neden olduğu kabul edilmekle birlikte; moleküler çalışmalar yeni SE'lerin çoğunun da ayrıca önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, hangi SE'lerin SFP'den sorumlu olduğunu daha iyi belirlenmesi için SFP salgınlarını araştırarak çalışmalarda hem SE genlerini hem de toksinin fiziksel varlığını tespit edebilen yöntemler kullanılmalıdır. SFP'ye neden olan olgularda *S. aureus*'un kültürünün yapılması ve doğru bir şekilde karakterize edilmesi, SFP'nin gerçek insidansının ve prevalansının anlaşılmasına önemli ölçüde yardımcı olacaktır.

Ayrıca kontamine gıdalarda SE'lerin tespit edilmemesi SE'lerin SFP'ye olan katkısını göz ardı ettirmemelidir. Bu nedenle, özellikle gıda ortamlarında hangi faktörlerin SE üretimini teşvik ettiğine yönelik daha detaylı bir bilgiye sahip olmak büyük önem taşımaktadır.

2.3. Agr Sistemi

Stafilokokların fizyolojik olarak çevreye adaptasyonunu sağlayan düzenleyici mekanizmalar arasında, quorum sensing (çevreyi algılama) patogenezin kontrolü için en önemli ve en yoğun çalışılan mekanizmalardan biridir. Quorum sensing, hücre yoğunluğuna ve çevreye bağımlı olarak hücre-hücre aracılığıyla gerçekleşen gen regülasyonudur (Waters ve Bassler, 2005). Accessory gene regulator (Agr) sistemi stafilokoklardaki regülatör sistemlerden biridir ve Gram-pozitif bakterilerde prototip quorum sensing regülatör sistemi olarak kabul edilmektedir (Kleerebezem ve ark. 1997)

Agr lokusu 3.5 kb büyüklüğündedir ve transkripsiyonu sırasıyla P2 ve P3 promotorları tarafından yönlendirilen RNAII ve RNAIII olmak üzere iki farklı transkripsiyonel üniteden oluşmaktadır (Kornblum ve ark. 1990; Peng ve ark. 1988). RNAII lokusu *agrB*, *agrD*, *agrC* ve *agrA* olmak üzere dört gen içermektedir (Kornblum ve ark. 1990) (Şekil 2.9). *agrD* geninin transkripti otomatik indükleyici peptid (AIP) olarak adlandırılan, Agr'nin ekstraselüler quorum sinyalinin bir peptid öncüsünü kodlamaktadır (Ji ve ark. 1995). (Şekil 2.9)



Şekil 2.9. Stafilokoklarda Agr kontrolü. AIP sinyali AgrD öncüsünden üretilir ve AgrB tarafından olgunlaştırılarak hücre yüzeyine sunulur. Belirli bir eşik konsantrasyonunda, AIP, iki bileşenli AgrC-AgrA sistemini etkinleştirir ve fosforile AgrA, otomatik feed-back düzenlemesiyle sonuçlanan P2 promotörün transkripsiyonu etkinleştirir. Agr'nin önemli bir özelliği, diğer Agr spesifite gruplarına ve diğer türlere ait suşlarda çapraz inhibisyon, yani Agr aktivitesinin inhibisyonu ile sonuçlanan grup spesifitesidir. Çoğu Agr hedefi RNAIII aracılığıyla regüle edilir ve RNAIII'ün transkripsiyonu düzenlenir, transkripsiyonu P3 promotörü aracılığıyla AgrA tarafından arttırılır. RNAIII ayrıca delta toksin (hld) genini de içerir. RNAIII hedef genleri 5'UTR'leri baz eşleştirme ile kontrol eder ve çoğunlukla bu etkisini translasyonu inhibe ederek gösterir. Bu, protein A gibi Agr ile inhibe edilen hedef genlerin doğrudan inhibisyonu için kullanılırken; represör Rot'un translasyonunun inhibisyonu alfa-toksin gibi klasik Agr hedef toksinlerinin çoğunun transkripsiyonunun tekrar baskılanmasına yol açar. AgrA ayrıca, Agr hedef gen regülasyonunun RNAIII'den bağımsız bir modunda, PSM peptidlerini kodlayan *psmA* ve *psm β* operonlarının transkripsiyonunu arttırır. SD, Shine/Dalgarno dizisi; AUG, kontrol edilen genin başlangıç kodonu (Le ve Otto, 2005).

AIP'in olgun formu 7-9 amino asit uzunluğundadır ve merkezi olarak yerleşmiş sistein ile C terminusu arasında karakteristik bir tiyolakton (veya *Staphylococcus intermedius*'da lakton halkası) halkası içermektedir (Novick ve Geisinger, 2008; Ji ve ark. 2005; Otto ve ark. 1998). *agrB* geninin transkripti modifiye edilmiş tiyolaktonun hücre içine girişinden, AIP'in C-terminal kısmının ayrılmasından ve hücre dışına salınmasından sorumlu bir transmembran endopeptidazdır (Zhang ve Ji, 2004; Zhang ve ark. 2002; Saenz ve ark. 2000). Hücre dışı ortamda ise tip I sinyal peptidaz SspB ile AIP'ne son hali verilir (Kavanaugh ve ark. 2007). *agrC* ve *agrA* genleri ise bir histidin kinaz sensörü AgrC ile AIP'nin bağlanmasını takiben fosforile olan bir transmembran proteininden oluşan iki bileşenli bir sinyal iletim sistemini kodlar (Queck ve ark. 2008; Lina ve ark. 1998; Novick ve ark. 1995). AgrC'ye bağlı fosforilasyon ile aktive edildikten sonra AgrA, RNAII için P2 promotör bölgesine ve RNAIII için ise P3 promotör bölgesine (Koenig ve ark. 2004) ayrıca PSMA ve PSM β peptidlerinin ekspresyonunu kontrol eden promotorlara bağlanır (Queck ve ark. 2008; Novick ve ark. 1995).

Staphylococcus spp. içinde *agr* lokusu genellikle iyi korunmuş olmasına rağmen, *agrB*, *agrC* ve *agrD* dizilerindeki varyasyonlar farklı sinyal iletim spesifiklerine sahip AIP'lerin sentezlenmesine, kendi aktivasyonuna ve kendine ait olmayan Agr gruplarının çapraz inhibisyonuna neden olur (Olson ve ark. 2014; Otto ve ark. 2001; Ji ve ark. 1997). Bu durum evrimsel selektif baskıların bir yansıması olarak da yorumlanmaktadır (Novick ve Geisinger, 2008).

AIP'nin yanı sıra Agr, SarA (Heinrichs ve ark. 1996) veya SrrAB (Yarwood ve ark. 2001) gibi diğer regülatörler ve glikoz konsantrasyonu veya pH gibi çevresel faktörler tarafından da aktive edilebilmektedir (Regassa ve ark. 1992).

2.3.1. RNA III-bağımlı gen regülasyonu: RNAIII, Agr hedeflerinin kontrolünden sorumlu Agr sisteminin hücre içi efektör molekülüdür (Novick ve ark. 1993). Aynı zamanda delta-toksin (veya delta-hemolizin) sentezinden sorumlu *hld* geni için bir haberci RNA'dır (Janzon ve ark. 1989). RNAIII'ü hedef gen ekspresyonunu kontrolünde temel mekanizma, genin 5' ucunun transle edilmemiş bölgelerine (5' UTRs) antisens bazların eklenmesi ile dubleks RNA oluşturulmasıdır. Alfa-toksin hariç, buradaki RNAIII ayrıca transkripsiyon sonrası bir aktivatör olarak da işlev görebilir ve RNAIII genellikle transkripsiyonu inaktive eder (Boisset ve ark. 2007; Morfeldt ve ark. 1995).

RNAIII'in ayrıca transkripsiyon sonrası bir aktivatör olarak da hareket edebildiği

alfa-toksin sentezi hariç (Morfeldt ve ark. 1995), RNAIII genellikle translasyonu inaktive eder (Boisset ve ark. 2007). Bu doğrudan mekanizma ile RNAIII, ağırlıklı olarak protein A gibi bir dizi yüzey proteinlerinin üretimini inhibe eder. Ayrıca, RNAIII staphylococcal accessory regulator (Sar) transkripsiyonal regülatör familyasına ait represör toksin proteininin (Rot) transkripsiyonunu engeller (Boisset ve ark. 2007; Saïd-Salim ve ark. 2003; McNamara ve ark. 2000).

Rot, çok sayıda ekzoprotein ve toksinin promotör bölgesine bağlanarak transkripsiyonlarını bloke eder. Bu mekanizmalar bakteri yoğunluğuna bağlı olarak enterotoksinlerin, alfa-toksinin, lökositinlerin, degradatif ekzoenzimlerin up-regülasyonuna, yüzey proteinlerin ise down-regülasyonuna neden olur. Ayrıca genom düzeyinde yapılan gen ekspresyon analizleri, virülans belirleyicilerinin kontrolüne ilave olarak, Agr kontrolü ayrıca bir seri metabolik hedefler içerir (Cheung ve ark. 2011; Yao ve ark. 2006; Dunman ve ark. 2001). Bu genel fizyolojik adaptasyonlar enfeksiyon sırasında değişen gereksinimlere bakteriyel fizyolojinin adaptasyonuna yardımcı olabilmektedir.

2.3.2. RNA III- bağımsız gen regülasyonu: RNAIII'in uzun süre Agr'ın hedef genlerikontrol etmesinde tek mekanizma olduğuna inanılırken, respons regülatör AgrA'nın sadece P2'ye ve P3 promotorlarına bağlanmadığı ayrıca, aynı zamanda ilişkili promotor sekanslarına da bağlanarak da direkt olarak *psma* ve *psm* β operonlarının transkripsiyonunu up-regüle ettiğide bulunmuştur (Queck ve ark. 2008).

PSM'ler delta-toksinini de içeren stafilokok peptid toksin familyasında yer almaktadır (Cheung ve ark. 2014). Delta-toksin geni RNAIII içine gömülü bir şekilde bulunduğundan, RNAIII'nin delta-toksin geni etrafındaki evrimsel değişikliklerin AgrA ve *psm* genlerinin muhtemel quorum-sensing mekanizması ile kontrolünden oluşan çok eski regülatör ağına bağladığı ileri sürülmektedir (Queck ve ark. 2008).

2.3.3. Agr'ın akut enfeksiyon ve toksisite üzerine etkisi

S. aureus suşlarında virülans faktörlerinin Agr tarafından up-regülasyonu akut hayvan enfeksiyon modellerinde (infektif endokardit, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, pnömoni, septik artrit, osteomyelit) hastalığın ilerlemesi için gerekli olduğu gösterilmiştir (Le ve Otto, 2015)

PSM'lerin ve mikrobiyal yüzey moleküllerinin Agr tarafından down regülasyonunun ise biyofilm formasyonunun şekillenmesinde ve invazif medikal cihazlara bakteriyel kolonizasyonda artışa neden olmaktadır (Periasamy ve ark. 2012; Vuong

ve ark. 2004; Wang ve ark. 2001). Agr lokusunun disfonksiyonu ise persistent *S. aureus* bakteriyemisi ile ilişkilidir (Fowler ve ark. 2004).

Genel olarak, bir yandan toksinlerin ve degradatif ekzoenzimlerin hücre yoğunluğuna bağımlı Agr up regülasyonu diğer yandan ise yüzey komponentlerinin down-regülasyonu bir bakteriyel enfeksiyonun seyri sırasında spesifik virülans determinantlarının farklı zamanlardaki gereksinimlerini yansıttığı kabul edilmektedir. Bir enfeksiyonun başlangıcında, düşük bakteri yoğunluğu ve bunun sonucunda Agr'ın düşük düzeyde ekspresyonu etkenin dokulara başlangıçtaki kolonizasyonu için gerekli olan yüzey bileşenlerinin sentezi ile sonuçlanmaktadır. Kolonizasyon gerçekleşikten sonra bakteriler toksinlerin ve ekzoenzimlerin Agr bağımlı up-regülasyonu sayesinde ilave besin kaynaklarına ihtiyaç duydukları yoğunluğa ve konak savunmalarına karşı artan bir korunma düzeyine ulaşır. Özellikle, aynı zamanda birçoğu pro-enflamatuar özelliğe sahip toksinlerin üretimini tayin eden bu zamanlama gelişen bakteri yoğunluğunun konakçı savunma saldırıları ile baş edebildiği düzeye gelene kadar geciktirilebilir. Bu durum *S. aureus* bakteriyemisi sırasında özellikle Agr ve Agr kontrollü faktörlerin muhtemel rolü ile ilişkili bulgularını açıklamaktadır (Cheung ve ark. 2014; Fowler ve ark. 2004).

Sonuç olarak, virulans determinantlarının Agr kontrollü ekspresyonunun enerji tüketimine neden olduğu ve bunun da antibiyotik dirençli suşlarda antibiyotik direncinin ekspresyonu ile dengelenmesi gerektiğini belirten çalışmalar bulunmaktadır (Rudkin ve ark. 2014; Joo ve ark. 2010). Spesifik olarak, antibiyotiklerin sub-inhibitör konsantrasyonlarının fitness cost'a neden olarak Agr ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Rudkin ve ark. 2014; Paulander ve ark. 2013; Joo ve ark. 2010). Bu durum hastane enfeksiyonlarından izole edilen suşlarda fonksiyonel olmayan Agr mutantlarının oluşumuna neden olmaktadır (Paulander ve ark. 2013; Traber ve ark. 2008).

2.3.4. Agr tarafından kontrol edilen virulans determinantlar

Agr tarafından salınımı düzenlenen toksinlerden biri *hla* lokusu tarafından kodlanan alfa-toksindir (alfa-hemolizin, Hla). Hla konak hücre membranındaki disintegrin ve metaloproteaz 10 (ADAM10) reseptörüne bağlanan 319 amino asit uzunluğunda silindirik por oluşturan bir toksindir (Berube ve Bubeck Wardenburg, 2013; Wilke ve Bubeck Wardenburg, 2010).

Hla, insanlarda stafilokok enfeksiyonlarında önemli rol oynamaktadır. Hayvan enfeksiyon (pnömoni, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonu ve endovasküler

enfeksiyon) modelleri incelendiğinde, izogenik *hla* mutantlarının doğal (wild-type) suşlara kıyasla hastalık şiddetinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Le ve Otto, 2015).

İki bileşenli lökositinler genellikle Panton-Valentine Lökositin (PVL), γ -hemolizin, LukDE, ve LukGH (LukAB)'yi içeren Agr kontrollü por oluşturan bir familya oluşturmaktadır (Alonzo ve Torres, 2014; Cheung ve ark. 2011; Queck ve ark. 2008). PVL'nin daha önce düşünülen aksine şiddetli stafilokok enfeksiyonlarında daha sınırlı bir rol oynadığına inanılırken (Otto, 2011), LukED *S. aureus* kaynaklı hastalık gelişimini kontrol eden önemli bir faktör olarak ortaya çıkmıştır (Alonzo ve ark. 2012; Gravet ve ark. 1998).

LukED, lenfositler, makrofajlar ve dendritik hücreler üzerindeki CCR5 kemokin reseptörünü hedefleyerek fagositik hücrelerin lizisine neden olur (Alonzo ve ark. 2013). Ayrıca LukGH (LukAB), PSM α peptidlerine ek olarak fagositozdan sonra lizise katkıda bulunan tek *S. aureus* toksini olduğundan *S. aureus* patogenezinde anahtar bir rol oynamaktadır (DuMont ve ark. 2013). PSM'ler Agr kontrollü virulans faktörleri arasında yer almaktadır ve AgrA tarafından doğrudan kontrol edilen bir peptid toksin ailesi olarak dikkat çekmektedir (Cheung ve ark. 2014; Queck ve ark. 2008). Bu durum toksinin komensal stafilokokların non-infeksiyöz yaşam sikluslarındaki rolünü gösterirken stafilokok fizyolojisindeki merkezi rolünü de vurgulamaktadır (Cheung ve ark. 2014).

S. aureus'un *psma* lokusu tarafından kodlanan PSM'ler arasında en önemlisi güçlü pro-enflamatuar özelliğe sahip olan ve nötrofiller, makrofajlar, osteoblastlar ve eritrositler dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerine litik etki gösteren PSM α 3'ün (Rasigade ve ark. 2013; Wang ve ark. 2007). Sonuç olarak, PSM α peptidleri cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, sepsis ve osteomyelit gibi akut *S. aureus* enfeksiyonlarında güçlü bir etkiyesahiptir (Cassat ve ark. 2013; Wang ve ark. 2007).

S. aureus tarafından salgılanan birçok enzim Agr tarafından regüle edilmektedir. Özellikle proteazlar etkin bir şekilde Agr tarafından kontrol edilmektedir. Virulans faktörlerini regüle etmesinin yanı sıra (antimikrobiyal peptidler gibi konak ve savunma proteinlerin yıkımlanmasına katkıda bulunarak); Agr sistemi gen patojen sekretomunun kompozisyonuna ve buna bağlı olarak patojenik özelliklerini şekillendirebilirler (Kolar ve ark. 2013; Cheung ve ark. 2011).

Agr tarafından genellikle down regüle edilen yüzey proteinleri içinde protein A (Spa) patogeneze üzerine olan çok faktörlü etkisi ve sürekli olarak Agr kontrolü altında

olması nedeniyle öne çıkmaktadır. Aksine, Agr tarafından diğer yüzey proteinleri üzerindeki negatif kontrolü hakkındaki görüş tüm *Staphylococcus* suşları için geçerli değildir (Cheung ve ark. 2011). Protein A, pnömoni (Montgomery ve ark. 2010; Bubeck Wardenburg ve ark. 2007), septik artrit (Palmqvist ve ark. 2002) ve kan dolaşımı enfeksiyonu dahil olmak üzere çoklu organ sistemlerini içeren enfeksiyon modellerinde yer almaktadır (Date ve ark. 2014).

Protein A TNF- α reseptörünün (TNF-R1) aktivasyonu aracılığı ile akciğer parankimindeki proenflamatuvar mediatörlerin tetiklenmesinde bir role sahiptir (Gómez ve ark. 2004). Ayrıca stafilokok hücre duvarından salındıktan sonra IgG'nin Fc γ kısmına bağlanarak Fc reseptör aracılı opsonofagositoz olayını da bloke eder ve konakçı humoral bağışıklık tepkisini etkisiz hale getirme kapasitesine de sahiptir (Becker ve ark. 2014). Ayrıca IgM'nin VH3 ilmeğine bağlanarak apoptozu da indükler (Pauli ve ark. 2014).

