

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KÖPEKLERDEN İZOLE EDİLEN STAFİLOKOKLARIN BAZI
VİRULENS VE PATOJENİTE FAKTÖRLERİNİN MOLEKÜLER
ANALİZİ**

Veteriner Hekim Rabia ÇELİK
VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. İsmail Hakkı EKİN

Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2022-9667 No'lu proje olarak desteklenmiştir.

VAN-2023

KABUL VE ONAY

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalında Veteriner Hekim Rabia ÇELİK tarafından hazırlanan **“Köpeklerden İzole Edilen Stafilokokların Bazı Virulens ve Patojenite Faktörlerinin Moleküler Analizi”** adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 12 / 01 / 2023

Prof. Dr. İsmail Hakkı EKİN
Jüri Başkanı

Dr. Öğr. Üyesi Özgül GÜLAYDIN
Jüri Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Kadir AKAR
Jüri Üyesi

Tez hakkında alınan jüri kararı, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Semiha DEDE
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum **“Köpeklerden İzole Edilen Stafilokokların Bazı Virulens ve Patojenite Faktörlerini Moleküler Analizi”** başlıklı tezim; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler ve yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kural ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanmış olup, bu kural ve ilkeler gereği çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

12 / 01 / 2023

Veteriner Hekim Rabia ÇELİK

TEŞEKKÜR

Sunulan bu yüksek lisans tez çalışmasının başlangıcından son cümlesine kadar her aşamasında büyük emeği, bilgisi, özverisi olan ve bu süreçte kendisinden çok şey öğrendiğim danışman hocam sayın Prof. Dr. İsmail Hakkı Ekin'e canı gönülden teşekkür ederim. Yüksek lisans Tez sürecimde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda desteğini gördüğüm, tecrübeleriyle bana yön veren Siirt Üniversitesi öğretim üyesi Dr. Öğr. Ü. Özgül Gülaydın'a, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi öğretim üyesi Dr. Öğr. Ü. Cihat Öztürk'e, Doç. Dr. Şükrü Önalın'a, Dr. Öğr. Üyesi Rabia Mehtap Tuncay'a çok teşekkür ederim. Laboratuvarımda bana yardım eden Veteriner Hekim Berivan Kaplan, Veteriner Hekim Şah İsmail Bilge ve Fatima Fabounaaja'ya, örnek toplama aşamasında yardımlarını esirgemeyen Van Büyükşehir Belediyesi Hayvan Bakımı ve Rehabilitasyon Merkezi'nde görev yapan Veteriner hekim ve çalışanlarına teşekkür ederim. Çalışmalarım esnasında büyük fedakarlıklarda bulunan ve manevi desteğini esirgemeyen değerli annem, babam ve kardeşlerime ayrıca bana olan inancını hiç kaybetmeyen ve maddi - manevi destek veren sevgili nişanlım Veteriner Hekim Hasan Denk'e teşekkürlerimi borç bilirim. Ayrıca bu araştırmayı destekleyen Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Çelik R, Köpeklerden İzole Edilen Stafilocokların Bazı Virulens ve Patojenite Faktörlerinin Moleküler Analizi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji (Veteriner) Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2023. Bu araştırmada, köpeklerden izole edilen stafilocoklarda bazı virulens ve patojenite faktörlerinin moleküler tekniklerle incelenmesi amaçlandı. Bunun için Van Büyükşehir Belediyesi Hayvan Bakımı ve Rehabilitasyon Merkezi'nde anestezi altındaki 95 adet köpeğin burun ve kulaklarından alınan sıvı örnekleri kullanıldı. Örneklerin bakteriyolojik analizi sonucu izole edilen 50 adet stafilocok kültürünün tür düzeyinde identifikasyonu BD Phoenix™ otomatize bakteri tanımlama cihazı ile yapıldı. İzolatların virulens ve patojenite faktörlerinin analizi PCR yöntemi ile yapıldı. Araştırmada elde edilen 50 adet stafilocok izolatının %56'sı *S. aureus*, %36'sı *S. intermedius*, %6'sı *S. warneri* ve %2'si de *S. schleiferi* olarak identifiye edildi. İzolatların hiçbirinde *eta*, *luk-PV* ve *GluSE* genlerine rastlanılmadı. Yapılan diğer analizlerde *S. aureus* izolatlarının %82'si *agrA*, %68'i *sarA*, %21'i *AtIE*, %29'u *aap*, %39'u *icaAB*, %18'i *etb*, %64'ü *geh*, %36'sı *nuc* genleri yönünden pozitif, *etd*, *mecA* ve *tsst* genleri yönünden ise negatif bulundu. *S. intermedius* izolatlarının %83'ü *agrA*, %61'i *sarA*, %6'sı *AtIE*, *nuc* ve *tsst*, %17'si *aap*, %11'i *icaAB* ve *etb*, %6'sı *etd*, %78'i *geh*, %17'si *mecA*, genleri yönünden pozitif bulundu. *S. warneri* izolatlarının tamamı *sarA* ve *etb*, %67'si *agrA*, *aap*, *geh*; %33'ü *icaAB*, *etd*, *tsst* genleri yönünden pozitif, *AtIE*, *mecA* ve *nuc* genleri yönünden ise negatif bulundu. Bir adet *S. schleiferi* izolatı *agrA*, *aap* ve *nuc* genleri yönünden pozitifken diğer genler yönünden negatif bulundu. Yapılan bu çalışmada sağlıklı köpeklerden izole edilen stafilocok türlerinin potansiyel patojen türler olması dikkat çekti. İzolatların virulens ve patojenite genleri varlığı açısından önemli oranlarda pozitiflik tespit edilmesi nedeniyle hayvan sağlığı açısından önemli risk oluşturabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: Köpek, Stafilocok, Virülens Faktör, Patojenite Faktör

ABSTRACT

Çelik R, Molecular Analysis of Some Virulence and Pathogenicity Factors of Staphylococci Isolated from Dogs, Van Yuzuncu Yil University, Health Sciences Institute, Department of Microbiology (Veterinary Programme), Master Thesis, Van, Türkiye, 2023. In this study, it was aimed to investigate some virulence and pathogenicity factors by molecular techniques in staphylococci isolated from dogs. For this purpose, swab samples taken from the nose and ears of 95 dogs under anesthesia at the Animal Care and Rehabilitation Center of Van Metropolitan Municipality were used in the study. Species-level identification of 50 isolated staphylococcal cultures was performed with the BD Phoenix™ automated bacteria identification device. Analysis of virulence and pathogenicity factors of isolates was done by PCR method. Out of the 50 staphylococcal isolates obtained in the study, 56% were identified as *S. aureus*, 36% as *S. intermedius*, 6% as *S. warneri* and 2% as *S. schleiferi*. No *eta*, *luk-PV* and *GluSE* genes were found in any of the isolates. In other analyzes, 82% of *S. aureus* isolates were *agrA*, 68% *sarA*, 21% *AtlE*, 29% *aap*, 39% *icaAB*, 18% *etb*, 64% *geh*, and 36% were positive for *nuc* genes while *etd*, *mecA* and *tsst* genes were found to be negative. Out of 83% of *S. intermedius* isolates were *agrA*, 61% *sarA*, 6% *AtlE*, *nuc* and *tsst*, 17% *aap*, 11% *icaAB* and *etb*, 6% *etd*, 78% *geh*, 17% were positive for *mecA* genes. In the study, 67% of *S. warneri* isolates were found positive for *agrA*, *aap* and *geh*, 33% for *icaAB*, *etd* and *tsst*, 100% for *sarA* and *etb* genes, and all isolates were negative for *AtlE*, *mecA* and *nuc* genes. One *S. schleiferi* isolate was positive for *agrA*, *aap* and *nuc* genes, while it was negative for other genes. In this study, it was quite remarkable that the staphylococcal species isolated from healthy dogs were potentially pathogenic species. It was concluded that the isolates may pose a significant risk in terms of animal health due to the presence of virulence and pathogenicity genes at significant rates.