Bu çalışmada Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na tanı amacıyla gönderilen farklı klinik materyallerden izole edilen MRSA ve MSSA suşlarında toksin genlerinin varlığının araştırılması ve toksin profillerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na tanı amacıyla gönderilen farklı klinik materyallerden izole edilen 190 izolat çalışmaya dahil edildi. İzole edilen *S. aureus* suşlarının hastaların cinsiyet ve yaşlarına göre dağılımları Çizelge 3.1'de, servislere ve servislerden gelen materyallere göre dağılımı ise Çizelge 3.2'de verilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. *S. aureus* izolatların fenotipik ve genotipik identifikasyonu

Şüpheli kolonilerin identifikasyonları hemoliz özellikleri, Gram boyama, katalaz, koagülaz ve diğer biyokimyasal testler ile yapıldı (Koneman ve ark. 1997). izolatların *nuc* genine spesifik 5'-GCGATTGATGGTGATACGGTT-3' ve 5'- AGCCAAGCCTTGACG AACTAAAGC-3' primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile konfirmasyonları yapıldı. (Kim ve ark. 2001).

3.2.2. DNA izolasyonu

İzolatlardan DNA izolasyonu ticari ekstraksiyon kiti (InstaGene™ Matrix, Bio-Rad, France) kullanılarak yapıldı. Elde edilen kalıp DNA'lar kullanılmaya kadar -20 °C'de saklandı.

3.2.3. *mecA* geninin PZR ile tespit edilmesi

Fenotipik olarak metisilin dirençli olduğu belirlenen izolatlarda *mecA* geninin belirlenmesi Choi ve ark. (2003) tarafından bildirilen 5'-CCT AGT AAA GCT CCG GAA-3' ve 5'-CTA GTC CAT TCG GTC CA-3' primerleri kullanılarak araştırıldı.

Çizelge 3.1. *S. aureus* izolatlarının servislere, hastaların cinsiyet ve yaşlarına göre dağılımları

Yaş (yıl)	Cinsiyet	İnfeksiyon Hast.	Plastik Cerrahi	Üroloji	Nefroloji	Çocuk Cer.	Çocuk Sağ. ve Hast.	Kadın Hast. ve Doğum	Ort. ve Trav.	Beyin Cer.	İç Hast.	KBB	Genel Cer.	Deri ve Züh. Hast.	Radyoloji	Onkoloji	Göğüs Hast.	Endokrin.	Kardiyooloji	Anes. ve Reanim.	Nöroloji	Fizik Ted. ve Reh.	Toplam
0-9	Kadın	-	-	-	2	1	11	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16
	Erkek	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	Toplam	-	-	-	2	1	11	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17
10-19	Kadın	-	-	1	-	-	3	2	2	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	10
	Erkek	2	-	-	-	-	2	-	2	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8
	Toplam	2	-	1	-	-	5	2	4	-	-	-	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	18
20-29	Kadın	2	1	-	-	-	-	8	1	1	1	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	16
	Erkek	15	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	19
	Toplam	17	1	-	-	-	-	8	3	1	1	-	-	-	1	-	-	-	1	1	-	-	35
30-39	Kadın	-	-	-	-	-	-	5	1	-	2	1	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	10
	Erkek	6	-	-	-	-	-	-	2	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	10
	Toplam	6	-	-	-	-	-	5	3	-	3	1	-	-	-	-	2	-	-	1	-	-	20
40-49	Kadın	3	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	6
	Erkek	2	-	-	1	-	-	-	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	9
	Toplam	5	-	-	1	-	-	2	2	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	3	-	-	15
50-59	Kadın	2	-	1	-	-	-	-	1	1	4	-	2	1	-	1	-	1	-	-	-	-	14
	Erkek	5	2	-	1	-	-	-	-	1	1	-	1	-	-	-	-	-	1	-	1	-	13
	Toplam	7	2	1	1	-	-	-	1	2	5	-	3	1	-	1	-	1	1	-	1	-	26
60-69	Kadın	2	-	2	2	-	-	1	1	1	2	-	-	1	-	1	1	1	-	-	-	-	15
	Erkek	4	-	2	3	-	-	-	2	2	3	-	2	1	-	-	-	-	1	-	-	-	20
	Toplam	6	-	4	5	-	-	1	3	3	5	-	2	2	-	1	1	1	1	-	-	-	35
>70	Kadın	1	-	-	-	-	-	-	-	2	3	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	8
	Erkek	1	-	5	3	-	-	-	-	1	1	-	1	1	-	-	-	-	1	-	-	-	14
	Toplam	2	-	5	3	-	-	-	-	3	4	-	2	1	-	-	-	-	2	-	-	-	22
	Kadın	10	1	4	4	1	14	18	7	6	12	1	3	4	1	3	2	1	1	2	-	-	96
	Erkek	35	2	7	8	-	2	-	10	5	7	-	6	2	-	-	1	1	4	3	1	-	94
	Toplam	45	3	11	12	1	16	18	17	11	19	1	9	6	1	3	3	2	5	5	1	1	190

Çizelge 3.2. *S. aureus* izolatlarının klinik servislere ve servislerden gelen materyallere göre dağılımı

Servis	Örnek									Toplam
	Kan	Yara	Nazal Svab	İdrar	Vajinal Sürüntü	BOS*	Boğaz Sürüntüsü	Balgam	Trakeal Aspirat	
Enfeksiyon Hastalıkları	19	4	12	5	-	-	4	1	-	45
İç Hastalıkları	12	1	-	5	-	-	-	-	1	19
Kadın Hastalıkları ve Doğum	3	2	-	10	3	-	-	-	-	18
Ortopedi ve Travmatoloji	-	17	-	-	-	-	-	-	-	17
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	7	1	-	7	-	1	-	-	-	16
Nefroloji	1	-	-	11	-	-	-	-	-	12
Üroloji	-	-	-	11	-	-	-	-	-	11
Beyin Cerrahi	3	-	-	1	6	-	-	1	-	11
Genel Cerrahi	-	7	-	2	-	-	-	-	-	9
Deri ve Zührevi Hastalıklar	-	6	-	-	-	-	-	-	-	6
Kardiyoloji	-	2	-	-	-	-	-	3	-	5
Anesteziyoloji ve Reanimasyon	5	-	-	-	-	-	-	-	-	5
Plastik Rekons. ve Estetik Cerrahi	-	3	-	-	-	-	-	-	-	3
Onkoloji Servisi	3	-	-	-	-	-	-	-	-	3
Göğüs Hastalıkları	-	-	-	-	-	-	-	3	-	3
Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları	-	2	-	-	-	-	-	-	-	2
Çocuk Cerrahisi	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
Kulak-Burun-Boğaz	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Radyoloji	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Nöroloji	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Toplam	55	47	12	53	9	1	4	8	1	190

Stafilokokkal enterotoksin (SE) genlerinin araştırılması

S. aureus izolatlarında (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *selj*, *selk*, *sell*, *selm*, *seln*, *selo*, *selp*, *selq* ve *selr*) enterotoksin genleri Omoe ve ark. (2005) tarafından bildirilen primerler kullanılarak dört farklı multipleks PZR (mPZR) metodu ile araştırıldı. SE genlerinin amplifikasyonunda kullanılan primerler Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. SE genlerinin belirlenmesinde kullanılan primerler

Gen	Sekans (5'-3')	Ürün Büyüklüğü (bp)	Kaynak
sea	CCT TTG GAA ACG GTT AAA ACG	127	Omoe ve ark. (2005)
	TCT GAA CCT TCC CAT CAA AAA C		
seb	TCG CAT CAA ACT GAC AAA CG	477	
	GCA GGT ACT CTA TAA GTG CCT GC		
sec	CTC AAG AAC TAG ACA TAA AAG CTA GG	271	
	TCA AAA TCG GAT TAA CAT TAT CC		
sed	CTA GTT TGG TAA TAT CTC CTT TAA ACG	319	
	TTA ATG CTA TAT CTT ATA GGG TAA ACA TC		
see	CAG TAC CTA TAG ATA AAG TTA AAA CAA GC	178	
	TAA CTT ACC GTG GAC CCT TC		
seg	AAG TAG ACA TTT TTG GCG TTC C	287	
	AGA ACC ATC AAA CTC GTA TAG C		
seh	GTC TAT ATG GAG GTA CAA CAC T	213	
	GAC CTT TAC TTA TTT CGC TGT C		
sei	GGT GAT ATT GGT GTA GGT AAC	454	
	ATC CAT ATT CTT TGC CTT TAC CAG		
selj	ATA GCA TCA GAA CTG TTG TTC CG	152	
	CTT TCT GAA TTT TAC CAC CAA AGG		
selp	TGA TTT ATT AGT AGA CCT TGG	396	
	ATA ACC AAC CGA ATC ACC AG		
selk	TAG GTG TCT CTA ATA ATG CCA	293	
	TAG ATA TTC GTT AGT AGC TG		
selm	GGA TAA TTC GAC AGT AAC AG	379	
	TCC TGC ATT AAA TCC AGA AC		
selo	TGT GTA AGA AGT CAA GTG TAG	214	
	TCT TTA GAA ATC GCT GAT GA		
seln	TAT GTT AAT GCT GAA GTA GAC	282	
	ATT TCC AAA ATA CAG TCC ATA		
sell	TAA CGG CGA TGT AGG TCC AGG	383	
	CAT CTA TTT CTT GTG CGG TAA C		
selq	AAT CTC TGG GTC AAT GGT AAG C	122	
	TTG TAT TCG TTT TGT AGG TAT TTT CG		
selr	GGA TAA AGC GGT AAT AGC AG	166	
	GTA TTC CAA ACA CAT CTA AC		

3.2.5. TSST-1ve ET genlerinin araştırılması

tst, *eta* ve *etb* genlerinin belirlenmesi Mehrotra ve ark. (2000) tarafından bildirilen primerler kullanılarak mPZR ile araştırıldı. *tst*, *eta* ve *etb* genlerinin amplifikasyonunda kullanılan primerler Çizelge 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3.4. *tst*, *eta* ve *etb* genlerinin belirlenmesinde kullanılan primerler

Gen	Sekans (5'-3')	Ürün Büyüklüğü (bp)	Kaynak
<i>eta</i>	GCA GGT GTT GAT TTA GCA TT	93	Mehrotra ve ark. (2000)
	AGA TGT CCC TAT TTT TGC TG		
<i>etb</i>	ACA AGC AAA AGA ATA CAG CG	22	
	GTT TTT GGC TGC TTC TCT TG	6	
<i>tst</i>	ACC CCT GTT CCC TTA TCA TC	32	
	TTT TCA GTA TTT GTA ACG CC	6	

3.2.6. Lökositin ve hemolizin genlerinin araştırılması

Panton-Valentine lükosidini (PVL) kodlayan gen Lina ve ark. (1999), α - hemolizin, β - hemolizin, δ -hemolizin ve γ -hemolizini kodlayan genler (*hla*, *hla*, *hld*, *hlg*) ile Luke-LukD (*lukE-lukD*) ve LukM'yi (*lukM*) kodlayan genlerin araştırılması Jarraud ve ark. (2002) tarafından bildirilen yöntemle yapıldı. Lökositin ve hemolizin genlerinin belirlenmesinde kullanılan primer sekansları Çizelge 3.5'te verilmiştir.

Çizelge 3.5. Lökositin ve hemolizin genlerinin belirlenmesinde kullanılan primer sekansları

Gen	Sekans (5'-3')	Ürün Büyük­lüğü (bp)	Kaynak
hla	CTG ATT ACT ATC CAA GAA ATT CGA TTG	209	Jarraud ve ark. (2002)
	CTT TCC AGC CTA CTT TTT TAT CAG T		
hlaB	GTG CAC TTA CTG ACA ATA GTG C	309	
	GTT GAT GAG TAG CTA CCT TCA GT		
hlaD	AAG AAT TTT TAT CTT AAT TAA GGA AGG AGT G	111	
	TTA GTG AAT TTG TTC ACT GTG TCG A		
hlaG	GTC AYA GAG TCC ATA ATG CAT TTA A	535	
	CAC CAA ATG TAT AGC CTA AAG TG		
hlaG varyant	GAC ATA GAG TCC ATA ATG CAT TYG T	390	
	ATA GTC ATT AGG ATT AGG TTT CAC AAA G		
lukM	TGG ATG TTA CCT ATG CAA CCT AC	780	
	GTT CGT TTC CAT ATA ATG AAT CAC TAC		
lukED	TGA AAA AGG TTC AAA GTT GAT ACG AG	269	
	TGT ATT CGA TAG CAA AAG CAG TGC A		
pvl	ATC ATT AGG TAA AAT GTC TGG ACA TGA TCC A	433	Lina ve ark.(1999)
	GCA TCA AST GTA TTG GAT AGC AAA AGC		

3.2.7. Agr tiplerinin belirlenmesi

S. aureus izolatlarının *agr* tiplerinin belirlenmesi Gilot ve ark. (2002) tarafından bildirilen PZR yöntemine göre yapıldı.

Çizelge 3.6. *agr* tiplerinin belirlenmesinde kullanılan primerler

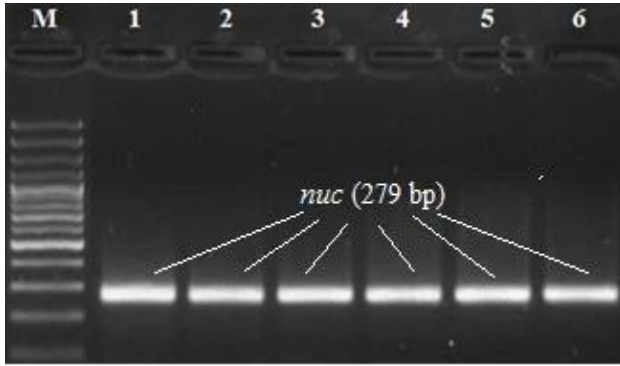
Gen	Sekans (5'-3')	Ürün Büyüklüğü (bp)	Kaynak
Pan <i>agr</i>	ATG CAC ATG GTG CAC ATG C		Gilot ve ark. (2002)
<i>agr</i> I	GTC ACA AGT ACT ATA AGC TGC GAT	441	
<i>agr</i> II	TAT TAC TAA TTG AAA AGT GGC CAT AGC	575	
<i>agr</i> III	GTA ATG TAA TAG CTT GTA TAA TAA TAC CCA G	323	
<i>agr</i> IV	CGA TAA TGC CGT AAT ACC CG	659	

3.2.8. İstatistiksel analiz

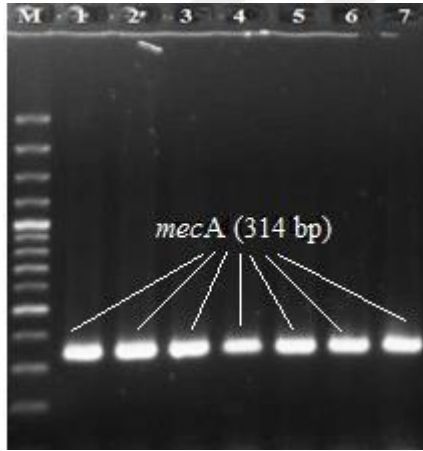
Çalışmada elde edilen veriler SPSS (SPSS for Windows, Version 11.0. Chicago, SPSSInc) istatistik programı kullanılarak analiz edildi. 0.05 ve altındaki *p* değerleri istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

4. BULGULAR

İzole edilen tüm *S. aureus* izolatları tür spesifik *nuc* genleri yönünden pozitif bulundu (Şekil 4.1). İzolatların 87'si metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) ve 103'ü ise metisilin duyarlı *S. aureus* (MSSA) olarak belirlendi (Şekil 4.2). MRSA izolatlarının izole edildiği klinik materyallere göre dağılımı Çizelge 4.1' de verilmiştir. MRSA suşlarının izole edildikleri klinik materyaller yönünden istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmadı ($p=0.577$).



Şekil 4.1. *nuc* geninin agaroz jel elektroforez görüntüsü.



Şekil 4.2. *mecA* geninin agaroz jel elektroforez görüntüsü.

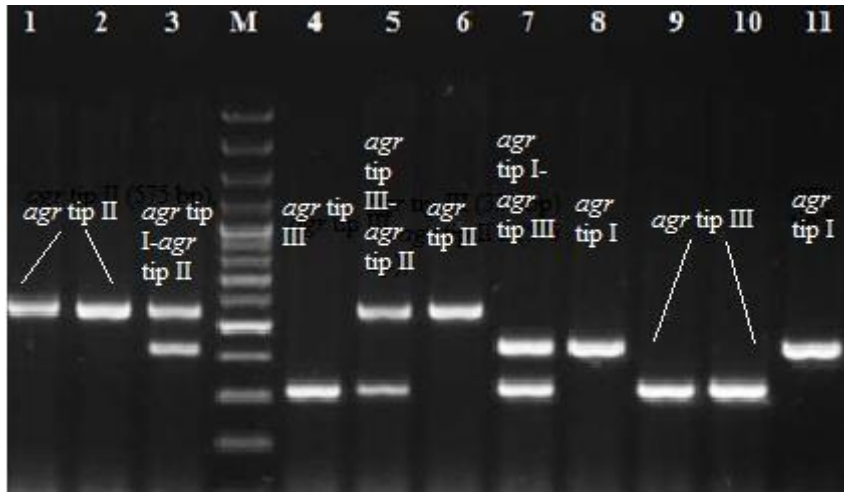
Çizelge 4.1. MRSA suşlarının izole edildikleri klinik materyallere göre dağılımı

İzolat	Materyal									Toplam
	Boğaz Sürüntüsü	Nazal Svab	Yara	Kan	İdrar	Balgam	BOS	Vaginal Akıntı	Trakeal Aspirat	
MSSA	2	4	27	30	32	3	2	2	1	103
MRSA	2	8	19	27	21	4	5	1	0	87
Toplam	4	12	46	57	53	7	7	3	1	190

4.1. Agr-Tiplendirme

İncelenen 87 MRSA izolatından 55'i (%63.2) *agr* tip I, 5'i (%5.7) *agr* tip II, 25'i (%28.7) *agr* tip III, 1'i (%1.1) *agr* tip I-II ve 1'i de (%1.1) *agr* tip I-III grubunda yer alırken; 103 MSSA izolatından 53'ü (%51.5) *agr* tip I, 27'si (%25.2) *agr* tip II, 17'si (%15.5) *agr* tip III, 4'ü (%3.9) *agr* tip I ve II, 1'i (%0.9) *agr* tip I ve III ve 1'i (%0.9) de *agr* tip II ve III grubunda yer aldı (Şekil 4.3). *agr* tiplerinin MSSA ve MRSA izolatlarına göre dağılımı Çizelge 4.2'de verilmiştir. *agr* gruplarının MRSA ve MSSA izolatları arasındaki dağılımı arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu ($p=0.003$).

Şekil 4.3. *S. aureus* izolatlarında belirlenen *agr* tiplerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.



Çizelge 4.2. *agr* gruplarının MRSA ve MSSA izolatlarına göre dağılımı

İzolat	Agr tipi						Toplam
	<i>agr</i> I	<i>agr</i> II	<i>agr</i> III	<i>agr</i> I- <i>agr</i> II	<i>agr</i> I- <i>agr</i> III	<i>agr</i> II- <i>agr</i> III	
MSSA	53	27	17	4	1	1	103
MRSA	55	5	25	1	1	0	87
Toplam	108	32	42	5	2	1	190

4.2. MSSA ve MRSA izolatlarında enterotoksin genlerinin dağılımı

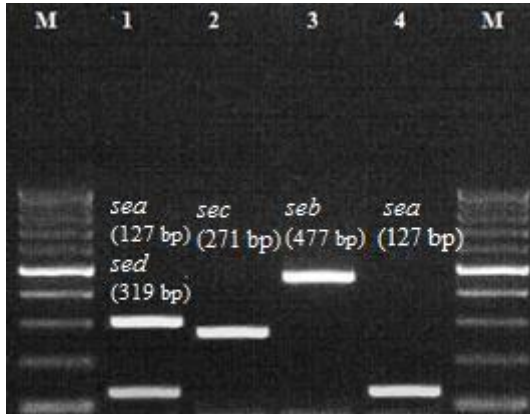
Farklı klinik materyallerden izole edilen 103 MSSA ve 87 MRSA izolatında belirlenen SAg toksin genleri Çizelge 4.3'te verilmiştir. İncelenen izolatların 31'inde SE genlerinin hiçbiri tespit edilemezken; geri kalan izolatların toksin genlerinden en az birine sahip olduğu bulundu.

Çizelge 4.3. MSSA ve MRSA izolatlarında belirlenen SAg ve ET toksin genleri

SAg	MSSA	MRSA	Toplam	P değeri
<i>sea</i>	25	24	49	0.603
<i>seb</i>	5	2	7	0.352
<i>sec</i>	3	1	4	0.399
<i>sed</i>	9	6	15	0.339
<i>selq</i>	13	13	26	0.643
<i>selo</i>	40	34	74	0,972
<i>selm</i>	32	22	54	0,378
<i>selr</i>	10	6	16	0.487
<i>selk</i>	16	10	26	0.420
<i>seln</i>	17	10	27	0.324
<i>sell</i>	6	6	12	0.762
<i>seg</i>	48	30	78	0.091
<i>sei</i>	44	30	74	0.246
<i>seh</i>	6	20	26	0.001
<i>selj</i>	8	6	14	0.819
<i>selp</i>	5	4	9	0.934
<i>tst</i>	14	21	35	0.062
<i>eta</i>	6	3	9	0.442
<i>etb</i>	7	1	8	0.053

4.2.1. *S.aureus* izolatlarında *sea-sed* genlerinin dağılımı

MSSA izolatlarının 18'inde *sea*, 4'ünde *seb*, 3'ünde *sec*, 5'inde *sed*, 1'inde *sea-seb* ve 5'inde *sea-sed*; MRSA izolatlarının ise 20'sinde *sea*, 1'inde *seb*, 6'sında *sed*, 1'inde *sea-seb*, 1'inde *sea-sec* ve 1'inde ise *sea-sed* tespit edildi. Çizelge 4. 4'de gösterilmiştir. ($p>0.05$) (Şekil4.4)



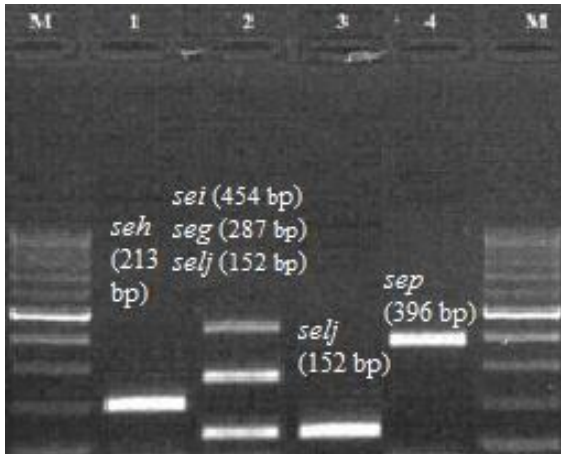
Şekil 4.4. *sea-seb-sec-sed* genlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü

Çizelge 4.4. *sea-seb-sec-sed* genlerinin MRSA ve MSSA izolatlarına göre dağılımı

SE	MSSA	MRSA	Toplam
<i>sea</i>	18	20	38
<i>seb</i>	4	1	5
<i>sec</i>	3	0	3
<i>sed</i>	5	6	11
<i>sea, seb</i>	1	1	2
<i>sea, sec</i>	0	1	1
<i>sea, sed</i>	5	1	6
Negatif	67	57	124
Toplam	103	87	190

4.2.2. *S. aureus* izolatlarında *seg*, *seh*, *sei*, *selj*, *selp* genlerinin dağılımı

MSSA izolatlarında *seg*, *seh*, *sei*, *selj* ve *selp* genlerinden *seg* 6 izolatta, *selj* 6 izolatta, 2'sinde *selp*, 1'inde *seh*, 31'inde *seg-sei*, 5'inde *seg-seh-sei*, 3'ünde *seg-sei-selp* ve 3'ünde de *seg-sei-selj* genleri saptanırken; MRSA izolatlarının 1'inde *selj*, 3'ünde *selp*, 20'sinde *seh*, 24'ünde *seg-sei*, 1'inde *seg-sei-selp* ve 5'inde ise *seg-sei-selj* genleri tespit edildi MRSA ve MSSA izolatları arasında *seh*, *sei*, *sej*, *seg*, *selj* ve *selp* genlerin dağılımında istatistiksel olarak farklılık bulundu ($p<0.01$) (Çizelge 4.5) (Şekil 4.5).



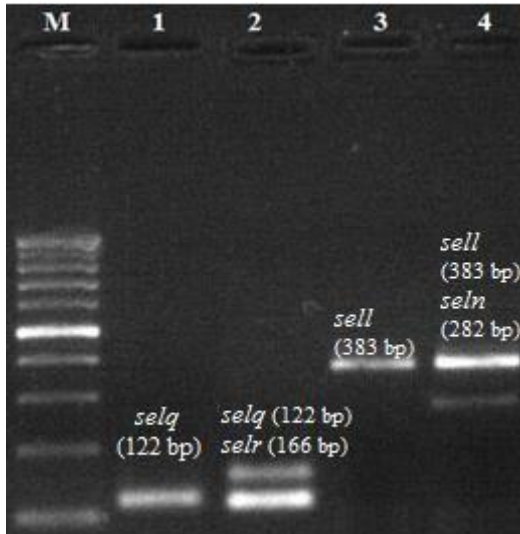
Şekil 4.5. *seh*, *sei*, *seg*, *selj*, *selp* genlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.

Çizelge 4.5. *seg-seh-sei-sej-seh-sep* genlerinin MRSA ve MSSA izolatlarına göre dağılımı

SE	MSSA	MRSA	Toplam
<i>seg</i>	6	0	6
<i>selj</i>	6	1	7
<i>selp</i>	2	3	5
<i>seh</i>	1	20	21
<i>seg-sei</i>	31	24	55
<i>seg-sei-seh</i>	5	0	5
<i>seg-sei-selp</i>	3	1	4
<i>seg-sei-sej</i>	3	5	8
Negatif	46	33	79
Toplam	103	87	190

4.2.3. *S. aureus* izolatlarında belirlenen *selq*, *selr*, *sell* ve *seln* genlerinin dağılımı

MSSA izolatlarında *sell-seln-selq-selr* genlerinden *sell* 2 izolatta, *selq* 9 izolatta, *selr* 3 izolatta, *seln* 14 izolatta, *sell-selr* 2 izolatta, *selq-selr* 4 izolatta, *seln-selr* 1 izolatta ve *seln-sell* 1 izolatta tespit edilirken; MRSA izolatlarının 3'ünde *sell*, 13'ünde *selq*, 2'sinde *selr*, 10'unda *seln*, 4'ünde *sell-selr* genleri tespit edildi. MRSA ve MSSA izolatları arasında *selq*, *selr*, *sell* ve *seln* genlerin dağılımında istatistiksel olarak farklılık bulundu ($p>0.05$) (Şekil 4.6) (Çizelge 4.6).



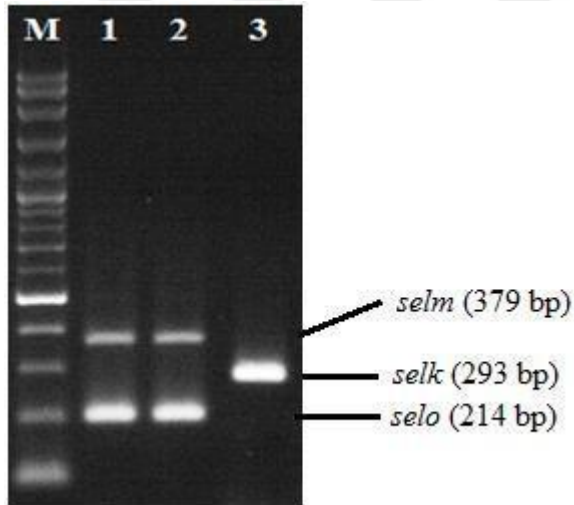
Şekil 4.6. *selq*, *selr*, *sell* ve *seln* genlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.

Çizelge 4.6. *sell-seln-selq-selr* genlerinin MRSA ve MSSA izolatlarına göre dağılımı

SE	MSSA	MRSA	Toplam
<i>sell</i>	2	3	5
<i>selq</i>	9	13	22
<i>selr</i>	3	2	5
<i>seln</i>	14	10	24
<i>sell-selr</i>	2	4	6
<i>selq-selr</i>	4	0	4
<i>seln-selr</i>	1	0	1
<i>seln-sell</i>	1	0	1
Negatif	67	55	122
Toplam	103	87	190

4.2.4. *S. aureus* izolatlarında belirlenen *selo-selk-selm* genlerinin dağılımı

MSSA izolatlarında *selo-selk-selm* genlerinden *selo* 2 izolatta, *selm* 9 izolatta, *selk* 3 izolatta, *selo-selm* 14 izolatta, *selo-selk* 4 izolatta ve *selo-selm-selk* 2 izolatta tespit edilirken; MRSA izolatlarının 3'ünde *selo*, 13'ünde *selm*, 2'sinde *selk*, 10'unda *selo-selm* ve 4'ünde de *selo-selm-selk* genleri saptandı ($p>0.05$) (Şekil 4.7) (Çizelge 4.7).



Şekil 4.7. *selo-selk-selm* genlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.

Çizelge 4.7. *selo-selk-selm* genlerinin MRSA ve MSSA izolatlarına göre dağılımı

SE	MSSA	MRSA	Toplam
<i>selo</i>	2	3	5
<i>selm</i>	9	13	22
<i>selk</i>	3	2	5
<i>selo, selm</i>	14	10	24
<i>sell, seln</i>	1	0	1
<i>selo, selk</i>	4	0	4
<i>seln, selr</i>	1	0	1
<i>selo, selm, selk</i>	2	4	6
Negatif	67	55	122
Toplam	103	87	190

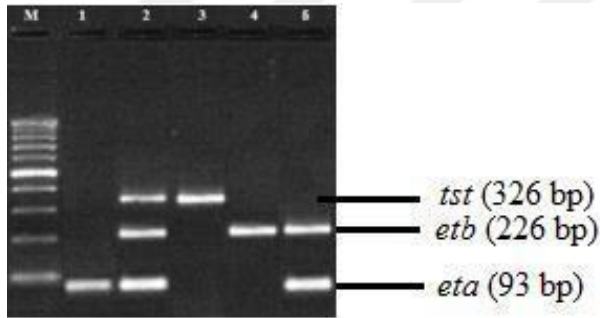
Çizelge 4.8. *S. aureus* izolatlarında belirlenen SAg toksin genotipleri ve MGE ile ilişkisi

SAg toksin	MSSA	MRSA	Toplam	Muhtemel MGE
sea	5	4	9	φSa3mu
sea, tst	-	1	1	φSa3mu+tst
sea, selq	-	1	1	φSa3mu+selq
sea, sed	1	1	2	φSa3mu+sed
sea, selo	-	1	1	φSa3mu+selo
sea, seg, sei	2	1	3	φSa3mu+seg+sei
sea, selk, selq	2	-	2	φSa3mw+selk+ selq
sea, selm, selo	1	1	2	φSa3mu+ selm+ selo
sea, seg, selm, selo	2	-	2	φSa3mu+ seg+ selm+selo
sea, seg, sei, tst	1	-	1	φSa3mu+seg+sei+ tst
sea, selm, selo, selr	-	1	1	φSa3mu+ selm+ selo+ selr
sea, selo, tst	-	1	1	φSa3mu+selo+ tst
sea, seb, seg, sei, seh, tst	1	-	1	φSa3mu+ seb+seg+ sei+ seh+ tst
sea, seg, sei, selm, seln, selo	1	1	2	φSa3mu, Tip I vSaβ
sea, seg, sei, seh, tst	2	-	2	φSa3mu+ seg+sei+ seh+ tst
sea, seg, sei, selm, seln, selo	1	-	1	φSa3mu, Tip I vSaβ
sea, sed, selj, seln, selk, selr	-	1	1	φSa3mu, pIB485
sea, sec, seg, sei, sell, selm, selo	-	1	1	φSa3mu, Tip II vSa3, Tip I vSaβ
sea, seg, sei, sell, selm, selo, selr, tst	-	1	1	φSa3mu, Tip I vSaβ
sea, seg, sei, selm, seln, selo, tst	1	-	1	φSa3mu, Tip I vSaβ+tst
sea, sed, selj, selk, selq, selr	4	-	4	φSa3mw, pIB485
sea, seh, selk, selq	-	2	2	φSa3mw+ seh
sea, seg, sei, selk, selq, tst	-	2	2	φSa3mw+ seg+sei+tst
sea, seg, sei, selk, selq	-	2	2	φSa3mw+ seg+sei
seb	3	-	3	-
seb, seg, sei, selk, selm, selo, selq, tst	1	-	1	Tip I vSaβ, vSa1 (SaPI3)+tst
seb, seg, sei, selk, selq	-	1	1	vSa1 (SaPI3)+ seg+ sei
sec, seg, sei, selm, seln, selo, selr	2	-	2	Tip I vSaβ+sec+selr
sec, seg, sei, sell, selm, selo, selp	1	-	1	Tip II vSa3, Tip I vSaβ, φSa3n
sed, selj, selr	1	-	1	pIB485
sed, seg, sei, seln, tst	-	2	2	-
sed, seg, sei, selm, seln, selo	2	-	2	Tip I vSaβ+sed
sed, seg, sei, selm, seln, selo, tst	-	1	1	Tip I vSaβ+sed+tst
sed, seg, sei, selj, selm, selo, selr	-	1	1	Tip I vSaβ, pIB485
sed, seg, sei, selk, seln	1	-	1	
sed, selm, seln, selo, tst	-	1	1	
seg, sei	4	3	7	
seg, sei, tst	4	-	4	
seg, sei, selk, selr	2	-	2	
seg, sei, selm, seln, selo	3	1	4	Tip I vSaβ
seg, sei, selj, selm, seln, selo, tst	2	1	3	Tip I vSaβ + selj+tst
seg, sei, selj, selm, selq, selo, tst	-	2	2	Tip I vSaβ + selj+tst
seg, sei, selm, selo, selq	-	1	1	Tip I vSaβ
seg, sei, selo, selm	9	3	12	Tip I vSaβ
seg, sei, selp, seln, selk	1	-	1	φSa3n
seg, sei, seh, selm, selo	1	-	1	Tip I vSaβ
seg, sei, selm, seln, selo, tst	1	-	1	Tip I vSaβ
seg, sei, sell, selm, selo, selr, tst	-	1	1	Tip I vSaβ + sell+selr+tst
seg, sei, selp, sell, selm, selr, selo	-	1	1	Tip I vSaβ , φSa3n
seg, sei, selk, seln, tst	-	2	2	
seg, sei, sell, selm, selo, selr	1	1	2	Tip I vSaβ
seg, sei, selj, selm, selo, tst	1	2	3	Tip I vSaβ +selj+tst
seg, sell, selm, selo, selr	1	-	1	

<i>seh</i>	1	10	11	
<i>seh, sell</i>	-	2	2	
<i>seh, selm, selo</i>	-	2	2	
<i>seh, selq, tst</i>	-	1	1	
<i>seh, selo, selk, tst</i>	-	1	1	
<i>seh, selm, selo, tst</i>	-	1	1	
<i>selo</i>	2	2	4	
<i>selm, selo</i>	1	1	2	
<i>selm, selo, tst</i>	2	1	3	
<i>selp</i>	1	1	2	φSa3n
<i>selp, selq</i>	-	1	1	φSa3n, <i>selq</i>
<i>selq</i>	1	-	1	
<i>selq, selk</i>	3	-	3	
<i>selm, selo, selq</i>	2	0	2	
<i>selk, selm, selo, selq, tst</i>	-	1	1	
<i>selk, selq</i>	3	-	3	
<i>tst</i>	1	-	1	
<i>sell</i>	1	-	1	
Negatif	17	14	31	

4.3. MSSA ve MRSA izolatlarında *eta*, *etb* ve *tst* genlerinin dağılımı

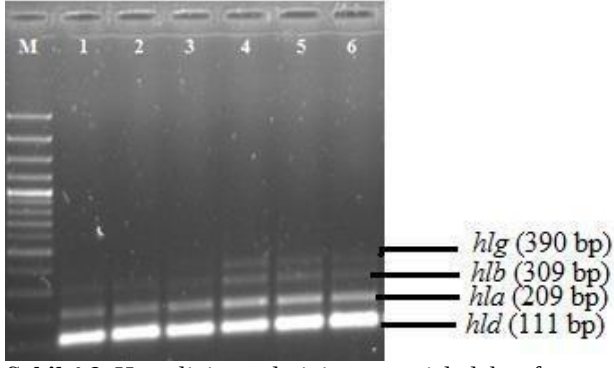
MSSA izolatlarının 14'ünde *tst*, 4'ünde *etb*, 3'ünde *eta*, 2'sinde *eta-etb* ve 1'inde de *eta-etb-tst* genleri tespit edilirken; MRSA izolatlarının 21'inde *tst*, 3'ünde *eta*, ve 1'inde *etb* geni bulundu ($p>0.05$)(Şekil 4.8).