Keywords: Dog, Staphylococcus, Virulence factor, Pathogenicity factor

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	II
ETİK BEYAN.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VI
İÇİNDEKİLER.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	X
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	XI
TABLolar LİSTESİ.....	XII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Stafilokokların Genel Özellikleri.....	3
2.1.1. Tarihçe.....	3
2.1.2. Sınıflandırma.....	3
2.1.3. Stafilokokların morfolojik ve kimyasal özellikleri.....	4
2.2. Stafilokokların Virulens ve Patojenite Faktörleri.....	6
2.2.1. Kapsül.....	6
2.2.2. Slime faktör.....	7
2.2.3. Hücre duvarı.....	7
2.2.4. Biyofilm oluşumu.....	11
2.2.5. Enzimler.....	13
2.2.6. Toksinler.....	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
3.1. Gereç.....	24
3.1.1. Sıvı örnekleri.....	24
3.1.2. Referans suşlar.....	24
3.1.3. Besiyerleri.....	24

3.1.4. Çözelti ve ayıracılar	24
3.2. Yöntem	25
3.2.1. İzolasyon ve ön identifikasyon	25
3.2.2. İdentifikasyon.....	25
3.2.3. Virulens faktörlerinin moleküler analizi.....	26
4. BULGULAR.....	30
4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Sonuçları.....	30
4.2. Virulens Faktörlerinin Moleküler Analiz Sonuçları.....	33
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	42
KAYNAKLAR.....	50
ÖZGEÇMİŞ.....	65
EKLER.....	66
Ek 1. Etik Kurul Onay Belgesi.....	66
Ek 2. Tez Orijinallik Raporu.....	68

SİMGELER VE KISALTMALAR

KNS	: Koagulaz negatif stafilokok
KPS	: Koagulaz pozitif stafilokok
MSA	: Mannitol salt agar
PS/A	: Polisakkarit adhezin
PIA	: Polisakkarit intersellüer adhezin
PSM	: Phenol-soluble modulins
Tpa	: Doku plazminojen aktivatör
KDa	: Kilodalton
µl	: Mikrolitre
TAE	: Tris-Asetat-EDTA
TK-MRSA	: Toplumla ilişkili metisiline dirençli <i>S. aureus</i>

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Stafilokoklarda koagulazın ana virulens faktörü olarak sınıflandırılması	4
Şekil 2.	Stafilokok hücre duvar yapısı	9
Şekil 3.	Stafilokokların bazı virulens ve patojenite faktörleri	10
Şekil 4.	PVL ile oluşan doku nekrozu	22
Şekil 5.	BD Phoenix™ PMIC/D-87 Gram pozitif paneli	27
Şekil 6.	BD Phoenix™ Otomatize bakteri identifikasyon sistemi analiz sonucu (<i>S. aureus</i>)	32
Şekil 7.	BD Phoenix™ Otomatize bakteri identifikasyon sistemi analiz sonucu (<i>S. intermedius</i>)	33
Şekil 8.	Stafilokok izolatlarında incelenen virulens ve patojenite ile ilişkili genlerin agaroz jel görüntüsü	34
Şekil 9.	İncelenen örneklerden izole edilen suşlarda bazı virulens ve patojenite ile ilişkili genlerin moleküler analiz sonuçlarının grafiksel görünümü ..	36
Şekil 10.	Burundan izole edilen suşlarda bazı virulens ve patojenite ile ilişkili genlerin moleküler analiz sonuçlarının grafiksel görünümü	38
Şekil 11.	Kulaktan izole edilen suşlarda bazı virulens ve patojenite ile ilişkili genlerin moleküler analiz sonuçlarının grafiksel görünümü	40

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.	Stafilokok izolatlarında incelenen virulens ve patojenite faktörlerinin oligonükleotid dizileri	28
Tablo 2.	Stafilokok izolatlarında incelenen virulens ile ilişkili faktörlerin tespitinde kullanılan oligonükleotid dizilerinin bağlanma sıcaklıkları ve boyutları	29
Tablo 3.	İncelenen örnekler ve izolat oranları	31
Tablo 4.	İncelenen örneklerden izole edilen suşlarda bazı virulens ve patojenite ile ilişkili genlerin moleküler analiz sonuçları	35
Tablo 5.	Burundan izole edilen suşlarda bazı virulens ve patojenite ile ilişkili genlerin moleküler analiz sonuçları	37
Tablo 6.	Kulaktan izole edilen suşlarda bazı virulens ve patojenite ile ilişkili genlerin moleküler analiz sonuçları	39

1. GİRİŞ

Stafilokoklar, insan ve hayvanlarda çeşitli enfeksiyonlara neden olan fırsatçı patojenlerdir. *Micrococcaceae* familyasında yer alan ve Gram pozitif bir bakteri olan stafilokoklar, mikroskopta 0.5-1.5 µm büyüklüğünde kok, diplokok, tetrakok ya da üzüm salkımı şeklinde görülmektedir. Deri, nazofarinks, gastrointestinal sistem, burun ve diğer mukozaların normal flora üyesini oluştururlar (Bilgehan, 2009). Daha önce yapılan çalışmalar, burunda *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) taşıyıcılığı ile artan nozokomiyal enfeksiyon riski arasında güçlü bir nedensel bağlantı olduğunu göstermektedir. Nazal taşıma, *S. aureus*'un vücudun diğer bölgelerine yayılması için bir hazırlık alanı sağlar; burada epiteliyal bir hasar sonucu stafilokokların dolaşım sistemine girmesiyle planktonik büyüme ve adezyon faktörlerinin yukarı regülasyonu meydana gelmektedir. Hastalık yapıcı stafilokoklar daha sonra ya konakçının doğuştan gelen bağışıklık sistemi tarafından uzaklaştırılır ya da konakçı hücre dışı matriks proteinlerine bağlanır ve bir biyofilm oluşturur (Archer ve ark., 2011). Komponent olan stafilokoklar, konakçıda kutanöz organ sistemi travması, aşılama ve cihaz implantasyonu ile konakçıya giriş sağlayabilmektedir. Konağa veya yabancı cisme yapışma yeteneklerine bağlı olarak konakçı immun sistemini baskılar ve çoğalırlar. Konakçıya zarar veren ürünler üreterek patojen bir yaşam tarzı geliştirebildikleri belirlenmiştir (Kloos ve Schleifer, 1986; Kloos ve Bannerman, 1994). Stafilokokların mukozal bariyer veya derinin herhangi bir travma ile zarar görmesi sonucu komşu dokulara ya da dolaşıma katılmasıyla enfeksiyonların meydana geldiği tespit edilmiştir (Winn ve ark., 2006). Çoğu stafilokok türü toksik şok sendromu, gıda zehirlenmesi, şiddetli invaziv enfeksiyonlar, mastitis ve yumuşak deri enfeksiyonları da dahil olmak üzere insanlarda ve hayvanlarda çeşitli hastalıklardan sorumlu oldukları bildirilmiştir (Jans ve ark., 2017).

Koagulaz oluşturup oluşturmamalarına göre *Staphylococcus* türleri koagulaz negatif stafilokok (KNS) ve koagulaz pozitif stafilokok (KPS) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Lee ve Bohach, 2004). KPS türlerinden *S. aureus* ve *S. intermedius* ayrıca KNS türlerinden *S. chromogenes* ve *S. epidermidis* önemli hastalıklara neden olmaktadır. Koagulaz pozitif ve fırsatçı bir patojen olarak karşımıza çıkan *S. aureus*; köpeklerin normal deri flora üyesini oluşturan ve suppuratif enfeksiyonlara yol açan bir tür olarak belirlenmiştir (Kloos, 1990). Ayrıca geviş getiren hayvanlarda ve atlarda mastitise;

keçilerde ve koyunlarda dermatitise, köpek ve kedilerde ise suppuratif hastalıklara sebep olabilmektedir (Rich, 2005). *S. intermedius* grubunda (SIG); *S. delphini*, *S. intermedius* ve *S. pseudintermedius* cinsleri yer almaktadır. Sağlıklı köpeklerin deri florasından ve deri enfeksiyonu bulunan köpeklerden en çok izole edilen tür *S. intermedius* olarak tespit edilmiştir (Biberstein ve ark., 1984; Ihrke, 1987). Ayrıca bu tür ön burun boşluğundan, dış kulak yolundan ve rektumdan da izole edilmektedir (Sasaki ve ark., 2005). Özellikle köpeklerdeki bakteriyel deri enfeksiyonlarının ana etkeni *S. pseudintermedius* olarak bildirilmiştir. SIG üyelerinin ilaveten otitis eksterna, sistitis, endometritis gibi irinli enfeksiyonlara neden olduğu tespit edilmiştir. Kedilerde de birçok farklı piyojenik enfeksiyonlar oluşturmaktadır. İnsanlarda ve hayvanlarda oportunist enfeksiyonlara neden olan KNS'lerden ise hayvanlarda en sık izole edilen *S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. chromogenes*, *S. lugdunensis*, *S. haemolyticus* ve *S. simulans* türleridir (Shuttleworth ve ark., 1997; Lina ve ark., 2000). Bu türlerden farklı olarak da *S. saccharolyticus*, *S. haemolyticus*, *S. cohnii* *S. simulans* ve *S. hominis*'in oportunist enfeksiyonlarının ender olarak görüldüğü tespit edilmiştir (Bilgehan, 1993).

Staphylococcus türleri patojenitelerine farklı şekillerde katkı sunan protein A, agregasyon faktörü, koagulaz, kollajen, fibrinojen, fibronektin, hemolizin, nükleaz, eksfoliyatif toksin ve enterotoksin gibi yüzeyle ilişkili faktörler, parçalayıcı enzimler ve süperantijenik toksinler üretebilmektedir (Kumar ve ark., 2010; Ote ve ark., 2011).

Ülkemizde farklı klinik olgulardan elde edilen stafilokoklarda bazı virulens ve patojenite faktörlerinin ayrı ayrı değerlendirildiği çalışmalar mevcuttur. Ancak köpeklerin burun ve kulağından izole edilen stafilokoklarda bazı virulens ve patojenite faktörlerinin önemli bir kısmının birlikte değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu bakımından literatürde var olan bu boşluğun giderilmesi hedeflenmiştir. Yapılacak bu çalışmada kapsam itibarıyla daha geniş ve karşılaştırmalı bir analiz yapılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Stafilocokların Genel Özellikleri

2.1.1. Tarihçe

Stafilokoklar ilk defa 1878’de Robert Koch tarafından keşfedilmiştir. İskoçyalı bir cerrah olan Alexander Ogston ise 1880 yılında insanlarda farklı piyojenik enfeksiyonlarda üzüm salkımı biçiminde belirlenen etkenleri, *Staphylococcus* olarak adlandırmıştır (Archer 1990). Koch ve Pasteur bu morfolojiye sahip etkenleri piyojenik enfeksiyonlarla ilişkilendirmiştir (Bergdoll, 1989).

1884 yılında stafilokokların ilk defa saf kültürleri ve tipik özellikleri üzerinde çalışmalar yapan Alman cerrah Rosenbach, katı kültürlerde sarı ve beyaz renkli üreyen iki farklı stafilokok izolatı tespit etmiştir. Beyaz renkte gözüken kolonilere *Staphylococcus (pyogenes) albus*, sarı renkte gözüken kolonilere ise *Staphylococcus (pyogenes) aureus* adını vermiştir (Kloss, 1990; Akan, 1993; Becker ve ark., 2014; Cunha, 2014). *S. albus* izolatı insanların deri örneklerinden sıklıkla izole edildiği için *S. epidermidis* olarak yeniden adlandırılmıştır (Rosenbach, 1884). *S. aureus* ile *S. epidermidis* arasındaki temel farklılık, koagulaz oluşumuna dayanmaktadır. Daha sonraki yıllarda ise üçüncü tür olan *S. saprophyticus* identifiye edilerek stafilokok cinsine dahil edilmiştir (Bergdoll, 1989; Baird-Parker, 1990).

2.1.2. Sınıflandırma

Eskiden *Micrococcus*, *Stomatococcus* ve *Planococcus* cinsleri ile birlikte *Micrococcaceae* ailesinde sınıflandırılan stafilokoklar DNA-rRNA hibridizasyonları, 16S rRNA sekansları gibi moleküler yöntemlerin gelişmesiyle hazırlanan genetik çalışmalar ve kemotaksonomik incelemeler sonucunda bu bakteri cinsinin diğer cinslerden ayrı olduğu anlaşılmıştır (Cunha, 2014). Evans 1957’de glikozu anaerobik ortamda fermente edebilme kabiliyetlerini belirlemesi ile *Staphylococcus* adı verilen farklı bir soy ortaya çıkarmıştır (Bergdoll, 1989; Baird-Parker, 1990). *Staphylococcus* cinsi son sınıflandırmaya göre *Bacilli* sınıfında, *Bacillales* takımında ve *Staphylococcaceae* familyasında bulunmaktadır (Schleifer ve ark., 2009).