Şekil 4.8. *tst*, *eta* ve *etb* genlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü.

4.4. MSSA ve MRSA izolatlarında hemolizin genlerinin dağılımı

MSSA izolatlarının tamamında ve MRSA izolatlarının ise biri hariç tamamında hemolizin genlerinden en az biri tespit edildi ($P>0.05$). Hemolizin genlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Hemolizin genlerinin dağılımı Çizelge 4.9 'da verilmiştir.



Şekil 4.9. Hemolizin genlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü

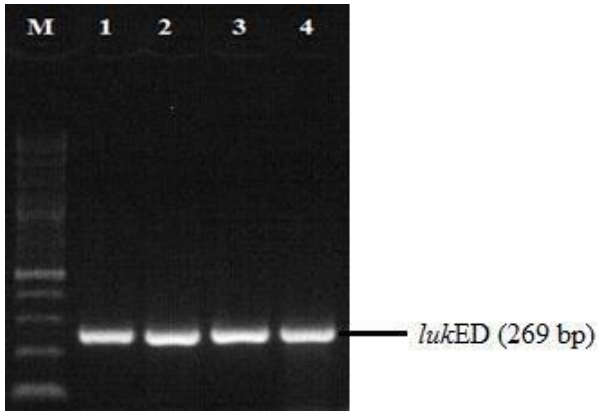
Çizelge 4.9. MRSA ve MSSA izolatlarında belirlen hemolizin gen kombinasyonları

Hemolizin	MSSA	MRSA	Toplam
<i>hlyA</i>	1	0	1
<i>hlyD</i>	8	4	12
<i>hlyA-hlyD</i>	59	52	111
<i>hlyA-hlyD-hlyG2</i>	32	27	59
<i>hlyA-hlyD-hlyB</i>	0	2	2
<i>hlyA-hlyD-hlyG</i>	2	0	2
<i>hlyD-hlyG2</i>	0	1	1
<i>hlyA-hlyD-hlyB-hlyG2</i>	1	0	1
Negatif	0	1	1
Toplam	103	87	190

4.5. MSSA ve MRSA izolatlarında lökositin genlerinin dağılımı

4.5.1. MSSA ve MRSA izolatlarında *lukED* genlerinin dağılımı

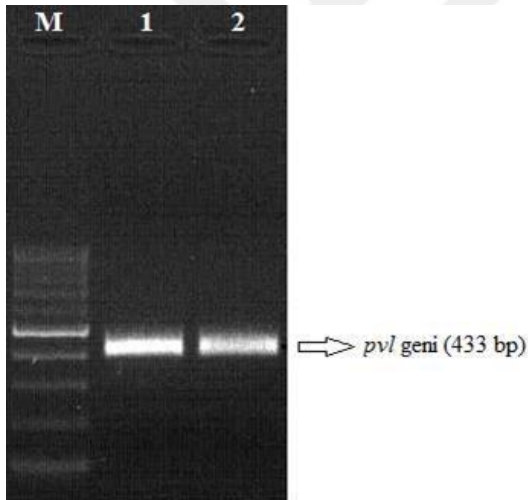
İzolatların hiçbirinde *lukM* geni tespit edilmezken; MSSA izolatlarının 69 (%67)'unda ve MRSA izolatlarının ise sadece 60 (%69)'unda *lukED* geni saptandı ($p>0.05$) (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. *lukED* geninin agaroz jel elektroforez görüntüsü

4.5.2. MSSA ve MRSA izolatlarında *pvl* geninin dağılımı

MSSA izolatlarının 15 (%14.6)'inde ve MRSA izolatlarının ise 11 (%12.6)'inde geni tespit edildi. *pvl* geninin agaroz jel elektroforez görüntüsü Şekil 4.11'de verilmiştir. *pvl* genlerinin dağılımı Çizelge 4.10'da gösterilmiştir.



Şekil 4.11. *pvl* geninin agaroz jel elektroforez görüntüsü

Çizelge 4.10. MSSA ve MRSA izolatlarında *pvl* geninin dağılımı

GEN	MSSA	MRSA	Toplam
<i>pvl</i> (-)	88	76	164
<i>pvl</i> (+)	15	11	26
Toplam	103	87	190

5. TARIŞMA

S. aureus'un patojenitesi hem doğal hem de kazanılmış bağışıklık mekanizmalarından kurtulmalarına atfedilmektedir. Bu mekanizmalar yüzey komponentleri (kapsül, koagulaz, protein A, teikoik asit, polisakkaridler ve adezinler), enzimler (esteraz, lipaz, katalaz, beta- laktamaz, hidrolitik enzimler), lökositin, enterotoksinler, TSST-1, eksfoliyatif toksin, alfa, beta, gama ve delta hemolizinler gibi farklı toksin tiplerini içermektedir (Vasconcelos ve Cunha, 2010).

S. aureus kaynaklı infeksiyonların tedavisinde karşılaşılan önemli sorunlardan birisidir. *S. aureus* izolatlarında görülen önemli direnç mekanizmalarından biride metisilin direncidir. Bu çalışmada izolatların %55.8'i *mecA* geninin araştırılmasına dayalı PZR ile MRSA olarak belirlendi. Benzer bir oran (%57.7) Motamedifar ve ark. (2015) tarafından İran'da bildirilmiştir. Özel ve ark. (2017) Balıkesir Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda Temmuz 2015-Ağustos 2016 tarihleri arasında izole edilen 67 *S. aureus* suşunun %17.9'sını (n=12) MRSA ve %82.1'ini ise (n=55) MSSA olarak tanımlamışlardır. Tanrıverdi Çaycı ve ark. (2017) 2014-2017 yılları arasında Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hastanesi'nde kan kültürlerinden izole edilen *S. aureus* suşlarının %22,9'unu MRSA olarak saptamışlardır. Arıcı ve Aksaray (2019), Üsküdar Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 3 yıllık bir periyotta (2015-2018) çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri toplam 197 *S. aureus* suşunun %24'ünü MRSA olarak tespit etmişlerdir. Duman ve ark. (2013) TK 88 ve HK 177 *S. aureus* izolatının sırasıyla %12.5 (11/88)'ini ve %43 (76/177)'ünü ise *mecA* geni yönünden pozitif olarak saptamışlardır. Araştırmacılar konvansiyonel yöntemler ile MRSA olarak tespit edilen 4 suşu *mecA* negatif, *mecA* pozitif 2 suşu ise MSSA olarak bulmuşlardır. Kılıç ve ark. (2015) Gülhane Askeri Tıp Akademisi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 2007-2014 tarihleri arasında gelen farklı klinik materyallerden izole ettikleri 1177'si MSSA ve 523'ü MRSA toplam 1700 *S. aureus* izolatını konvansiyonel yöntemler ve BD Phoenix Otomatize Sistemi ile tanımlamışlar ve fenotipik olarak MRSA olarak belirledikleri izolatların tamamında da *mecA* genini saptamışlardır. Karahan ve ark. (2008) HK 230 ve TK 74 *S. aureus* izolatının sırasıyla %83.9'unu (193/230) ve %91.9'unu (68/74) *mecA* geni yönünden pozitif olarak saptamışlardır. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Kurumu Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi (UAMDSS) 2014- 2015 yılı

raporunda oksasilin MİK ve/veya sefoksitin tarama sonuçlarına göre invaziv *S.aureus* izolatlarında metisilin direncini %27 (UAMDSS, 2015), 2016 yılı raporu'nda ise %23.6 olarak belirlemiştir (UAMDSS, 2016).

S. aureus izolatları tarafından sentezlenen PVL önemli bir virülans faktörü olarak kabul edilmektedir. PVL sentezleyen *S. aureus* izolatlarının ciddi deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına, nekrotizan fasciti ve hemorajik pnömoni gibi yaşamı tehdit eden enfeksiyonlara neden olduğu ileri sürülmüştür (Gillet ve ark. 2002). Çalışmamızda incelenen MSSA izolatlarının %14.6'sında (15/103) ve MRSA izolatlarının ise %12.6'sında (11/87) *pvl* geni tespit edildi. Ayrıca, klinik materyallere göre dağılımına bakıldığında *pvl* geninin kan kültürü (n=11), yara (n=8), idrar (n=7) ve vajinal sürüntü (n=1) örneklerinden izole edilen *S. aureus* suşlarında belirlendiği görüldü. Kılıç ve ark. (2015) MSSA izolatlarının %1.9 (23/1177)'unda ve MRSA izolatlarının ise %1.7 (9/523)'sinde olmak üzere toplam 32 (%1.8) izolatta *pvl* genini tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Cirit ve ark. (2011) ise çeşitli klinik örneklerden izole edilen 130 MRSA suşunun 2'sinde (biri yara örneğinden diğeri kan kültür örneğinden) ve 20 MSSA izolatının ise 1'inde (idrara örneğinden) *pvl* geni saptamışlardır. Duman ve ark. (2013) 88 TK *S. aureus* suşunun 6 (%15)'sında ve 177 HK *S. aureus* suşunun 6 (%3)'sında *pvl* genini bulmuşlardır. Araştırmacılar PVL pozitif TK suşlarının tamamını MSSA, HK suşların ise 5'ini MSSA ve 1'ini de MRSA olarak tanımlamışlardır. Karahan ve ark. (2008) 74 TK *S. aureus* izolatının 11'inde (%14.8) *pvl* genini tespit etmişler; bu genin 7'sini (%63.6) MRSA ve 4'ünü de (%36.4) MSSA suşlarında belirlemişlerdir.

Bu çalışmada *eta* ve *etb* genleri izolatların sırasıyla %4.7'sinde ve %4.2'sinde tespit edildi. MSSA izolatlarında (*eta* için %1.7 ve *etb* için %6.7) MRSA izolatlarına (*eta* için %2.9 ve *etb* için %1.14) göre yüksek oranda tespit edilmesine karşılık bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı. Klinik *S. aureus* izolatlarında toxin genlerinin araştırıldığı çalışmalarda ET genlerinin prevalansının oldukça düşük oranlarda olduğu veya hiç tespit edilmediği görülmektedir. Xie ve ark. (2011) 108 klinik *S. aureus* izolatında *eta*, *etb* ve *etd* genlerinden *etb* genini tespit edemezlerken; *eta* ve *etd* genlerini sırasıyla 2 ve 9 izolatta tespit etmişlerdir. Jiménez ve ark. (2011) MSSA (n=30) izolatlarında *eta* ve *etb* genlerini tespit edemezken MRSA (n=30) izolatlarının ise sadece 1'inde *eta* genini saptamışlardır. de Souza ve ark. (2016) inceledikleri MRSA (n=20) izolatlarının hiçbirinde *eta* ve *etb* genlerini tespit edemezlerken ve MSSA (n=130) izolatlarının sadece

3'ünde *eta* genini tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Nhan ve ark. (2011) inceledikleri 186 *S. aureus* klinik izolatının sadece 1'inde *eta* genini belirlemişlerdir. Demir ve ark. (2011) ise 120 *S. aureus* izolatının %20 (n=24)'sini *eta* ve *etb* genleri yönünden pozitif bulmuşlar ve *eta* genini 13 izolatta, *eta-etb* genlerini birlikte 10 izolatta ve *etb* genini ise 1 izolatta tespit etmişlerdir.

Son yıllarda MRSA izolatları arasında *tst* geninin prevalansının artmakta olduğu rapor edilmektedir (Arabestani ve ark. 2018; Bdaiwi ve ark. 2017; Koosha ve ark. 2016). İstatistiksel olarak önemli bulunmamakla birlikte MRSA izolatlarında *tst* geninin sıklığı MSSA izolatlarına göre daha yüksek bulundu (%24.1-%13.6) (p=0.062). Hu ve ark. (2008) MRSA izolatlarının %69.5 (2/118)'inde ve MSSA izolatlarının ise %10 (14/140)'unda *tst* genini belirlemişlerdir. Ancak, MSSA izolatlarında *tst* geninin prevalansının daha yüksek bulunduğunu bildiren çalışmalarda bulunmaktadır. Motamedifar ve ark. (2015) MSSA izolatlarının %18.1 (36/199)'inde MRSA izolatlarının ise %11.6 (17/146)'sında *tst* genini tespit etmişlerdir.

Çalışmada incelenen 190 *S. aureus* izolatının 30'u (%16.3) SE genleri yönünden negatif bulunurken; izolatların %84.2'si SE genlerinin en az biri yönünden pozitif bulundu. En sık görülen SE genleri sırasıyla *seg* (% 41.1), *sei* (% 38.9 74), *selo* (% 38.9), *selm* (% 28.4) ve *sea* (% 25.8) olarak tespit edildi. Xie ve ark. (2011) Çin'de 14 farklı şehirdeki 16 hastaneden izole ettikleri 108 *S. aureus* izolatını 18 SE, 3 ET (*eta*, *etb* ve *etd*) ve TSST-1 genleri yönünden incelemişler; 98 (%90.7) izolatın en az bir toksin geni yönünden pozitif olduğunu, 47 farklı toksin profilinin mevcudiyetini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar en yaygın toksin geninin *tst* (52/98, %48.1) ve en yaygın SE kombinasyonunun ise *sea-selk-selq* (%38.8, 38/98) olduğunu saptamışlardır. Demir ve ark.(2011) Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen farklı klinik materyallerden izole edilen 120 *S. aureus* izolatının 69'unu (%57.5) bir veya daha fazla toksin geni yönünden pozitif bulduklarını, dominant SE genlerinin ise *seg* ve *sei* (49/120, %40.8) olduğunu; bu genleri *sea* (36/120, %30) geninin izlediğini saptamışlardır. Hu ve ark. (2008) Japonya'da farklı hastalık olgularından izole ettikleri 118 MRSA ve 140 MSSA suşunu klasik ve yeni tanımlanan enterotoksin (*sea-ser*) genleri yönünden araştırmışlar; MRSA izolatlarının %78'inin (92/118) tamamının MSSA izolatlarının ise %75.7'sinin (106/140) SE genleri yönünden pozitif olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar MRSA izolatlarının %78 (92/118)'ini incelenen toksin

genleri yönünden pozitif bulduklarını ve *sea* (%45) geninin dominant toksin geni olduğunu bunu *sec* (%39) geninin izlediğini; MSSA izolatlarının ise 89 (%89)'unu incelenen toksin genleri yönünden pozitif olarak saptadıklarını ve en yaygın toksin genlerinin ise *sea* (%42), *selk* (%38) ve *sec* (%35) olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmada aynı zamanda MRSA izolatlarının 23 toksin genotipine sahip olduğu ve dominant genotipin (52/118, %44.1) ise *sec*, *seg*, *sei*, *sell*, *selm*, *seln*, *selo*, *tst-1* olduğu; MSSA izolatlarının ise 26 genotipe sahip olduğu ve dominant genotipin (18/140, %12.9) ise *seg*, *sei*, *sell*, *selm*, *seln*, *selo* olduğu bildirilmiştir. Tekeli ve ark. (2009) Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbn-i Sina Hastanesinde 2002-2005 yılları arasında hastanede yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen 100 adet MRSA suşunda toksin (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *sej*, *tst*) genlerini araştırmışlar ve izolatların %87'sinde toksin geni saptamışlar; dominant toksin geninin *sea* (%77) olduğunu bu geni ise *sea-seg* (%4), *sea-seg-sec* (%1), *seg-sei* (%2) toksin gen kombinasyonları ile *tst* (%1) geninin izlediğini belirlemişlerdir.

S. aureus izolatları tarafından sentezlenen ekzotoksinlerin bazıları konakçı hücre membranları üzerine direkt olarak zararlı bir etkiye sahiptir. Sentezlenen ekzotoksinlerden öne çıkan ve en iyi karakterize edilenler hemolizinlerdir. Bu toksinler Stafilocok kaynaklı enfeksiyonların patogeneğinde önemli rol oynar ve bağışıklık hücreleri de dahil olmak üzere farklı konak hücre popülasyonları üzerinde letal etkiye sahiptir. Ayrıca bu toksinler bakterinin konak vücudu içinde yayılmasına da aracılık etmektedir (Kaneko ve Kamio, 2004). Aggarwal ve ark. (2019) farklı enfeksiyon olgularından izole ettikleri 109 *S. aureus* suşundan 101 (% 92.6)'ini *hla* ve 107 de (98%)'sini *hlg* genleri yönünden pozitif bulmuşlardır. Li ve ark. (2018) kan dolaşımı enfeksiyonlarından izole ettikleri 32'si MRSA ve 80'i de MSSA olmak üzere 112 *S. aureus* izolatında *hla* ve *hnb* genlerini araştırmışlar ve izolatların %91.1'ini (n=111) (%100 MRSA-%98.8 MSSA) *hla* ve %52.7' (n=59) sini de (%78.1 MRSA-%42.5 MSSA) *hnb* geni yönünden pozitif bulmuşlardır. Shukla ve ark. (2010) 103 klinik MSSA ve 77 TK MRSA izolatını *hla*, *hld*, *hlg* genleri yönünden pozitif bulurlarken; *hnb* genini ise MSSA izolatlarının %91 (n=94)'inde MRSA izolatlarının tamamında saptamışlardır. Arabestani ve ark. (2017) İran'da farklı klinik materyallerden izole ettikleri 100 MRSA ve 100 MRSA izolatının tamamını (1 MRSA izolatı hariç) incelenen tüm hemolizin genleri yönünden pozitif bulmuşlar ve izolatlar arasında altı farklı profil saptamışlardır. Araştırmacılar MRSA izolatlarında *hla*, *hld*, *hlg*, *hlg2* ve *hnb* genlerinin sıklığını sırasıyla %93.1 (81), %98.9 (86), %1.1 (1), %31

(27) ve %2.3 (2); MSSA izolatlarında ise %91.3(94), 101 (%98.1); 93 (%90.3), 102 (%99.1), 2 (%1.9), %32 (33) ve 0 (%0) olarak belirlemişlerdir.