Domain: *Bacteria*

Filum: *Firmicutes*

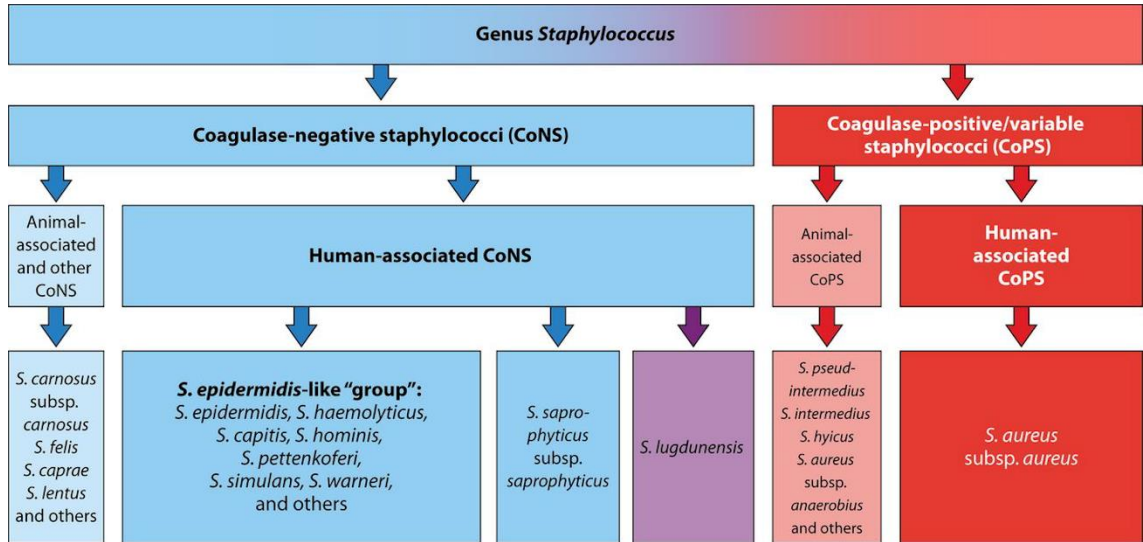
Sınıf: *Bacilli*

Takım: *Bacillales*

Familya: *Staphylococcaceae*

Cins: *Staphylococcus*

Koagulaz negatif olan *S. saprophyticus* ve *S. epidermis* ile koagulaz pozitif olan *S. aureus* 1970'lerin ilk dönemlerine dek stafilokokların üç türü olarak bilinmekteydi. Daha sonra stafilokokların kemotaksonomik ve genotipik niteliklerine bakılarak yapılan ayrıntılı çalışmalarda pek çok türü belirlenmiştir (Şekil 1) (Tille, 2014).



Şekil 1. Stafilokoklarda koagulazın ana virulens faktörü olarak sınıflandırılması (Becker ve ark., 2014)

2.1.3. Stafilokokların morfolojik ve kimyasal özellikleri

Mikroskobik özellikleri

Stafilokoklar ışık mikroskobunda 0.5-1.5 µm büyüklüğünde, Gram pozitif, flagellasız, kapsülsüz, sporsuz ve katalaz pozitif bakterilerdir. Katı kültürden hazırlanan boyalı preparatlarda kısa zincirler, tek tek, ikişer ikişer ya da dörtlü kümeler şeklinde kolonize olmuşlardır (Bilgehan, 2000). Bakterilerin boyutunda ve şeklinde görülen bu değişikliklerin konaktaki yangı hücrelerine ve bunların hidrolitik enzimlerinin yaptığı

etkiye bağılı olduğu bildirilmiştir. Kısa zincirli ve kümelenmiş olan bu mikroorganizmalara direkt yayma preparatında bakıldığında bunları mikrokok, streptokok ve peptostreptokoklardan ayırmak imkânsız olarak görülmüştür (Procop ve ark., 2017).

Üreme ve kültür özellikleri

Stafilokoklar pH 4.2-9.3 aralığında üreyebilen ancak optimum üreme koşulu pH 7.4 olan fakültatif anaerob mikroorganizmalardır (Moreillon ve ark., 2005). Kanlı agar besiyerlerinde beta hemolitik veya hemolitik olmayan koloniler oluştururlar (Tünger, 2004). Stafilokoklar 37°C'de kolayca üreyebilir ve 10-48°C aralığında toksin oluşturabilirler. Stafilokoklar %10-15 oranında tuzlu ortamlarda bile üreme yeteneğine sahiptir. Kanlı agarda daha iyi üremesine karşın triptik soy agar, brain heart infusion agar veya nutrient agar gibi pek çok besiyerinde de üreyebilirler. Kanlı agarda, 18-24 saatlik inkübasyon sonrasında 1-4 mm çapında, parlak, yuvarlak ve konveks koloniler meydana getirirler. *S. epidermidis* izolatlarının meydana getirdiği koloniler beyaz, *S. aureus* kolonileri ise altın sarısı renğinde görülmektedir. Mannitol Salt Agar (MSA)'da *S. aureus* kolonileri etrafında sarı renkli halka oluşmasıyla diğer stafilokoklardan ayrılır. Fakat diğer bazı stafilokokların da (*S. saprophyticus* gibi) MSA'da benzer şekilde koloniler meydana getirdiği görülmüştür. DNase agar besiyeri kullanılarak yapılan DNase testi, patojen stafilokok suşlarının ayırımında kullanılan özel bir testtir. Patojen stafilokoklar besiyerlerinde +4°C de 2-3 ay ve -20°C de 3-6 ay boyunca canlılıklarını koruyabilirler. Patojen stafilokok suşları kanlı agarda hemoliz ve pigment oluşturma yeteneğine sahiptir. Sıvı besiyerinde de üreme yeteneğine sahip olan etkenler bu ortamlarda pigment oluşturmazlar (Procop ve ark., 2017).

Biyokimyasal özellikler

S. aureus izolatlarını diğer stafilokoklardan ayırmak için en çok kullanılan test koagulaz testidir ve *S. aureus* izolatlarının koagulaz reaksiyonu pozitifdir. Koagulaz testi stafilokokların sentezleyip ortama bıraktıkları serbest koagulaz enziminin tespitini sağlayan tüp koagulaz testi ve clumping faktörü olarak da adlandırılan bağılı koagulazın incelendiği lam koagulaz testi olmak üzere 2 şekilde yapılmaktadır (Cengiz, 1999; Waldvogel, 2000).

Stafilokoklar fermentasyon yoluyla glukozu parçalayarak laktik asit meydana getirirler. Gaz oluşturmazlar. Laktoz, maltoz, mannoz ve süktroz gibi besinleri de fermentatif yolla parçalarlar. Sadece *S. aureus* izolatları mannitolü fermente eder. KNS'ler ise mannitol negatiftir. Mannitol fermentasyon test sonucuna göre de stafilokoklar birbirinden ayırt edilebilmektedir (Juhász-Kaszanyitzky ve ark., 2007; Morgan 2008).

Stafilokoklar katalaz enzimine sahipken, oksidaz reaksiyonları negatiftir (Akan, 2006). Spor oluşturmamalarına karşın stafilokoklar, dezenfektanlara ve dış faktörlere en çok dayanabilen mikroorganizmalardır. 60°C'lik sıcaklıkta 30 dakika boyunca canlılıklarını koruyabilirler. Yüksek orandaki tuza direnç gösterirken, %2'lik fenol uygulaması sonucunda 15 dakikada inaktif hale gelirler (Winn ve ark., 2006). Nitratları nitritlere indirgerler. Basitrasin ve lizozime dirençli olmasına rağmen furazolidon ve lizostafine karşı duyarlıdırlar. *S. aureus* izolatları kuruluğa ve ısıya karşı dayanıklıdır. İyot ve alkol gibi antiseptiklere de nispeten duyarlı olmakla birlikte kuartern amonyum klorür uygulamaları sonucunda canlılıklarını kaybederler (Bannerman 2003; Winn ve ark., 2006).

2.2. Stafilokokların Virulens ve Patojenite Faktörleri

Stafilokokların bazı immun sistem hücrelerinin mitoz bölünmesini durdurmasında, konakçının immun sistem aktivitesinden korunup canlı kalabilmesinde ve invazyonunda kapsül, slime faktör, yüzey proteinleri, enzimler, toksinler ve lökosidin gibi virulens faktörler rol oynamaktadır (Karahana 2005).

2.2.1. Kapsül

Hücre duvarının dış yapısında bulunan ve bakterinin etrafını tamamen saran polisakkarit yapısıdır. Kalınlığı genetik ve dış etmenlerle ilişkili olarak değişmektedir. Kapsülde küçük olan çoğu molekülün difüzyonu gerçekleşir. Fagositozu önler ve konakçı antikorlarının bakteriyi nötralize etmesine engel olur (Gemmell ve Lang, 2015). *S. aureus* izolatları kapsüler antijen yapısına bağlı olarak 11 serotipe ayrılır. Bu suşların geneli tip 5 ve 8 olarak belirlenmiştir (Gillaspı ve Jandolo, 2009). Tip 8'in toksik şok sendrom

toksini oluřturması ile tip 5’inde metisilin direnciyle iliřkili olduđu dűřünülmektedir (Procop ve ark., 2017).

2.2.2. Slime faktör

Christensen ve arkadaşları aracılığıyla ilk kez tanımlanmış olan bu film tabakası glikozlar, proteinler ve küçük peptidler bulunduran, zayıf bağı ve suda çözünen çok güçlü bir antijenik yapıya sahiptir. Genellikle KNS’lerde mevcuttur ve bu yapıyı stafilokoklar çeşitli oranlarda sentezlemektedir. Etkenlerin katater, doku, eklem gibi bazı organik yapılar ile plastik veya metal yapıdaki yabancı cisimlere tutunmasını sağlamaktadır (Cengiz, 1999; Murray, 2010).

KNS’lerin hücre duvarından dışarıya uzanan slime faktör %27 protein ve %40 monosakkaritlerden oluşmakta ve bakterilerin konak dokuya tutunmasını sağlayan kuvvetli bir patojenite etkeni olarak değeriendirilmektedir. KNS’lerin konakçıya tutunup çoğalmasına yardım etmesinin yanında mikroorganizmanın degranülasyon ve fagositoz gibi konakçı savunmasından korunmasını sağlamaktadır. Yine konakçı immun sisteminin oluşturduğu opsonizasyon ve kemotaksisi engeller. Ayrıca bakteride patojenik karakter oluşturmak için konakçıdaki nötrofil ve lenfosit reaksiyonlarını baskılamaktadır (Christensen ve ark., 1982; Davenport ve ark., 1986; Keane ve Taylor 1992).

2.2.3. Hücre duvarı

Gram pozitif olan ve diğeri mikroorganizmalarla homolog özellik gösteren stafilokokların hücre duvarı protein, peptidoglikan (PGN) ve teikoik asitten oluşmaktadır (Şekil 2). Aşırı elektron tabakası bulundurmayan, nispeten homojen ve kalın bir yapıya sahip olduğu belirlenmiştir (Tille, 2014). Stafilokokların hücre duvarları lizozime dayanıklı, lysostaphine ise duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 2) (Loir ve ark., 2003).

Peptidoglikan tabaka

Bu tabaka hücre duvarının kuru ağırlığının yarısını oluşturmakta ve hücre duvarının dayanıklı olmasını sağlamaktadır (Lowy, 1998; Winn ve ark., 2006). Stafilokokların bulundurduğu bu peptidoglikan tabakasının yapısı, peptitler aracılığıyla çapraz bağı glikan iplikleri bulunan heteropolimerden oluşmaktadır. Gram pozitif

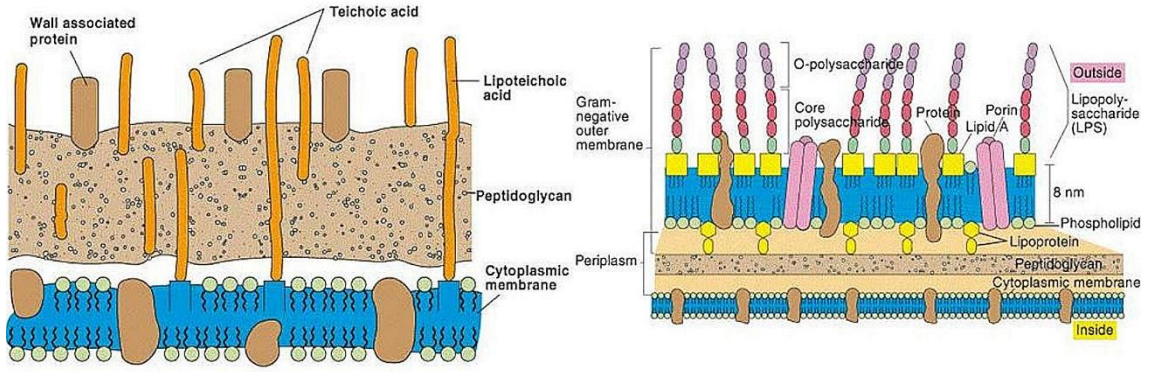
mikroorganizmalarda peptid bağının boyu normalde daha uzundur. Yaklaşık 15 yineleyen ünite bulunduran *S. aureus* en sert çapraz bağlı PGN'ye sahiptir (Snowden ve Perkins, 1990). Fazla miktarda çapraz bağın bulunması, stafilokokların hücre duvarlarına daha dayanıklı bir özellik kazandırmakta bu da bakterilerin konak hücrelerde canlılıklarını devam ettirmesine yardımcı olmaktadır (Joklik ve ark., 1992). Bu özellik sayesinde stafilokoklar immün sistemdeki savunma hücrelerinden lizozime direnç göstermektedir (Wilkinson, 1997).