Stafilokoklar tarafından sentezlenen önemli virulans faktörlerinden biri de lökositleri öldüren iki bileşenli lökositidinlerdir. Lökositidinler aynı zamanda NK hücreleri, dendritik hücreler ve T lenfositleri üzerine de letal etki göstermektedir. Lökositidinler genellikle inaktif monomerik alt üniteler şeklinde sentezlenir ve hedef hücre membranına bağlandıktan sonra oligomerize olur. Nihayetinde ise bilayer fosfolipid membran boyunca uzanan ve hücre ölümü sonuçlanan por oluşumuna neden olur (Spaan ve ark. 2017). Bu çalışmada izolatların hiçbirinde *lukM* geni saptanmazken; *lukED* geni izolatların %67.9'unda (129/190) tespit edildi. He ve ark. (2018) *lukED* genini izolatların %81.4'ünde (144/177) tespit ederlerken, *lukM* genini hiçbir izolatta tespit etmemişlerdir. Havaei ve ark. (2010) ise izolatların %73.8'inde (110/149) *lukED* genini belirlemişlerdir.

Agr'ye özgü gruplar ve enfeksiyon tipleri arasında bir korelasyon olduğu Jarraud ve ark. (2002) tarafından rapor edilmiştir. Araştırmacılar generalize eksfoliyatif enfeksiyonlardan ve izole edilen suşların *agr* tip IV ile suppuratif enfeksiyonlardan endokarditis olgularından izole edilen suşların ise başlıca *agr* tip I ve II grupları ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir. Ji ve ark. (1997) ise TSST-1 toksinini sentezleyen izolatların *agr* tip III ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada *eta* pozitif izolatların 7'si *agr* tip I ve 2'si de *agr* tip II'de yer alırken; *etb* taşıyan izolatlardan 7'si *agr* tip I ve 1'i de *agr* tip II ile ilişkidir. *tst* geni yönünden pozitif bulunan izolatların ise (n=35) büyük oranda *agr* tip I (21, %60) ve *agr* tip II'de (12,%34.3) yer aldığı görüldü.

Bu çalışmada izolatların büyük oranda (%56.8) *agr* tip I'de yer alırken bunu sırasıyla *agr* tip III (%22.1) ve *agr* tip II (%16.8) grupları izledi. İzolatların hiçbirinde *agr* tip IV tespit edilmedi. Peerayeh ve ark. (2009) İran'da 212 *S. aureus* suşunun büyük oranda *agr* grup I'de (%55.1) yer aldığını bunu sırasıyla *agr* tip II (%16.9), *agr* tip III (16.5%) ve *agr* tip IV'ün (9.4%) izlediğini rapor etmişlerdir. Benzer gözlemler Shopsis ve ark. (2003) ve van Leeuwen ve ark. (2000) tarafından da rapor edilmiştir. Araştırmacılar sırasıyla izolatların %42.1'nin ve %71'inin *agr* tip I'de yer aldığını saptamışlardır. Tekeli ve ark. (2009) 100 MRSA suşunun 91'inin (%91) *agr* tip I'e, 1'nin (%1) *agr* tip II'ye, 1 (%1)'nin de *agr* tip III'e ait olduğunu, 7'sinde ise *agr* tipini belirlenemediğini rapor etmişlerdir. *agr* tip IV'ün yokluğu daha önce yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir (Manago ve ark. 2006; Shopsis ve ark. 2003; Sakaulas ve ark. 2002; van Leeuwen ve ark. 2000). Bu oranlardaki

farklılıkların ekolojik ve coğrafik farklılıklardan kaynaklandığı ileri sürülebilir. Bu çalışmada ilginç olarak bazı izolatların birden fazla *agr* grubunu birlikte taşıdığı gözlemlendi. Benzer durum Yoon ve ark. (2007) tarafından da rapor edilmiştir. Araştırmacılar 158 MRSA izolatının sırasıyla *agr* tip I (74, %49.3), *agr* tip II (66, %44), *agr* tip III'e (10, %6.7) ait olduğunu geri kalan sekiz izolatın ise *agr* tip I-II (7, %4.4) ve *agr* tip I-III'e (1, %0.6) ait olduğunu bildirmişlerdir. Ji ve ark. (1997) bu durumu *agrD* sinyal peptidini kodlayan domaindeki önemli değişikliklerden kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir.

SAg toksin genlerinin büyük oranda patojenite adaları, profajlar, SCC*mec* elementi ve plazmidler gibi MGE ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Fisher ve ark. 2018). Çalışmada belirlenen 71 SAg toksin gen profili incelendiğinde SAg toksin kodlayan MGE'lerin tek veya kombinasyonlarının olası varlığını ileri sürmek mümkündür. Bu kapsamda 71 profilin 45'inde belirlenen muhtemel MGE'ler Çizelge 4.8'de sunulmuştur. Tip I vSa β (24 MSSA, 13 MRSA) ve ϕ Sa3mu (18 MSSA, 16 MRSA) en yaygın MGE'ler olarak belirlenirken, bu iki MGE'i sırasıyla ϕ Sa3mw (4 MSSA, 7 MRSA), ϕ Sa3n (3 MSSA, 3 MRSA), pIB485 (5 MSSA, 1

MRSA) ve Tip II vSa3 (1 MSSA, 1 MRSA) izledi. Belirlenen MGE'lerden ϕ Sa3mu *sea*; tip I vSa β *seg*, *sei*, *selm*, *seln* ve *selo*; tip II vSa3 *sec*, *sell*; vSa1 (SaPI3) *seb*, *selk*, *selq*; tip I vSa4 *sec*, *sell*, *tst*; ϕ Sa3mw *sea*, *selk*, *selq*; ϕ Sa3n *selp*, pIB485 *sed*, *selj*, *selr* ve SaPI1 *seb*, *selk*, *selq* genlerini taşımaktadır. Bu çalışmada MGE'ler MRSA izolatlarında daha yüksek sıklıkla tespit edildi. Benzer şekilde Hu ve ark. (2008) MRSA izolatlarında sırasıyla *seg*, *sei*, *selm*, *seln* ve *selo* genlerini kodlayan tip I vSa β ve *sec*, *sell* ve *tst*'yi kodlayan tip I vSa4'ü %83.1 ve %77.1 oranlarında belirlerken; MSSA izolatlarında ise tip I vSa β 'yı izolatların %25'inde ve tip I vSa4'ü ise izolatların sadece %2.1'inde saptamışlardır.

S. aureus enfeksiyonlarının klinik sonucu, hem antimikrobiyal direncin varlığından hem de virülans faktörlerinden etkilenmektedir. *S. aureus* izolatlarında antibiyotik direncinin kazanılmasının direncin ekspresyonu ile ilişkili fitness cost'a bağlı olarak virülans faktörlerinin ekspresyonunda değişikliklere neden olduğu ileri sürülmüştür. Bu durum ise toksin ekspresyonunda azalma şeklinde ortaya çıkmaktadır (Jiménez ve ark. 2011). Bununla birlikte, bu çalışmada MSSA izolatlarında MRSA suşlarına göre virulens genlerinin daha yüksek oranda saptanması bu açıdan şaşırtıcı değildir. Bununla birlikte, virülans genlerinin taşıyıcılığı ile ilgili çalışmaların genellikle

dirençli suşlar üzerinde yapılması nedeniyle, daha kapsamlı bir karşılaştırma yapabilmek için çok sayıda duyarlı *S. aureus* izolatından elde edilecek bilgiye ihtiyaç vardır.



6. SONUÇ

İzolatların %45.8'i MRSA olarak belirlendi. Bu oran Türkiye'de bildirilen MRSA oranlarından oldukça yüksektir.

Çalışmada izolatlar arasında belirlenen toksin genlerinin yüksek prevalansı ve toksin profillerindeki çeşitliliğin MGE'lerin süregelen horizontal transferinin bir sonucu olarak gerçekleştiğini söylemek mümkündür.

MSSA izolatlarında toksin genlerinin prevalansı MRSA izolatlarına göre sayısal olarak yüksek bulundu. Bu durumun dirençli izolatlarda fitness cost'a bağlı olarak şekillendiği söylenebilir.

İzolatlarının büyük oranda *agr* tip I (%56.8) grubunda yer aldığı; MRSA ve MSSA izolatlarının *agr* tip II hariç genellikle birbirine yakın oranlarda dağılım gösterdiği belirlendi. Bu durumun *agr* lokusu bakteri genetik arka planı ile güçlü bir şekilde bağlantılı olduğundan sirkülasyonda olan izolatların moleküler epidemiyolojisini yansıttığı söylenebilir.

ET toksin genlerinin izolatlarının düşük oranlarda saptanması daha önce yapılan çalışmalarla uyum göstermektedir.

S. aureus suşlarının neden olduğu klinik tabloların sonuçları direnç ve virulens özellikleri ile yakından ilişkili olması nedeniyle klinik vakalardan izole edilen *S. aureus* izolatlarının bu iki açıdan sürekli izlenmesi hem klinik hastalık olgularının tedavisinde başarının artırılması hem de alternatif tedavi seçeneklerinin belirlenmesi açısından önemlidir.

Doğal MSSA ve MRSA popülasyonlarının nasıl ortaya çıktığının ve etkileşimde olduğunun anlaşılması için geniş MSSA ve MRSA popülasyonlarını içeren karşılaştırmalı moleküler çalışmaları yapılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. **Aarestrup FM, Larsen HD, Eriksen N, Elsberg CS, Jensen NE.** Frequency of α - and β -haemolysin in *Staphylococcus aureus* of bovine and human origin. *APMIS*, **1999**, s. 107:425–430.
2. **Adhikari RP, Ajao AO, Aman MJ, Karauzum H, Sarwar J, ve ark.** Lower antibody levels to *Staphylococcus aureus* exotoxins are associated with sepsis in hospitalized adults with invasive *S. aureus* infections. *J Infect Dis*, **2012**, s. 206:915–923.
3. **Agace WW.** T-cell recruitment to the intestinal mucosa. *Trends Immunol*, **2008**, s. 29:514–522.
4. **Alderson MR, Tough TW, Davis-Smith T, Braddy S, Falk B, ve ark.** Fas ligand mediates activation-induced cell death in human T lymphocytes. *J Exp Med*, **1995**, s. 181: 71–77.
5. **Alonzo F, Benson MA, Chen J, Novick RP, Shopsin B, ve ark.** *Staphylococcus aureus* leukocidin ED contributes to systemic infection by targeting neutrophils and promoting bacterial growth in vivo. *Mol Microbiol*, **2012**, s. 83: 423–435.
6. **Alonzo F, Kozhaya L, Rawlings SA, Reyes-Robles T, DuMont AL, ve ark.** CCR5 is a receptor for *Staphylococcus aureus* leukotoxin ED. *Nature*, **2013**, s. 493:51–55.
7. **Amagai M, Yamaguchi T, Hanakawa Y, Nishifuji K, Sugai M, ve ark.** Staphylococcal exfoliative toxin B specifically cleaves desmoglein 1. *J Invest Dermatol*, **2002**, s. 118: 845–850.
8. **Aman MJ, Karauzum H, Bowden MG, Nguyen TL.** Structural model of the pre-pore Ring-like structure of Panton-Valentine leukocidin: Providing dimensionality to biophysical and mutational data. *J Biomol Struct Dyn*, **2010**, s. 1(28): 1–12.
9. **Andrey DO, Jouselin A, Villanueva M, Renzoni A, Monod A, ve ark.** Impact of the regulators *sigB*, *rot*, *sarA* and *sarS* on the toxic shock toxin promoter and TSST-1 expression in *Staphylococcus aureus*. *PLoS One*, **2015**, s. 10: e0135579.
10. **Arabestani MR, Rastiyani S, Alikhani MY, Mousavi FF.** The Relationship Between Prevalence of Antibiotics Resistance and Virulence Factors Genes of MRSA and MSSA Strains Isolated from Clinical Samples. *Oman Med J*, **2018**, s. 33(2): 134–140.
11. **Arad G, Levy R, Nasie I, Hillman D, Rotfogel Z, ve ark.** Binding of superantigen toxins into the CD28 homodimer interface is essential for induction of cytokine genes that mediate lethal shock. *PLoS Biol*, **2011**, s. 9: e 1001149.
12. **Archer NK, Mazaitis MJ, Costerton JW, Leid JG, Powers ME, ve ark.** *Staphylococcus aureus* biofilms: Properties, regulation, and roles in human disease. *Virulence*, **2011**, s. 2: 445–459.
13. **Arciola CR, Campoccia D, Ravaioli S, Montanaro L.** Polysaccharide intercellular adhesin in biofilm: Structural and regulatory aspects. *Front Cell Infect Microbiol*, **2015**, s. 5: 7.
14. **Argudín MÁ, Mendoza MC, Rodicio MR.** Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Review. Toxins (Basel)*, **2010**, s. 2(7):1751–1773.
15. **Arici N, Aksaray S.** Determination of methicillin resistance and investigation of antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical samples. *ANKEM Derg*, **2019**, s. 33(2): 70–76.
16. **Bachert C, Zhang N, Holtappels G, De Lobel L, van Cauwenberge P, ve ark.** Presence of IL-5 protein and IgE antibodies to staphylococcal enterotoxins in nasal polyps is associated with comorbid asthma. *J Allergy Clin Immunol*, **2010**, s. 126: 962–968.
17. **Bachert C, Zhang N, Patou J, van Zele T, Gevaert P.** Role of staphylococcal superantigens in upper airway disease: *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* **2008**, s. 8: 34–38.
18. **Badarau A, Rouha H, Malafa S, Logan D T, Håkansson M, ve ark.** Structure-function analysis of heterodimer formation, oligomerization, and receptor binding of the *Staphylococcus aureus* bi-component toxin LukGH. *J Biol Chem*, **2015**, s. 290: 142–156.
19. **Bahna P, Dvorak T, Hanna H, Yasko AW, Hachem R, ve ark.** Orthopaedic metal devices coated with a novel antiseptic dye for the prevention of bacterial infections. *Int J Antimicrob Agents*, **2007**, s. 29: 593–596.
20. **Balaban N, Rasooly A.** Staphylococcal enterotoxins. *Int J Food Microbiol*, **2000**, s. 61(1): 1–10.
21. **Barnes PJ.** Intrinsic asthma. Not so different from allergic asthma but driven by superantigens. *Clin Exp Allergy*, **2009**, s. 39: 1145–1151.
22. **Bartlett AH, Hultén KG.** *Staphylococcus aureus* pathogenesis: Secretion systems, adhesins, and invasins. *Pediatr Infect Dis J*, **2010**, s. 29(9):860–861.
23. **Bdaiwi QO, Hussein SN.** Comparison of superantigenic toxins genes between MRSA and MSSA isolated from clinical specimens in Iraq. *Pak J Biotechnol.* **2017**, s. 14(4): 689–695.
24. **Berube BJ, Bubeck Wardenburg J.** *Staphylococcus aureus* α -toxin: Nearly a century of intrigue. *Toxins*, **2013**, s. 5: 1140–1166.

25. **Bhakdi S, Muhly M, Mannhardt U, Hugo F, Klapetek K, ve ark.** Staphylococcal alpha toxin promotes blood coagulation via attack on human platelets. *J Exp Med*, **1988**, s. 168:527–542.
26. **Bhakdi S, Trantum-Jensen, J.** Alpha-toxin of *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Rev*, **1991**, s. 55: 733–751.
27. **Boisset S, Geissmann T, Huntzinger E, Fechter P, Bendridi N, ve ark.** *Staphylococcus aureus* RNAIII coordinately represses the synthesis of virulence factors and the transcription regulator Rot by an antisense mechanism. *Genes Dev*, **2007**, s. 21(11): 1353–66.
28. **Boles BR, Horswill AR.** Agr-mediated dispersal of *Staphylococcus aureus* biofilm: PLoS Pathog, **2008**, s. 4: e1000052.
29. **Borst DW, Betley MJ.** Phage-associated differences in staphylococcal enterotoxin A gene (sea) expression correlate with sea allele class. *Infect Immun*, **1994**, s. 62(1): 113–8.
30. **Boyce JM, Causey WA.** Increasing Occurrence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in the United States. *Infect Control*, **1982**, s. 3:377–383.
31. **Bronner S, Monteil H, Prévost G.** Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*: complexity and applications. *FEMS Microbiol Rev*, **2004**, s. 28(2): 183–200.
32. **Bubeck Wardenburg J, Patel RJ, Schneewind O.** Surface proteins and exotoxins are required for the pathogenesis of *Staphylococcus aureus* pneumonia: *Infect. Immun.* **2007**, s. 75:1040–1044.
33. **Bukowski M, Wladyka B, Dubin G.** Exfoliative Toxins of *Staphylococcus aureus*. *Toxins*, **2010**, s. 2: 1148–1165.
34. **Cao R, Zeaki N, Wallin-Carlquist N, Skandamis PN, Schelin J, ve ark.** Elevated enterotoxin A expression and formation in *Staphylococcus aureus* and its association with prophage induction. *Appl Environ Microbiol*, **2012**, s. 78(14):4942–8.
35. **Carding SR, Egan PJ.** Gamma-delta T cells: functional plasticity and heterogeneity. *Nat Rev Immunol*, **2002**, s. 2: 336–345.
36. **Carlsson R, Fischer H, Sjögren HO.** Binding of staphylococcal enterotoxin A to accessory cells is a requirement for its ability to activate human T cells. *J Immunol*, **1988**, s. 140:2484–2488.
37. **Cassat JE, Hammer ND, Campbell JP, Benson MA, Perrien DS, ve ark.** A secreted bacterial protease tailors the *Staphylococcus aureus* virulence repertoire to modulate bone remodeling during osteomyelitis. *Cell Host Microbe*, **2013**, s. 13:759–772.
38. **Chambers H.** The Changing Epidemiology of *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect. Dis*, **2001**, s. 7: 178–182.
39. **Chatterjee SS, Otto M.** Improved understanding of factors driving methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* epidemic waves. *Clin Epidemiol*, **2013**, s. 5: 205–217
40. **Cheung AL, Bayer AS, Zhang G, Gresham H, Xiong YQ.** Regulation of virulence determinants in vitro and in vivo in *Staphylococcus aureus*. *FEMS Immunol Med Microbiol*, **2004**, s. 40(1):1–9.
41. **Choi Y W, Herman A, Digiusto D, Wade T, Marrack P, ve ark.** Residues of the variable region of the T-cell-receptor beta-chain that interact with *S. aureus* toxin superantigens. *Nature*, **1990**, s. 46:471–473.
42. **Cirit OS, Yildirim T.** Investigation of Pantone-Valentine Leukocidin Presence in the Clinical Strains of *Staphylococcus aureus*. *Balkan Medical J*, **2011**, s. 28:119–124.
43. **Compagnone-Post P, Malyankar U, Khan SA.** Role of host factors in the regulation of the enterotoxin B gene. *J Bacteriol*, **1991**, s. 173(5):1827–30.
44. **Cooney J, Kienle Z, Foster TJ, O Toole PW.** The gamma-hemolysin locus of *Staphylococcus aureus* comprises three linked genes, two of which are identical to the genes for the F and S components of leukocidin. *Infect Immun*, **1993**, s. 61(2):768–771.
45. **Cribier B, Piemont Y, Grosshans E.** Staphylococcal scalded skin syndrome in adults. A clinical review illustrated with a new case. *J Am Acad Dermatol*, **1994**, s. 30:319–324.
46. **Cribier B, Prévost G, Couppie P, Finck-Barbançon V, Grosshans E, ve ark.** *Staphylococcus aureus* leukocidin A new virulence factor in cutaneous infections an epidemiological and experimental study. *Dermatology*, **1992**, s. 185: 175–180.
47. **Cribier B.** Leukocidin from *Staphylococcus aureus* and Cutaneous Infections An Epidemiologic Study. *Arch Dermatol*, **1994**, s. 130: 1208–1209.
48. **Danielsen EM, Hansen GH, Karlsdóttir E.** *Staphylococcus aureus* enterotoxins A- and B binding to the enterocyte brush border and uptake by perturbation of the apical endocytic membrane traffic *Histochem. Cell Biol*, **2013**, s. 139: 513–524
49. **Dastgheib SS, Villaruz AE, Le KY, Tan VY, Duong AC, ve ark.** Role of Phenol-Soluble Modulins in Formation of *Staphylococcus aureus* Biofilms in Synovial Fluid. *Infect Immun*, **2015**, s. 83: 2966–2975.

50. **Date SV, Modrusan Z, Lawrence M, Morisaki JH, Toy K, ve ark.** Global gene expression of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 during human and mouse infection. *J Infect Dis*, **2014**, s. 209: 1542–1550
51. **De Leo FR, Kennedy AD, Chen L, Bubeck-Wardenburg J, Kobayashi SD, ve ark.** Molecular differentiation of historic phage-type 80/81 and contemporary epidemic *Staphylococcus aureus*. *Proc Natl Acad Sci USA*, **2011**, s.108(44):18091-6.
52. **Demir C, Aslantaş Ö, Duran N, Ocak S, Özer B.** Investigation of toxin genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated in Mustafa Kemal University Hospital. *Turk J Med Sci*, **2011**, s. 41(2):343-352
53. **de Souza CSM, Fortaleza CMCB, Witzel CL, Silveira M, Bonesso MF, Marques SA, ve ark.** Toxigenic profile of methicillin-sensitive and resistant *Staphylococcus aureus* isolated from special groups. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, **2016**, s. 15:9.
54. **Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM.** Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev*, **2000**, s. 13:16–34.
55. **Duman Y, Kuzucu Ç, Çuğlan SS (2011):** Bacteria isolated from blood cultures and their antimicrobial susceptibility. *Erciyes Med J*, **2011**, s. 33:189-96.
56. **Dumont AL, Nygaard TK, Watkins RL, Smith A, Kozhaya L, ve ark.** Characterization of a new cytotoxin that contributes to *Staphylococcus aureus* pathogenesis. *Mol Microbiol*, **2011**, s 79:814–825.
57. **Dumont AL, Yoong P, Liu X, Day CJ, Chumblor NM, ve ark.** Identification of a crucial residue required for *Staphylococcus aureus* LukAB cytotoxicity and receptor recognition. *Infect Immun*, **2014**, s. 82: 1268–1276.
58. **Dumont AL, Yoong P, Surewaard BGJ, Benson MA, Nijland R, ve ark.** *Staphylococcus aureus* elaborates leukocidin AB to mediate escape from within human neutrophils. *Infect Immun*, **2013**, s. 81: 1830–1841.
59. **Dusseaux M, Martin E, Serriari N, Péguillet I, Premel V, ve ark.** Human MAIT cells are xenobiotic-resistant, tissue targeted, CD161hi IL-17-secreting T cells. *Blood*, **2011**, s. 117:1250–1259
60. **Edwards D, Handsley M, Pennington C.** The ADAM metallo proteinases. *Mol Asp Med*, **2008**, s. 29: 258–289.
61. **Edwin C, Kass EH.** Identification of functional antigenic segments of toxic shock syndrome toxin 1 by differential immunoreactivity and by differential mitogenic responses of human peripheral blood mononuclear cells, using active toxin fragments. *Infect Immun*. **1989**, s. 57(7):2230-6.
62. **Finck Barbançon V, Duportail G, Meunier O, Colin DA.** Pore formation by a two-component leukocidin from *Staphylococcus aureus* within the membrane of human polymorphonuclear leukocytes. *Biochim Biophys Acta*, **1993**, s. 1182: 275–282.
63. **Fisher EL, Otto M, Cheung GYC.** Basis of virulence in enterotoxin-mediated Staphylococcal Food Poisoning. *Front Microbiol*, **2018**, s. 9:436
64. **Flores-Díaz M, Monturiol-Gross L, Naylor C, Alape-Girón A, Flieger A.** Bacterial Sphingomyelinases and Phospholipases as Virulence Factors. *Microbiol Mol Biol Rev*, **2016**, s. 80:597–628.
65. **Fritz SA, Tiemann KM, Hogan PG, Epplin EK, Rodriguez M, ve ark.** Serologic correlate of protective immunity against community-onset *Staphylococcus aureus* infection. *Clin Infect Dis*, **2013**, s. 56: 1554–1561.
66. **Fueyo JM, Mendoza MC, Rodicio MR, Muñiz J, Alvarez MA, ve ark.** Cytotoxin and pyrogenic toxin superantigen gene profiles of *Staphylococcus aureus* associated with subclinical mastitis in dairy cows and relationships with macro restriction genomic profiles. *J Clin Microbiol*, **2005**, s 43:1278–1284.
67. **Gaskill ME, Khan SA.** Regulation of the enterotoxin B gene in *Staphylococcus aureus*. *J Biol Chem*, **1988**, s. 263(13): 6276-80
68. **Gillet Y, Issartel B, Vanhems P, Fournet JC, Lina G, ve ark.** Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet*, **2002**, s. 359:753–759.
69. **Goerke C, Pantucek R, Holtfreter S, Schulte B, Zink M, ve ark.** Diversity of prophages in dominant *Staphylococcus aureus* clonal lineages. *J Bacteriol*, **2009**, s. 191:3462–3468.
70. **Gouaux JE, Braha O, Hobaugh MR, Song L, Cheley S, ve ark.** Subunits to ichiometry of staphylococcal alpha-hemolysin in crystals and on membranes A heptameric transmembrane por. *Proc Natl Acad Sci USA*, **1994**, s. 91:12828–12831.
71. **Gravet A, Colin DA, Keller D, Girardot R, Monteil H, ve ark.** Characterization of a novel structural member, LukE-LukD, of the bi-component staphylococcal leucotoxins family. *FEBS Lett*, **1998**, s. 436:202–208.

72. **Grimminger F, Rose F, Sibelius U, Meinhardt M, Pötzsch B, ve ark.** Human endothelial cell activation and mediator release in response to the bacterial exotoxins *Escherichia coli* hemolysin and staphylococcal alpha-toxin. *J Immunol*, **1997**, s. 159:1909–1916.
73. **Grumann D, Nübel U, Bröker BM.** *Staphylococcus aureus* toxins their functions and genetics. *Infect Genet Evol*, **2014**, s. 21:583–592.
74. **Grumann D, Ruotsalainen E, Kolata J, Kuusela P, Järvinen A, ve ark.** Characterization of infecting strains and superantigen-neutralizing antibodies in *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Vaccine Immunol*, **2011**, s. 18:487–493.
75. **Guyonnet F, Plommet M.** Staphylococcal gamma lysin. Purification and Properties. *Ann Inst Pasteur*, **1970**, s.118: 19–33.
76. **Haag AF, Bagnoli F.** The Role of Two-Component Signal Transduction Systems in *Staphylococcus aureus* Virulence Regulation. *Curr Top Microbiol Immunol*, **2017**, s. 409:145-198.
77. **Hait JM, Tallent SM, Bennett RW.** Screening, detection, and serotyping methods for toxin genes and enterotoxins in *Staphylococcus* strains. *J AOAC Int*, **2014**, s. 97(4):1078-83.
78. **Hamad A R, Marrack P, Kappler JW.** Transcytosis of staphylococcal superantigen toxins. *J Exp Med*, **1997**, s. 185:1447–1454.
79. **Hardwick N, Parry CM, Sharpe GR.** Staphylococcal scalded skin syndrome in an adult. Influence of immune and renal factors. *Br J Dermatol*, **1995**, s. 132:468–471.
80. **Harris LG, Foster SJ, Richards RG.** An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S. aureus* adhesins in relation to adhesion to biomaterials. Review. *Eur Cells Mater*, **2002**, s. 4:39–60.
81. **Harris TO, Grossman D, Kappler JW, Marrack P, Rich RR ve ark.** Lack of complete correlation between emetic and T-cell-stimulatory activities of staphylococcal enterotoxins. *Infect Immun*, **1993**, s. 61:3175–3183.
82. **Havaei SA, Ohadian Moghadam S, Pourmand MR, Faghri J.** Prevalence of Genes Encoding Bi-Component Leukocidins among Clinical Isolates of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Iranian J Publ Health*, **2010**, s. 39(1):8-14.
83. **Hayashida A, Bartlett AH, Foster TJ, Park PW.** *Staphylococcus aureus* beta-toxin induces lung injury through syndecan-1. *Am J Pathol*, **2009**, s. 174(2): 509–518.
84. **Hayworth JL, Mazzuca DM, Maleki-Vareki S, Welch I, McCormick JK, ve ark.** CD1d-independent activation of mouse and human iNKT cells by bacterial superantigens. *Immunol Cell Biol*, **2012**, s. 90:699–709.
85. **Heinrichs JH, Bayer MG, Cheung AL.** Characterization of the sar locus and its interaction with agr in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, **1996**, s. 178: 418–423.
86. **Hennekinne JA, De Buyser ML, Dragacci S.** *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiol Rev*, **2012**, s. 36(4):815-36.
87. **Hildebrand A, Pohl M, Bhakdi S.** *Staphylococcus aureus* alpha-toxin. Dual mechanism of binding to target cells. *J Biol Chem*, **1991**, s. 266: 17195–17200.
88. **Hoffman M, Tremaine M, Mansfield J, Betley M.** Biochemical and mutational analysis of the histidine residues of staphylococcal enterotoxin A. *Infect Immun*, **1996**, s. 64: 885–890.
89. **Holtfreter S, Bröker BM.** Staphylococcal superantigens. Do they play a role in sepsis. *Arch Immunol Ther Exp*, **2005**, s. 53:13–27.
90. **Holtfreter S, Roschack K, Eichler P, Eske K, Holtfreter B, ve ark.** *Staphylococcus aureus* Carriers Neutralize Superantigens by Antibodies Specific for Their Colonizing Strain. A Potential Explanation for Their Improved Prognosis in Severe Sepsis. *J Infect Dis*, **2006**, s. 193:1275–1278.
91. **Hovde CJ, Marr JC, Hoffmann ML, Hackett SP, Chi YI, ve ark.** Investigation of the role of the disulphide bond in the activity and structure of staphylococcal enterotoxin C1. *Mol Microbiol*, **1994**, s. 13(5): 897-909.
92. **Howden BÇ, Davies JK, Johnson PDR, Stinear TP, Grayson ML.** Reduced Vancomycin Susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: Resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*, **2010**, s. 23:99–139.
93. **Hu DL, Omoe K, Inoue F, Kasai T, Yasujima M, Shinagawa K, Nakane A.** Comparative prevalence of superantigenic toxin genes in methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates. *J Med Microbiol*, **2008**, s. 57:1106-1112.
94. **Hu DL, Omoe K, Shimoda Y, Nakane A, Shinagawa K.** Induction of emetic response to staphylococcal enterotoxins in the house musk shrew (*Suncus murinus*). *Infect Immun*, **2003**, s. 71(1):567-70.

95. Huseby MJ, Kruse AC, Digre J, Kohler PL, Vocke JA, ve ark. Beta toxin catalyzes formation of nucleoprotein matrix in staphylococcal biofilms. *Proc Natl Acad Sci*, **2010**, s.107(32):14407–14412.
96. Hussain M, Wilcox H, White PJ. The slime of coagulase-negative staphylococci. Biochemistry and relation to adherence. *FEMS Microbiol Rev*, **1993**, s. 10:191–207.
97. Inoshima I, Inoshima N, Wilke GA, Powers ME, Frank KM, ve ark. *Staphylococcus aureus* pore-forming toxin subverts the activity of ADAM10 to cause lethal infection in mice. *Nat Med*, **2011**, s. 17: 1310–1314.
98. Janzon L, Löfdahl S, Arvidson S. Identification and nucleotide sequence of the delta-lysin gene, hld, adjacent to the accessory gene regulator (*agr*) of *Staphylococcus aureus*. *Mol Gen Genet*, **1989**, s. 219:480–485.
99. Jarraud S, Mouguel C, Thioulouse J, Lina G, Meugnier H, ve ark. Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, *agr* groups (alleles), and human disease. *Infect Immun*, **2002**, s.70(2):631–41.
100. Jarraud S, Cozon G, Vandenesch F, Bes M, Etienne J, ve ark. Involvement of enterotoxins G and I in staphylococcal toxic shock syndrome and staphylococcal scarlet fever. *J Clin Microbiol*, **1999**, s. 37: 2446–2449.
101. Jevons MP. Celbenin Resistant Staphylococci. *BMJ*, **1961**, s. 1: 124–125
102. Ji G, Beavis R, Novick P. Bacterial interference caused by autoinducing peptide variants. *Science*, **1997**, s. 276:2027–2030.
103. Ji G, Beavis RC, Novick RP. Cell density control of staphylococcal virulence mediated by an octapeptide pheromone. *Proc Natl Acad Sci USA*, **1995**, s. 92: 12055–12059.
104. Jiménez JN, Ocampo AM, Vanegas JM, Rodríguez EA, Garcés CG, Patiño LA, ve ark. (2011): Characterisation of virulence genes in methicillin susceptible and resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a paediatric population in a university hospital of Medellín, Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. **2011**, s. 106(8): 980-5.
105. Jyasinghe L, Bayley H. The leukocidin pore: Evidence for an octamer with four LukF subunits and four LukS subunits alternating around a central axis. *Protein Sci*, **2005**, s. 14(10):2550–2561.
106. Kamio Y, Rahman A, Nariya H, Ozawa T, Izaki K. The two Staphylococcal bi-component toxins, leukocidin and gamma-hemolysin share one component in common. *FEBS Lett*, **1993**, s. 321(1):15–18.
107. Kaneko J, Kimura T, Narita S, Tomita T, Kamio Y. Complete nucleotide sequence and molecular characterization of the temperate staphylococcal bacteriophage ϕ PVL carrying Pantone–Valentine leukocidin genes. *Gene*, **1998**, s. 215: 57–67.
108. Kaneko J, Ozawa T, Tomita T, Kamio Y. Sequential Binding of Staphylococcal γ -Hemolysin to Human Erythrocytes and Complex Formation of the Hemolysin on the. *Biosci Biotechnol Biochem*, **1997**, s. 61(5): 846–851.
109. Kappler J, Kotzin B, Herron L, Gelfand EW, Bigler RD, ve ark. V beta-specific stimulation of human T cells by staphylococcal toxins. *Science*, **1989**, s. 244:811–813.
110. Karahan ZC, Tekeli A, Adaletli R, Koyuncu E, Dolapci I, Akan OA. Investigation of Pantone–Valentine leukocidin genes and SCCmec types in clinical *Staphylococcus aureus* isolates from Turkey. *Microb Drug Resist*, **2008**, s. 14(3):203–10.
111. Katayama Y, Baba T, Sekine M, Fukuda M, Hiramatsu K. Beta-hemolysin promotes skin colonization by *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, **2013**, s.195: 1194–1203.
112. Kavanaugh JS, Thoendel M, Horswill AR. A role for type I signal peptidase in *Staphylococcus aureus* quorum sensing. *Mol Microbiol*, **2007**, s. 65:780–798.
113. Kılıç S, Beşirbellioğlu B, Kılıç A, Pasha A. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infections determined at a training hospital in the years of 2003–2004. *Gülhane Tıp Derg*, **2005**, s. 47: 195–198
114. Kim CH, Khan M, Morin DE, Hurley WL, Tripathy DN, ve ark. Optimization of the PCR for Detection of *Staphylococcus aureus* *nuc* Gene in Bovine Milk. *J Dairy Sci*, **2001**, s. 84:74–83.
115. Kleerebezem M, Quadri LE, Kuipers OP, Vos WM. Quorum sensing by peptide pheromones and two-component signal transduction systems in Gram-positive bacteria. *Mol Microbiol*, **1997**, s. 24: 895–904.
116. Koenig RL, Ray JL, Maleki SJ, Smeltzer MS, Hurlburt BK. *Staphylococcus aureus* AgrA binding to the RNAPIII-*agr* regulatory region. *J Bacteriol*, **2004**, s.186(22): 7549–55.
117. Kolar SL, Ibarra JA, Rivera FE, Mootz JM, Davenport JE, ve ark. Extracellular proteases are key mediators of *Staphylococcus aureus* virulence via the global modulation of virulence-determinant stability. *Microbiologyopen*, **2013**, s. 2:18–34
118. Kolata J, Bode LGM, Holtfreter S, Steil L, Kusch H, ve ark. Distinctive patterns in the human antibody response to *Staphylococcus aureus* bacteremia in carriers and non-carriers. *Proteomics*, **2011**, s. 1: 3914–3927.