Teikoik asit

Fosfodiester bağlarını içeren ribitol ünitelerinin oluşturduğu teikoik asit hücre duvarının %40'ını oluşturmaktadır. Teikoik asit suda ayrılabilen polimer bir yapıya sahiptir (Wilkinson, 1997). Hücre içi ortamda teikuronik asite dönüşebilen teikoik asit, bu değişimden sonra konakçının hücresel ve humoral bağışıklık sistemi tarafından tanınmaz (Guidry, 1985). Bu durumun polimorfnükleer lökositlerin fagositozuna karşı direnci arttırdığı bildirilmiştir (Sutra ve Poutrel, 1994; Fox ve ark., 2000). Ayrıca teikoik asit, konak dokudaki hedeflerine (kollajen, fibronektin, fibrinojen, elastin) bağlanarak bakterilerin enfeksiyon bölgesine adezyonunu sağlamaktadır (Lowy, 1998; Waldvogel, 2000).

Teikoik asit, yalnız Gram pozitiflerin hücre duvarında bulunan, antikor sentezini uyaran ve yangı hücrelerinin kemotaksisini engelleyen birkaç nitelikli virulens etkeni barındırmaktadır. Bununla birlikte otolitik enzimlerin faaliyet göstermesinde de görev almaktadır. (Wilkinson, 1997).

S. aureus iki çeşit teikoik asite sahiptir. Birincisi, stoplazma membranının yağları ile ilişki içinde olan membran teikoik asitidir. İkincisi ise PGN tabakaya kovalent bağlarla tutunmuş olan hücre duvarı teikoik asitidir. Teikoik asit yalnız başına olduğunda zayıf bir antijendir fakat PGN ile birlikte olduğunda spesifik antikor yanıtını uyatabilmektedir (Tünger, 2004; Peacock, 2006).

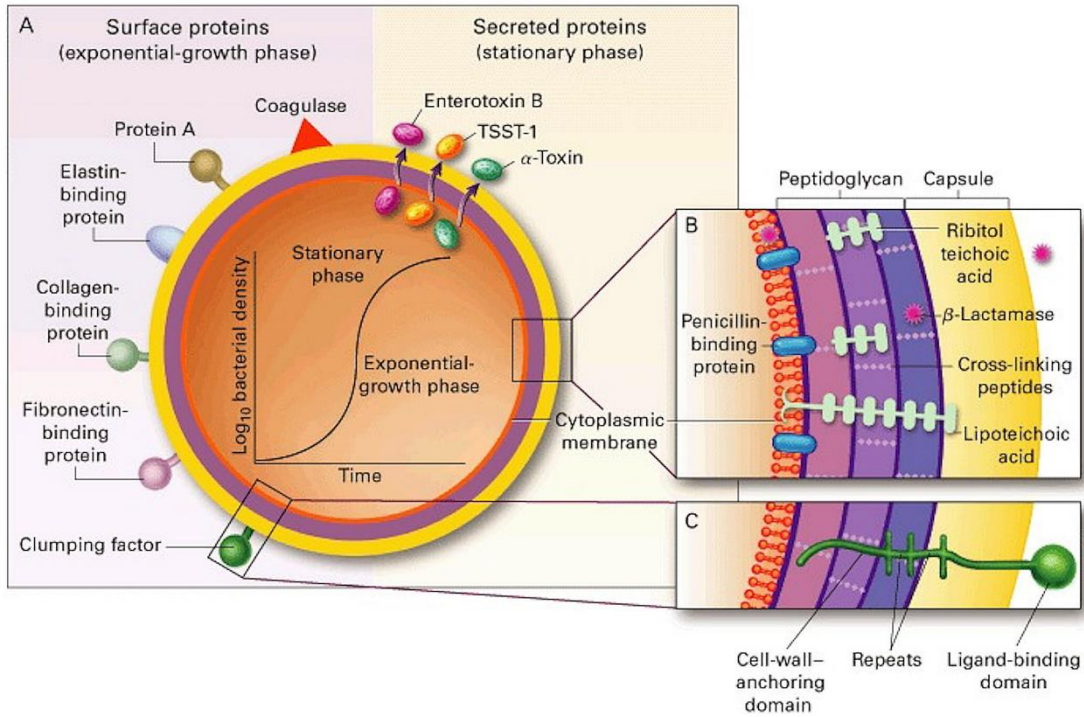


Şekil 2. Stafilokok hücre duvar yapısı (Anonim 1)

Yüzey proteinleri

Bu proteinler, stafilokokların konakçı hücrelerine tutunarak kolonize olmasını sağlayan en önemli yapılardır. Stafilokokların yüzey proteinleri; fibronektin bağlayıcı protein, kollajen bağlayıcı protein, elastin bağlayıcı protein ve protein A'dan meydana gelmektedir (Şekil 3) (Winn ve ark., 2006)

Protein A: *S. aureus* bakterisinin hücre duvarında bulunan 42 kDa ağırlığında olan ve dış çevreye de salgılanan bir yüzey molekülüdür (Forsgren ve Sjogulst, 1966). Hücre duvarının ortalama %7'sini kapsayan ve PGN tabakasının en dış katmanında bulunan önemli bir virulens etkeni olduğu belirlenmiştir. Stafilokokların üremeleri esnasında ortama salınan serbest, hücre dışına salgılanan ve peptidoglikan tabakasına kovalent bağla tutunmuş olmak üzere 3 tür protein A varlığı bilinmektedir. Bazı immunglobulinlerin (IgG1, IgG2, IgG4) Fc reseptörlerine tutunabilmesi protein A'nın en önemli özelliğidir. Bu sebeple üreme esnasında ortama salınan serbest protein A, immunglobulinlerin Fc reseptörlerine tutunarak antikorların oluşturduğu fagositozdan etkeni korumaktadır. Ekstraselüler ortama salgılanan protein A yine Fc reseptörlerine tutunarak vücut savunmasında görev alan komplement faktörlerinden bakteriyi korumaktadır. (Cengiz, 1999; Levinson ve Jawetz, 2000; Procop ve ark., 2017). Protein A antijenik bir yapı olup *S. aureus* enfeksiyonlarında antikor yanıtını başlatmaktadır (Winn ve ark., 2006). Protein A'nın varlığı *S. aureus* izolatlarında koagülasyon testi ile tespit edilmektedir. (Murray ve ark., 2002; Winn ve ark., 2006).