119. **Koneman EW, Winn WC, Allen SD, Janda WM, Procop GW, ve ark.** Staphylococci and Related Gram- Positive Cocci. In Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 5th Ed USA. Lippincott Williams and Wilkins, 1997, s. 539-65.
120. **Koosha RZ, Hosseini HM, Aghdam EM, Tajandareh SG, Fooladi AAI.** Distribution of tsst-1 and mecA Genes in *Staphylococcus aureus* Isolated From Clinical Specimens. *Jundishapur J Microbiol*, **2016**, s. 9(3): e29057.
121. **Kozono H, Parker D, White J, Marrack P, Kappler J.** Multiple binding sites for bacterial superantigens on soluble class II MHC molecules. *Immunity*, **1995**, s. 3(2):187-96
122. **Krakauer T, Pradhan K, Stiles BG.** Staphylococcal superantigens spark host-mediated danger signals. *Front Immunol*, **2016**, s. 7:23.
123. **Krakauer T.** Update on staphylococcal superantigen-induced signaling pathways and therapeutic interventions. *Toxins*, **2013**, s. 5:1629–1654.
124. **Kullik I I, Giachino P.** The alternative sigma factor sigmaB in *Staphylococcus aureus* regulation of the sigB operon in response to growth phase and heat shock. *Arch Microbiol*, **1997**, s.167(2-3):151-9.
125. **Kushnaryov VM, Bergdoll MS, MacDonald HS, Vellinga J, Reiser R.** Study of staphylococcal toxic shock syndrome toxin in human epithelial cell culture. *J Infect Dis*, **1984**, s. 150(4): 535-45
126. **Ladhani S.** Recent developments in staphylococcal scalded skin syndrome. *Review Clin Microbiol Infect*, **2001**, s. 7(6): 301-7
127. **Ladhani S.** Understanding the mechanism of action of the exfoliative toxins of *Staphylococcus aureus*. *FEMS Immunol Med Microbiol*, **2003**, s. 39: 181–189.
128. **Langley RJ, Ting YT, Clow F, Young PG, Radcliff FJ, ve ark.** Staphylococcal enterotoxin-like X (SEIX) is a unique superantigen with functional features of two major families of staphylococcal virulence factors. *PLoS Pathog*, **2017**, s. 13: e1006549.
129. **Langley R, Patel D, Jackson N, Clow F, Fraser JD.** Staphylococcal superantigen super-domains in immune evasion. *Crit Rev Immunol*, **2010**, s. 30:149–165
130. **Lauderdale KJ, Boles BR, Cheung AL, Horswill AR.** Interconnections between Sigma B, agr, and proteolytic activity in *Staphylococcus aureus* biofilm maturation. *Infect Immun*, **2009**, s. 77(4):1623-35.
131. **Leder L, Llera A, Lavoie PM, Lebedeva MI, Li H, ve ark.** A mutational analysis of the binding of staphylococcal enterotoxins B and C3 to the T cell receptor beta chain and major histocompatibility complex class II. *J Exp Med*, **1998**, s. 187: 823–833.
132. **Lee J, Park N, Park JY, Kaplan BLE, Pruett SB, ve ark.** Induction of immunosuppressive CD8(+)CD25(+)FOXP3(+) regulatory T cells by suboptimal stimulation with staphylococcal enterotoxin C1. *J Immunol*, **2017**, s. 200: 669–680.
133. **Letertre C, Perelle S, Dilasser F, Fach F.** Identification of a new putative enterotoxin SEU encoded by the egc cluster of *Staphylococcus aureus*. *J Appl Microbiol*, **2003**, s. 95:38–43
134. **Levy R, Rotfogel Z, Hillman D, Popugailo A, Arad G, ve ark.** Superantigens hyperinduce inflammatory cytokines by enhancing the B7-2/CD28 costimulatory receptor interaction. *Proc Natl Acad Sci USA*, **2016**, s. 113: E6437–E6446
135. **Liang M, Zhang T, Liu X, Fan Y, Xia S, ve ark.** Development of an indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay based on the multi-epitope peptide for the synchronous detection of staphylococcal enterotoxin A and G proteins in milk. *J Food Prot*, **2015**, s. 78(2):362-9.
136. **Lina G, Bohach GA, Nair S P, Hiramatsu K, Jouvin Marche E, ve ark.** Standard nomenclature for the superantigens expressed by *Staphylococcus*. *J Infect Dis*, **2004**, s. 89:2334–2336.
137. **Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, ve ark.** Involvement of Pantone-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis*, **1999**, s. 29(5): 1128-1132.
138. **Lis E, Podkowik M, Bystroń J, Stefaniak T, Bania J.** Temporal expression of staphylococcal enterotoxin h in comparison with accessory gene regulator-dependent and -independent enterotoxins. *J Food Prot*, **2012**, s. 75(2):238-44.
139. **Liu C, Chen ZJ, Sun Z, Feng X, Zou M, ve ark.** Molecular characteristics and virulence factors in methicillin-susceptible, resistant, and heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* from central-southern China. *J Microbiol Immunol Infect*, **2015**, s. 48:490–496.
140. **Lotfi-Emran S, Ward BR, Le QT, Pozez AL, Manjili MH, ve ark.** Human mast cells present antigen to autologous CD4⁺ T cells. *J Allergy Clin Immunol*, **2018**, s. 141(1):311-321.e10.
141. **Luu M, Steinhoff U, Visekruna A.** Functional heterogeneity of gut-resident regulatory T cells. *Clin Transl Immunol*, **2017**, s. 6:e156
142. **Maina EK, Hu DL, Tsuji T, Omoe K, Nakane A.** Staphylococcal enterotoxin A has potent superantigenic and emetic activities but not diarrheagenic activity. *Int J Med Microbiol*, **2001**, s. 302:88–95.

143. **Manago K, Nishi J, Wakimoto N, Miyanohara H, Sarantuya J, Tokuda K, ve ark.** Biofilm formation by and accessory gene regulator typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains recovered from patients with nosocomial infections. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2006**, s. 27(2):188-90.
144. **Maretzky T, Reiss K, Ludwig A, Buchholz J, Scholz F, ve ark.** ADAM10 mediates E-cadherin shedding and regulates epithelial cell-cell adhesion, migration, and beta-catenin translocation. *Proc Natl Acad Sci USA*, **2005**, s. 102:9182–9187.
145. **Maretzky T, Scholz F, Köten B, Proksch E, Saftig P, Reiss K.** ADAM10-mediated E-cadherin release is regulated by proinflammatory cytokines and modulates keratinocyte cohesion in eczematous dermatitis. *J Invest Dermatol*, **2008**, s. 128: 1737–1746.
146. **Mashruwala AA, Gries CM, Scherr TD, Kielian T, Boyd JM.** SaeRS Is Responsive to Cellular Respiratory Status and Regulates Fermentative Biofilm Formation in *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun*, **2017**, s. 85(8): e00157-17.
147. **Mayville P, Ji G, Beavis R, Yang H, Goger M, ve ark.** Structure-activity analysis of synthetic autoinducing thiolactone peptides from *Staphylococcus aureus* responsible for virulence. *Proc Natl Acad Sci USA*, **1999**, s. 96(4):1218-23.
148. **McCormick JK, Yarwood JM, Schlievert PM.** Toxic shock syndrome and bacterial superantigens An update. *Annu Rev Microbiol*, **2001**, s. 55:77–104.
149. **McDougald D, Rice SA, Barraud N, Steinberg PD, Kjelleberg S.** Should we stay or should we go: Mechanism and ecological consequences for biofilm dispersal. *Nat Rev Microbiol*, **2011**, s. 10:39–50.
150. **McGuinness WA, Malachowa N, DeLeo FR.** Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Yale J Biol Med*, **2017**, s. 90(2): 269-281
151. **McKevitt AI, Bjornson GL, Mauracher CA, Scheifele DW.** Amino acid sequence of a delta like toxin from *Staphylococcus epidermidis*. *Infect Immun*, **1990**, s. 58: 1473–1475.
152. **McNamara PJ, Milligan-Monroe KC, Khalili S, Proctor RA.** Identification, cloning, and initial characterization of rot, a locus encoding a regulator of virulence factor expression in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, **2000**, s.182:3197–3203
153. **Mehlin C, Headley CM, Klebanoff SJ.** An inflammatory polypeptide complex from *Staphylococcus epidermidis*. Isolation and characterization. *J Exp Med*, **1999**, s. 189: 907–918.
154. **Mehrotra M, Wang G, Johnson WM.** Multiplex PCR for Detection of Genes for *Staphylococcus aureus* Enterotoxins, Exfoliative Toxins, Toxic Shock Syndrome Toxin 1, and Methicillin Resistance. *J Clin Microbiol*, **2000**, s. 38(3):1032–1035.
155. **Melehanijh, James DBA, DuMont AL, Torres VJ, Duncan JA.** *Staphylococcus aureus* Leukocidin A/B (LukAB) Kills Human Monocytes via Host NLRP3 and ASC when Extracellular, but Not Intracellular. *PLoS Pathog*, **2015**, s.11: e1004970.
156. **Miethke T, Wahl C, Heeg K, Echtenacher B, Krammer P H, ve ark.** T cell-mediated lethal shock triggered in mice by the superantigen staphylococcal enterotoxin B: critical role of tumor necrosis factor. *J Exp Med*, **1992**, s. 175:91–98.
157. **Miles G, Movileanu L, Bayley H.** Subunit composition of a bicomponent toxin: Staphylococcal leukocidin forms an octameric transmembrane por. *Protein Sci*, **2002**, s. 11(4): 894–902.
158. **Montgomery CP, Boyle-Vavra S, Daum RS.** Importance of the global regulators Agr and SaeRS in the pathogenesis of CA-MRSA USA300 infection. *PLoS One*, **2010**, s. 5: e15177.
159. **Moormeier DE, Bayles KW.** *Staphylococcus aureus* biofilm: a complex developmental organism. *Review Mol Microbiol*, **2017**, s. 104(3): 365-376.
160. **Morfeldt E, Taylor D, von Gabain A, Arvidson S.** Activation of alpha-toxin translation in *Staphylococcus aureus* by the trans-encoded antisense RNA, RNAIII. *EMBO J*, **1995**, s.14(18): 4569-77
161. **Morinaga N, Kaihou Y, Noda M.** Purification, cloning and characterization of variant LukE-LukD with strong leukocidal activity of staphylococcal bi-component leukotoxin family. *Microbiol Immunol*, **2003**, s. 47(1): 81–90.
162. **Morita CT, Li H, Lamphear JG, Rich RR, Fraser JD, ve ark.** Superantigen recognition by gamma delta T cells: SEA recognition site for human Vgamma2 T cell receptors. *Immunity*, **2001**, s. 14: 331–344
163. **Motamedifar M, Ebrahim-Saraie HS, Alfatemi SMH, Zalipour M, Kaveh, ve ark.** Frequency of the toxic shock syndrome toxin-1 gene in methicillin-susceptible and -resistant *Staphylococcus aureus* isolates from teaching hospitals in Shiraz. *Rev Soc Bras Medicina Trop*, **2015**, s. 48(1): 90-9.
164. **Munson SH, Tremaine MT, Betley MJ, Welch RA.** Identification and characterization of staphylococcal enterotoxin types G and I from *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun*, **1998**, s. 66(7):3337-48.
165. **Naimi TS.** Comparison of Community- and Health Care–Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. *JAMA*, **2003**, s. 290: 2976–2984.

166. **Napier R J, Adams E J, Gold MC, Lewinsohn DM.** The role of mucosal associated invariant T cells in antimicrobial immunity. *Front Immunol*, **2015**, s. 6: 344.
167. **Nhan TX, Leclercq R, Cattoir V.** Prevalence of toxin genes in consecutive clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and clinical impact. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **2011**, s. 30(6):719-25.
168. **Nishifuji K, Sugai M, Amagai M.** Staphylococcal exfoliative toxins: “molecular scissors” of bacteria that attack the cutaneous defense barrier in mammals. *J Dermatol Sci*, **2008**, s. 49: 21–31.
169. **Novick RP, Projan SJ, Kornblum J, Ross HF, Ji G, ve ark.** The agr P2 operon an autocatalytic sensory transduction system in *Staphylococcus aureus*. *Mol Gen Genet*, **1995**, s. 248: 446–458.
170. **Novick R P.** Mobile genetic elements and bacterial toxinoses: the superantigen-encoding pathogenicity islands of *Staphylococcus aureus*. *Plasmid*, **2003**, s. 49:93–105.
171. **Novick RP, Geisinger E.** Quorum Sensing in Staphylococci. *Annu Rev Genet*, **2008**, s. 42:541–564
172. **Novick RP, Christie GE, Penadés JR.** The phage-related chromosomal islands of Gram-positive bacteria. *Nat Rev Microbiol*, **2010**, s. 8: 541–51.
173. **Nygaard TK, Pallister KB, DuMont AL, DeWald M, Watkins RL, ve ark.** Alpha-Toxin Induces Programmed Cell Death of Human T cells, B cells, and Monocytes during USA 300 Infection. *PLoS One*, **2012**, s. 7: 36532.
174. **Oliveira D, Borges A, Manuel Simões M.** *Staphylococcus aureus* Toxins and Their Molecular Activity in Infectious Diseases. *Toxins (Basel)*, **2018**,s. 10(6): 252.
175. **Omoe K, Hu DL, Ono HK, Shimizu S, Takahashi-Omoe H, ve ark.** Emetic potentials of newly identified staphylococcal enterotoxin-like toxins. *Infect Immun*. **2013**, s. 81(10): 3627-31.
176. **Ono HK, Omoe K, Imanishi K, Iwakabe Y, Hu D, ve ark.** Identification and Characterization of Two Novel Staphylococcal Enterotoxins, Types S and T. *Infect Immun*, **2008**, s. 76: 4999–5005.
177. **Orwin PM, Leung DY, Tripp TJ, Bohach GA, Earhart CA, ve ark.** Characterization of a novel staphylococcal enterotoxin-like superantigen, a member of the group V subfamily of pyrogenic toxins. *Biochemistry*, **2002**, s. 41(47): 14033-40.
178. **Otto M.** Basis of virulence in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Annu Rev Microbiol*, **2010**, s. 64: 143–162.
179. **Otto M.** *Staphylococcus aureus* toxins. *Curr Opin Microbiol*, **2014**, s. 17: 32–37.
180. **Özdemir H, Keyvan E.** Isolation and characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from beef, sheep and chicken meat. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, **2016**, s. 63: 333-338.
181. **Özel Y, Büyükgöçmen KB, Yavuz MT.** Klinik örneklerden izole edilen metisiline dirençli ve duyarlı *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotik direnç profilinin araştırılması. *ANKEM Derg*, **2017**, s. 31(2): 41-47.
182. **Pané-Farré J, Jonas B, Förstner K, Engelmann S, Hecker M.** The sigma B regulon in *Staphylococcus aureus* and its regulation. *Int J Med Microbiol*, **2006**, s. 296(4-5): 237-58.
183. **Panlilio AL, Culver DH, Gaynes RP, Banerjee S, Henderson TS, ve ark.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **1992**, s. 13(10): 582-6.
184. **Parker MW, Feil SC.** Pore-forming protein toxins from structure to function. *Prog Biophys Mol Biol*, **2005**, s. 88:91–142.
185. **Paulander W, Nissen Varming A, Baek KT, Haaber J, Frees D, ve ark.** Antibiotic-mediated selection of quorum-sensing-negative *Staphylococcus aureus*. *MBio*, **2013**, s. 3: e00459-12.
186. **Pauli NT, Kim HK, Falugi F, Huang M, Dulac J, ve ark.** *Staphylococcus aureus* infection induces protein A-mediated immune evasion in humans. *J Exp Med*, **2014**, s. 211: 2331–2339.
187. **Peacock SJ, Moore CE, Justice A, Kantzanou M, Story L, ve ark.** Virulent combinations of adhesin and toxin genes in natural populations of *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun*, **2002**, s.70: 4987–499
188. **Peerayeh SN, Azimian A, Nejad QB, Kashi M.** Prevalence of agr Specificity Groups Among *Staphylococcus aureus* Isolates From University Hospitals in Tehran. *Lab Med*, **2009**, s. 40(1): 27–29.
189. **Penesyan A, Gillings M, Paulsen IT.** Antibiotic discovery: Combatting bacterial resistance in cell sandin biofilm communities. *Molecules*, **2015**, s. 20: 5286–5298.
190. **Peng HL, Novick RP, Kreiswirth B, Kornblum J, Schlievert P.** Cloning, characterization, and sequencing of an accessory gene regulator (agr) in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, **1988**, s.170: 4365–4372
191. **Periasamy S, Joo HS, Duong AC, Bach THL, Tan VY ve ark.** How *Staphylococcus aureus* biofilms develop their characteristic structure. *Proc Natl Acad Sci USA*, **2012**, s. 109:1281–1286.
192. **Peschel A, Otto M.** Phenol-soluble modulins and staphylococcal infection. *Nat Rev Microbiol*, **2013**, s.11:667–673.
193. **Pinchuk IR, Beswick EJ, Reyes VE.** Staphylococcal enterotoxins. *Toxins*, **2010**, s. 2(8):2177-2197.