Şekil 3. Stafilokokların bazı virulens ve patojenite faktörleri (Lowy, 1988)

Fibronektin, kollajen ve elastin bağlayıcı proteinler: Bu proteinler stafilokokların konakçının hücre dışı matrisine adezyonunda görev almaktadır (Şekil 3) (Sutra ve Poutrel, 1994). Fibronektin bağlayıcı protein FnbpA ve FnbpB olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Bu proteine karşı meydana gelen antikorların özelliği sebebiyle insan ve hayvanlar, *S. aureus*'un yüzey proteinlerine karşı antikor meydana getirseler dahi enfeksiyonlarına karşı bağışıklık oluşturamazlar. Antikorların fibronektine bağlanmış Fnbp'ye özgül olması nedeniyle bu antikorlar stafilokokların oluşturduğu Fnbp'nin fibronektine bağlanmasına mâni olmamaktadır. (Langevelde ve ark., 1998). Fnbp'nin fibronektine bağlanması; epitelyal hücrelere, endoteliyal hücrelere ve keratinositlere bakteriyel istilayı indüklemektedir. Fnbp'lerin ayrıca biyofilm oluşumunu ve virulensi etkilediği görülmüştür (Paharik ve Horswill, 2016). Kollajen bağlayıcı protein (Cna) kollajen dokulara ve kollajen maddelere bakterinin bağlanmasına yardımcı olmaktadır. *S. aureus* izolatının in vitro ortamlarda kıkırdak dokuya bağlanması için Cna'nın olması mecburi görülmektedir. Cna'ya karşı meydana gelen antikorlar, kollajen yapıları mikroorganizmanın tutunmasına izin vermeyerek bakterinin kıkırdağa bağlanmasını da engellemektedir (Foster ve Höök 1998). Elastin bağlayıcı proteinin (Ebp) ise *S. aureus*

izolatının organellerine ve diğer yapılarına elastik özellik kazandıran önemli bir yapısal protein olduğu belirlenmiştir (Peacock, 2006).

2.2.4. Biyofilm oluşumu

Biyofilm oluşturma stafilocokların önemli bir virulens faktörüdür. Bu bakterilerin biyofilm oluşum sisteminde aktif olan pek çok molekül ve gen bulunmaktadır. Yapılan araştırmalarda, stafilocokların biyofilm oluşumunda iki önemli adım olduğu tespit edilmiştir (Perschel ve ark., 2000; Romeo, 2008). Biyofilm oluşumunun ilk adımında, yüzey proteinleri ve adezinler gibi yüzeye erken adezyondan sorumlu yapılar görev almaktadır. Bu proteinler *S. aureus* izolatında “microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules” (MSCRAMM) olarak isimlendirilen yüzey proteinlerinden oluşmaktadır (Vancraeynest ve ark., 2004). *S. epidermidis*’de bulunan protein ise önemli bir faktör olan otolizin *AtlE*’dir (Vuong ve ark., 2000; Heilmann ve ark., 2003). Bakteriler bu yüzey proteinlerinin sayesinde konak doku ligandlarına ya da yabancı moleküllerin yüzeylerine tutunabilirler (Marraffini ve ark., 2006). Yüzey proteinlerinin farklı olmasında; hücrelere bağlanma, kollajen, fibrinojen, fibronektin ve konaktaki matriks proteinleri gibi çeşitli yapılar etkili olmaktadır (Navarre ve Schneewind, 1994; McCrea ve ark., 2000). Stafilocoklar, hücre duvarındaki PGN’lere tutunan bu farklı yüzey proteinleri ile değişik dokularda biyofilm kaynaklı enfeksiyonlara yol açabilmektedir (Heilmann ve ark., 2003).

Biyofilm oluşumunun ikinci adımında ise bakteriyel hücre birikimi ile çok katmanlı biyofilm evresinin başlaması ve olgun biyofilm oluşumu meydana gelmektedir (Rachid ve ark., 2000; Atshan ve ark., 2012). Biyofilm oluşumunun ikinci adımının gerçekleşmesi için polisakkarit intersellüler adhezin (PIA) ve kapsüler polisakkarit adhezin (PS/A) olarak isimlendirilen ekstrasellüler polisakkarit üretiminin olması gerekmektedir. PIA ve PS/A’nın yapısal olarak ortak β -1-6-glukozamine sahip oldukları fakat amino grupları açısından farklılık gösterdikleri tespit edilmiştir (Pei ve Flock, 2001).

PIA, biyofilmin temel bileşenidir ve sentezi hücre agregasyonu ile biyofilmin olgunlaşması amacıyla önemlidir. PIA, *ica* (hücreler arası adezyon) gen lokusunun ürettiği, β -1,6 glukozid bağlarıyla bağlanmış, %10-20 değerinde deasetilasyona uğramış

N-asetilglukozamin artıklarının dallanmamış poli-N-asetil-beta-1-6-glukozamin (PNAG) homopolimeri bir yapıya sahiptir (Cramton ve ark., 1999; Pei ve Flock, 2001). PIA'nın hücre yüzeyine tutunmasında görev alan birçok protein de burada görev almaktadır (Gad ve ark., 2009). Bu proteinlerden bir tanesi olan *Accumulation Associated Protein (aap)*'in biyofilm oluşumunda son derece önemli olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *aap*'in, biyofilm matriksinin oluşmasında, intersellüler birikim ve bağlanmada da rol oynayan bir protein olduğu bildirilmiştir (Rohde ve ark., 2001; Vasudevan ve ark., 2003).

Bazı çalışmalarda, *ica* gen lokusunda oluşan mutasyonların *S. epidermidis* izolatlarında biyofilm oluşumunu baskıladığı ifade edilmiştir (Vuong ve ark., 2000). Stafilokoklarda *ica* vasıtasıyla biyofilm oluşumunda görev alan en etkili sistem *icaABCD* operonudur (Heilmann ve ark., 1996; Beenken ve ark., 2004). Bu mekanizma ilk olarak *S. epidermidis* suşlarında tanımlanmıştır ve daha sonra varlığı *S. aureus* dahil olmak üzere *Staphylococcus* cinsinin diğer birçok türünde de olduğu görülmüştür (Arciola ve ark., 2001). Bu operonda yer alan genlerin şifrelediği enzimler tarafından PIA ve polimerik N-asetilglukozaminden oluşan PNAG gibi extracellular adhesin polisakariti molekülleri sentezlenmektedir. Bu moleküller biyofilmin ana bileşenini oluşturmaktadır. Hücreler arası agregasyonu sağlayan PIA, stafilokokların en önemli biyofilm molekülüdür. PNAG ise biyofilm matriksinin ana bileşenlerinden birisini oluşturmaktadır (McKenney ve ark., 1998). *S. aureus* ile *S. epidermidis* izolatlarında bulunan ve bir operon olan *icaABCD* kümesi, biyofilm matrisi polisakarit poli-N-süksinil b-1 6 glukozamin (PIA-PNSG) sentezinde yer alan proteinleri kodlayarak biyofilm oluşumunun hücreler arası adezyonuna katılmasını sağlamaktadır (Cucarella ve ark., 2001). Bu operonda bulunan en önemli iki gen *icaA* ve *icaD*'dir. *icaA* geninin PIA'nın oluşumunda görev alan N-asetilglukozaminil transferaz'ın sentezinden sorumlu olduğu bilinmektedir. *icaD* geninin ise kapsüler polisakaritin oluşumundan sorumlu olan N-asetilglukozamiltransferaz'ın ekspresyonunda görev aldığı tespit edilmiştir (Arciola ve ark., 2001). *icaA* geni yalnız başına zayıf N-asetilglukozamin transferaz enzim aktivitesine sahipken *icaD* geni enzim aktivitesinde ve sentezlenen oligomerlerin miktarında apaçık bir artış sağlamıştır (Paharik ve Horswill, 2016; Moormeier ve Bayles, 2017). Ayrıca bu iki genin birlikte aktivasyonu, N-asetilglukozamini substrat gibi kullanarak şeker oligomerlerinin sentezini sağlamaktadır (Yüksekdağ ve Baltacı, 2013). *icaB* geni deasetilasyon ve sentez basamağında katalizörden sorumludur ve hücre zarında sentezlenen PIA'nın biyolojik