194. **Popov L, Kovalski J, Grandi G, Bagnoli F, Amieva MR.** Three-Dimensional Human Skin Models to Understand *Staphylococcus aureus* Skin Colonization and Infection. *Front Immunol*, **2014**, s. 5:41.
195. **Powell N, Macdonald TT.** Recent advances in gut immunology. *Parasite Immunol*, **2017**, s. 39:e12430.
196. **Powers ME, Kim HK, Wang Y, Bubeck Wardenburg J.** ADAM10 mediates vascular injury induced by *Staphylococcus aureus* α -hemolysin. *J Infect Dis*, **2012**, s. 206:352–356.
197. **Pragman AA, Schlievert PM.** Virulence regulation in *Staphylococcus aureus*: the need for in vivo analysis of virulence factor regulation. *FEMS Immunol Med Microbiol*. **2004**, s. 42: 147–54
198. **Prevost G, Couppie P, Prevost P, Gayet S, Petiau P, ve ark.** Epidemiological data on *Staphylococcus aureus* strains producing synergohymenotropic toxins. *J Med Microbiol*, **1995**, s. 42(4):237-45.
199. **Prévost G, Cribier B, Couppié P, Petiau P, Supersac G, ve ark.** Panton-Valentine leucocidin and gamma-hemolysin from *Staphylococcus aureus* ATCC49775 are encoded by distinct genetic loci and have different biological activities. *Infect Immun*, **1995**, s. 63(10): 4121–4129
200. **Proft T, Fraser JD.** Bacterial superantigens. *Clin Exp Immunol*, **2003**, s. 133: 299–306.
201. **Projan SJ, Kornblum J, Kreiswirth B, Moghazeh SL, Eisner W, ve ark.** Nucleotide sequence: The beta-hemolysin gene of *Staphylococcus aureus*. *Nucleic Acids Res*, **1989**, s. 17: 3305.
202. **Queck SY, Jameson-Lee M, Villaruz AE, Bach TH, Khan BA, ve ark.** RNAIII-independent target gene control by the agr quorum-sensing system: insight into the evolution of virulence regulation in *Staphylococcus aureus*. *Mol Cell*, **2008**, s. 32(1):150-8.
203. **Rautenberg M, Joo HS, Otto M, Peschel A.** Neutrophil responses to staphylococcal pathogens and commensals via the formyl peptide receptor 2 relates to phenol-soluble modulins and virulence. *FASEB J*, **2011**, s. 25:1254–1263.
204. **Regassa LB, Novick RP, Betley MJ.** Glucose and nonmaintained pH decrease expression of the accessory gene regulator (agr) in *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun*, **1992**, s. 60: 3381–3388.
205. **Regassa LB, Couch JL, Betley MJ.** Steady-state staphylococcal enterotoxin type C mRNA is affected by a product of the accessory gene regulator (agr) and by glucose. *Infect Immun*, **1991**, s. 59(3): 955-62.
206. **Rellahan BL.** In vivo induction of anergy in peripheral V β 8 T cells by staphylococcal enterotoxin. *B J Exp Med*, **1990**, s. 172:1091–1100.
207. **Rieder SA, Nagarkatti P, Nagarkatti M.** CD1d-independent activation of invariant natural killer T cells by staphylococcal enterotoxin B through major histocompatibility complex class II/T cell receptor interaction results in acute lung injury. *Infect Immun*, **2011**, s. 79: 3141–3148
208. **Rogasch K, Rühmling V, Dirk Höper J, Stephan C, Schmudde M, ve ark.** Influence of the two-component system SaeRS on global gene expression in two different *Staphylococcus aureus* strains. *J Bacteriol*, **2006**, s. 188(22): 7742-58.
209. **Rose F, Dahlem G, Guthmann B, Grimminger F, Maus U, ve ark.** Mediator generation and signaling events in alveolar epithelial cells attacked by *S. aureus* α -toxin. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, **2002**, s. 282: 207–L214.
210. **Rudkin J K, Laabei M, Edwards AM, Joo HS, Otto M, ve ark.** Oxacillin alters the toxin expression profile of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*, **2014**, s. 58: 1100–1107.
211. **Saenz HL, Augsburger V, Vuong C, Jack RW, Götz F, ve ark.** Inducible expression and cellular location of AgrB, a protein involved in the maturation of the staphylococcal quorum-sensing pheromone. *Arch Microbiol*, **2000**, s. 174: 452–455.
212. **Säid-Salim B, Dunman PM, McAleese FM, Macapagal D, Murphy E, ve ark.** Global regulation of *Staphylococcus aureus* genes by Rot. *J Bacteriol*, **2003**, s. 185(2):610-9.
213. **Sakurai S, Suzuki H, Machida K.** Rapid Identification by Polymerase Chain Reaction of Staphylococcal Exfoliative Toxin Serotype A and B Genes. *Microbiol Immunol*, **1995**, s. 39:379–386.
214. **Salerno-Goncalves R, Luo D, Fresnay S, Magder L, Darton TC, ve ark.** Challenge of humans with wild-type *Salmonella enterica* serovar Typhi elicits changes in the activation and homing characteristics of Mucosal-Associated Invariant T Cells. *Front Immunol*, **2017**, s. 8:398.
215. **Saline M, Rodstrom KE, Fischer G, Orekhov VY, Karlsson BG, ve ark.** The structure of superantigen complexed with TCR and MHC reveals novel insights into superantigenic T cell activation. *Nat Commun*, **2010**, s. 1: 119.
216. **Scherr TD, Hanke ML, Huang, O, James DBA, Horswill AR, ve ark.** *Staphylococcus aureus* Biofilms Induce Macrophage Dysfunction through Leukocidin AB and Alpha-Toxin. *MBio*, **2015**, s. 6(4): e01021-15

217. **Scheuber PH, Golecki JR, Kickhöfen B, Scheel D, Beck G, Hammer DK.** Skin reactivity of unsensitized monkeys upon challenge with staphylococcal enterotoxin B: a new approach for investigating the site of toxin action. *Infect Immun*, **1985**, s. 50(3):869-76.
218. **Schmidt KA, Donegan NP, Kwan WA Jr, Cheung A.** Influences of sigmaB and agr on expression of staphylococcal enterotoxin B (seb) in *Staphylococcus aureus*. *Can J Microbiol*, **2004**, s. 50(5):351-60.
219. **Seals DF, Courtneidge SA.** The ADAMs family of metalloproteases: Multi domain proteins with multiple functions. *Genes Dev*, **2003**, s.17:7–30.
220. **Seidl K, Goerke C, Wolz C, Mack D, Berger-Bächi B, ve ark.** *Staphylococcus aureus* CcpA affects biofilm formation. *Infect Immun*, **2008**, s.76(5): 2044-50.
221. **Seilie ES, Bubeck-Wardenburg J.** *Staphylococcus aureus* pore-forming toxins: The interface of pathogen and host complexity. *Semin Cell Dev Biol*, **2017**, s. 72:101–116.
222. **Shaler CR, Choi J, Rudak PT, Memarnejadian A, Szabo P A, ve ark.** MAIT cells launch a rapid, robust and distinct hyperinflammatory response to bacterial superantigens and quickly acquire an anergic phenotype that impedes their cognate antimicrobial function: defining a novel mechanism of superantigeninduced immunopathology and immunosuppression. *PLoS Biol*, **2017**, s.15: e2001930.
223. **Shopsin B, Mathema B, Alcabes P, Said-Salim B, Lina G, ve ark.** Prevalence of agr specificity groups among *Staphylococcus aureus* strains colonizing children and their guardians. *J Clin Microbiol*, **2003**,s. 41(1): 456-9.
224. **Shukla SK, Karow ME, Brady JM, Stemper ME, Kislow J, ve ark.** Virulence genes and genotypic associations in nasal carriage, community-associated methicillin-susceptible and methicillin-resistant USA 400 *Staphylococcus aureus* isolates. *J Clin Microbiol*, **2010**, s. 48(10): 3582–3592.
225. **Shupp JW, Jett M, Pontzer CH.** Identification of a transcytosis epitope on staphylococcal enterotoxins. *Infect Immun*, **2002**, s. 70:2178–2186
226. **Silversides JA, Lappin E, Ferguson AJ.** Staphylococcal Toxic Shock Syndrome: Mechanisms and Management. *Curr Infect Dis Rep*, **2010**, s.12: 392–400
227. **Song L, Hobaugh MR, Shustak C, Cheley S, Bayley H, Gouaux JE.** Structure of Staphylococcal alpha-hemolysin, a heptameric transmembrane pore. *Science*, **1996**, s. 274:1859–1866
228. **Spaan A N, Reyes-Robles T, Badiou C, Cochet S, Boguslawski KM, ve ark.** *Staphylococcus aureus* Targets the Duffy Antigen Receptor for Chemokines (DARC) to Lyse Erythrocytes. *Cell Host Microbe*, **2015**, s. 18:363–370.
229. **Spaan AN, Vrieling M, Wallet P, Badiou C, Reyes-Robles T, ve ark.** The staphylococcal toxins γ -haemolysin AB and CB differentially target phagocytes by employing specific chemokine receptors. *Nat Commun*, **2014**, s. 5:5438.
230. **Stohl W, Elliott JE, Linsley PS.** Human T cell-dependent B cell differentiation induced by staphylococcal superantigens. *J Immunol*, **1994**, s. 153:117–127.
231. **Su YC, Wong AC.** Detection of staphylococcal enterotoxin H by an enzyme-linked immunosorbent assay. *J Food Prot*, **1996**, s. 59(3):327-30.
232. **Sugawara-Tomita N, Tomita T, Kamio Y.** Stochastic assembly of two-component staphylococcal gamma-hemolysin into heteroheptameric transmembrane pores with alternate subunit arrangements in ratios of 3:4 and 4:3. *J Bacteriol*, **2002**, s. 184(17): 4747–4756.
233. **Suttorp N, Fuhrmann M, Tannert-Otto S, Grimminger F, Bhadki S.** Pore-forming bacterial toxins potentially induce release of nitric oxide in porcine endothelial cells. *J Exp Med*, **1993**, s. 178: 337–341.
234. **Szabo PA, Rudak PT, Choi J, Xu SX, Schaub R, ve ark.** Invariant natural killer T Cells are pathogenic in the HLA-DR4-transgenic humanized mouse model of toxic shock syndrome and can be targeted to reduce morbidity. *J Infect Dis*, **2017**, s. 215:824–829.
235. **Tajima A, Iwase T, Shinji H, Seki K, Mizunoe Y.** Inhibition of endothelial interleukin-8 production and neutrophil transmigration by *Staphylococcus aureus* beta-hemolysin. *Infect Immun*, **2009**, s.77(1): 327–334.
236. **Tanriverdi Çaycı Y, Hasli F, Bilgin K, Asuman Birinci A.** Evaluation of susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains that isolated from blood cultures in Samsun Ondokuz Mayıs University Hospital between 2014-2017. *KOU Sag Bil Derg*, **2017**, s. 4(1): 20-22
237. **Thomas D, Chou S, Dauwalder O, Lina G.** Diversity in *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Chem Immunol Allergy*, **2007**, s. 93:24–41.
238. **Tiedemann RE, Fraser JD.** Cross-linking of MHC class II molecules by staphylococcal enterotoxin A is essential for antigen-presenting cell and T cell activation. *J Immunol*, **1996**, s. 157: 3958–3966
239. **Tong SYC, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG Jr.** *Staphylococcus aureus* infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations and Management. *Clin Microbiol Rev*, **2015**, s. 28: 603–661.

240. **Treiner E, Duban L, Bahram S, Radosavljevic M, Wanner V, ve ark.** Selection of evolutionarily conserved mucosal-associated invariant T cells by MR1. *Nature*, **2003**, s. 422: 164–169
241. **Tremaine MT, Brockman DK, Betley MJ.** Staphylococcal enterotoxin A gene (sea) expression is not affected by the accessory gene regulator (agr). *Infect Immun*, **1993**, s. 61(1):356-9.
242. **Tuffs SW, James DBA, Bestebroer J, Richards AC, Goncheva MI, ve ark.** The *Staphylococcus aureus* superantigen SEIX is a bifunctional toxin that inhibits neutrophil function. *PLoS Pathog*, **2017**, s. 13:e 1006461
243. **UAMDSS.** Ulusal Antimikrobiyal Direnç Süveyans Sistemi. UAMDSS_2016_Rapor.pdf. <https://hsqm.saglik.gov.tr>. Erişim: 14 Ocak 2021.
244. **UAMDSS.** Ulusal Antimikrobiyal Direnç Süveyans Sistemi. UAMDSS_2016_Rapor.pdf. <https://hsqm.saglik.gov.tr>. Erişim: 14 Ocak 2021
245. **Umeda K, Nakamura H, Yamamoto K, Nishina N, Yasufuku K, ve ark.** Molecular and epidemiological characterization of staphylococcal foodborne outbreak of *Staphylococcus aureus* harboring *seg*, *sei*, *sem*, *sen*, *seo*, and *selu* genes without production of classical enterotoxins. *Int J Food Microbiol*, **2017**, s. 256:30-35.
246. **Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, ve ark.** Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes. Worldwide emergence. *Emerg Infect Dis*, **2003**, s. 9:978–984.
247. **Vasconcelos NG, da Cunha MLRS.** Staphylococcal enterotoxins: Molecular aspects and detection methods. *J Public Health Epidemiol*, **2010**, s. 2(3): 29-42
248. **Ventura CL, Malachowa N, Hammer CH, Nardone GA, Robinson MA, ve ark.** Identification of a novel *Staphylococcus aureus* two-component leukotoxin using cell surface proteomics. *PLoS One*, **2010**, s. 5: e11634.
249. **Verhoeven PO, Gagnaire J, Botelho-Nevers E, Grattard F, Carricajo A, ve ark.** Detection and clinical relevance of *Staphylococcus aureus* nasal carriage: an update. *Expert Rev Anti Infect Ther*, **2014**, s. 12(1):75-89.
250. **von Eiff C, Proctor RA, Peters G.** Coagulase-negative staphylococci. Pathogens have major role in nosocomial infections. *Postgrad Med*, **2001**, s. 110(4):63-76.
251. **Vuong C, Kocianova S, Yao Y, Carmody AB, Otto M.** Increased colonization of indwelling medical devices by quorum-sensing mutants of *Staphylococcus epidermidis* in vivo. *J Infect Dis*, **2004**, s. 190:1498–1505.
252. **Wang R, Braughton KR, Kretschmer D, Bach T, Queck SY, ve ark.** Identification of novel cytolytic peptides as key virulence determinants for community-associated MRSA. *Nat Med*, **2007**, s. 13:1510–1514.
253. **Waters CM, Bassler BL.** Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annu Rev Cell Dev Biol*, **2005**, s. 21:319–34.
254. **Wattlinger L, Stephan R, Layer F, Johler S.** Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates associated with food intoxication with isolates from human nasal carriers and human infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **2012**, s. 31(4):455-64.
255. **White J, Herman A, Pullen AM, Kubo R, Kappler JW, ve ark.** The V beta-specific superantigen staphylococcal enterotoxin B: stimulation of mature T cells and clonal deletion in neonatal mice. *Cell*, **1989**, s. 56: 27–35.
256. **Wilkinson BJ.** The biology of staphylococci. In *The Staphylococci in Human Disease*; Churchill Livingstone. New York NY USA, **1997**, s. 1–38.
257. **Wilson GJ, Seo KS, Cartwright RA, Connelley T, Chuang-Smith ON, ve ark.** A novel core genome-encoded superantigen contributes to lethality of community-associated MRSA necrotizing pneumonia. *PLoS Pathog*, **2011**, s. 7:e1002271.
258. **Wu S, Duan N, Gu H, Hao L, Ye H, ve ark.** A Review of the Methods for Detection of *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. *Toxins (Basel)*, **2016**, s. 8(7):176.
259. **Xie Y, He Y, Gehring A, Hu Y, Li Q, Tu SI, Shi X.** Genotypes and Toxin Gene Profiles of *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates from China. *PLoS One*, **2008**, s. 6(12):e28276.
260. **Yamaguchi T, Nishifuji K, Sasaki M, Fudaba Y, Aepfelbacher M, ve ark.** Identification of the *Staphylococcus aureus* *etd* pathogenicity island which encodes a novel exfoliative toxin ETD and EDIN-B. *Infect Immun*, **2002**, s. 70: 5835–5845.
261. **Yamashita K, Kawai Y, Tanaka Y, Hirano N, Kaneko J, ve ark.** structure of the octameric por of staphylococcal γ -Hemolysin reveals the β -Barrel pore formation mechanism by two components. *Proc Natl Acad Sci USA*, **2011**, s. 108(42): 17314–17319.
262. **Yarwood JM, Bartels DJ, Volper EM, Greenberg EP.** Quorum Sensing in *Staphylococcus aureus* Biofilms. *J Bacteriol*, **2004**, s. 186:1838–1850.

263. **Yıldırım T, Sadati F, Kocaman B, Sırıken B.** *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal enterotoxin detection in raw milk and cheese origin coagulase positive isolates. *Int J Sci Lett*, **2019**, s. 1(1): 30-41.
264. **Yoong P, Torres VJ.** The effects of *Staphylococcus aureus* leukotoxins on the host. Cell lysis and beyond. *Curr Opin Microbiol*, **2013**, s. 16(1): 63-69.
265. **Zeaki N, Susilo YB, Pregiel A, Rådström P, Schelin J.** Prophage-Encoded Staphylococcal Enterotoxin A: Regulation of Production in *Staphylococcus aureus* Strains Representing Different SeaRegions. *Toxins (Basel)*, **2015**, s. 7(12):5359-76.
266. **Zhang N, Holtappels G, Gevaert P, Patou J, Dhaliwal B, ve ark.** Mucosal tissue polyclonal IgE is functional in response to allergen and SEB. *Allergy*, **2011**, s. 66:141–148.
267. **Zhao Y, Zhu A, Tang J, Tang C, Chen J.** Identification and measurement of staphylococcal enterotoxin M from *Staphylococcus aureus* isolate associated with staphylococcal food poisoning. *Lett Appl Microbiol*, **2017**, s. 65: 27–34.
268. **Ziebandt AK, Becher D, Ohlsen K, Hacker J, Hecker M, Engelmann S.** The influence of agr and sigmaB in growth phase dependent regulation of virulence factors in *Staphylococcus aureus*. *Proteomic*, **2004**, s. 4(10): 3034-47.

ÖZGEÇMİŞ

2014 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı ve 2018 yılında mezun oldu. Aynı yıl Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı.