fonksiyon elde etmesinde etkin olduğu düşünölmektedir (Archer ve ark., 2011; Arciola ve ark., 2015;). *icaC* geni ise biyofilmde sentezlenen oligomerlerin uzatılması için deasetilasyon aşamasında görev almaktadır. Biyofilmin ana bileşeni PIA'ya karşı antikorlarla daha iyi reaksiyona girebilen daha büyük N-asetilglukosamin polimerleri üretir ve hücre duvarına taşınmasında etkili olduğu belirlenmiştir (Paharik ve Horswill, 2016; Moormeier ve Bayles, 2017). *S. aureus* izolatının çoğunda *ica* gen lokusu olduğu bildirilmiştir. *S. epidermidis*'in biyofilminde ise *ica* lokusunun klinik önemi oldukça fazladır. (Cucarella ve ark., 2001; Archer ve ark., 2011).

SarA (*Staphylococcus* yardımcı düzenleyici protein A) geni, *bap* aracılı biyofilm oluşumunda arttırıcı etki sağlayan bir regölatör olarak fonksiyon göstermektedir (Traber ve ark., 2008). *SarA* ekspresyonu, çekirdek ekspresyonunu veya proteaz aktivitesini inhibe ederek önemli bir biyofilm yapısal bileşenleri olan hücre dışı DNA ve proteinin bozulmasını önlemektedir (Archer ve ark., 2011). Özellikle metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşlarında *sarA* geninin mutasyona uğraması biyofilm oluşum kapasitesini olumsuz etkilediği belirlenmiştir (Vuong ve ark., 2000).

agr (yardımcı gen düzenleyici) geni, *S. aureus* izolatında hücre yoğunluğuna yanıt olarak virulens faktörlerinin ekspresyonunu düzenleyen iyi çalışılmış bir merkezi transkripsiyonel sistemden oluşmaktadır (Traber ve ark., 2008). Stafilokokların biyofilmden ayrılma aşamasında *agr* rol oynamaktadır (Vuong ve ark., 2000). Hem biyofilmin sentezinde hem de biyofilmden ayrılma evresinde, molekül sinyaller ya da *agr* gen lokusu tarafından sentezi ayarlanan *agrB* ve *agrD* peptidi gibi oto indükleyici peptitler (AIP) etkili rol oynar. Ayrıca fenolde eriyen modölinler (PSM) ile proteazlarında bu aşamada düzenleyici etkisi olduğu bilinmektedir (Perschel ve Otto, 2013).

2.2.5. Enzimler

Katalaz

Bakteriyel etkenlerde katalaz enziminin olup olmadığının belirlenmesi için katalaz testi uygulanmaktadır (Temiz, 2008). Bu test *Streptococcaceae* familyası içinde yer alan streptokoklar ile *Micrococcaceae* familyası içinde bulunan stafilokokları birbirinden ayırt etmek için kullanılmaktadır Streptokokların içinde bulunduğu

Streptococcaceae familyası katalaz negatifken, stafilokokların bulunduğu *Micrococcaceae* familyası ise katalaz pozitifdir (Berkiten, 2005).

Stafilokokların tümünün salgıladığı bu enzim, hidrojen peroksiti (H_2O_2) parçalayıp inaktif hale getirerek su (H_2O) ve oksijen (O_2) gibi zararsız ürünler meydana getirmektedir. Stafilokoklar bu özellikleri sayesinde fagositoz yapan hücrelerin içerisindeki oksijen radikallerine karşı direnç gösterirler ve konak immun sisteminin verdiği tepkiden kendilerini korumuş olurlar. (Bannerman, 2003; Winn ve ark., 2006; Forbes ve ark., 2007). Ayrıca nötrofiller tarafından salgılanan H_2O_2 'i $H_2O + 1/2 O_2$ ' ye yıkımlanarak nötrofillerin fagositoz yeteneğini azaltırlar (Murray ve ark., 2002; Winn ve ark., 2006).

Lipaz

Lipaz, suda ayrılmayan trigliseritleri mono ve di açilgliseritlerine, gliserin ve serbest yağ asitlerine kadar parçalayabilen enzim olarak belirlenmektedir. Bakterilerde özellikle cilt ve cilt altı lipit dokusu üzerinde etkisini göstermektedir. (Fischetti ve ark., 2006).

KNS'lerin %30'a aşkın türü ile *S. aureus* suşlarının hemen hemen hepsi lipaz enzimi sentezlemektedir (Cengiz, 1999). Vücudun lipit açısından yoğun olduğu yerlerde stafilokokların kolonize olması, yağların hidrolizi sonucu parçalanmasıyla gerçekleşir. Bu durum bilhassa stafilokokların yüzeysel cilt ve cilt altı enfeksiyonlarında görülmektedir (Tünger ve ark., 2005).

Koagulaz

Gram pozitif kok morfolojisindeki bir bakterinin *S. aureus* olarak identifikasyonu için en kolay yapılabilecek deney koagulaz enzimi oluşturduğunu saptamaktır. Birçok *S. intermedius* suşları ve bazı *S. hyicus* alt türleri de koagulaz enzimi oluşturabilmektedir. Koagulaz enziminin virulensi diğer enzim ve toksinlerden daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Koagulazın meydana gelmesi patojenite ile paralellik gösteren bir durumdur ve koagulaz testi de pratikte patojenitenin bir işareti olarak kabul edilmektedir. Koagulaz enzimi aslında bir proenzimdir ve daha doğru olarak prokoagulaz olarak adlandırılmalıdır. Bu enzimin etkisini göstermesi için trombini andıran ve bütün

hayvanların plazmasında olmayan bir faktöre (CRF= coagulase-reacting factor) gereksinim duyulmaktadır (Joklik ve ark., 1984; Freeman, 1985). Koagulazın, bu plazma faktörü ile birleştiğinde aktif hale geçerek fibrinojenin trombinle katalize olup fibrin oluşmasına benzer bir mekanizma ile plazmayı pıhtılaştırdığı görülmüştür (Joklik ve ark., 1984). Ayrıca aktif hale geçen bu bileşik (CT= coagulase-trombin ürünü) proteolitik ve esterolitik aktiviteye de sahiptir (Kloos ve Jorgensen, 1985).

Stafilokoklarda koagulaz enziminin varlığı tüp ve lam koagulaz testi yapılarak belirlenmektedir. Tüp koagulaz testinde serbest koagulaz, lam koagulaz testinde ise bağlı koagulazın (clumping factor) varlığı aranmaktadır (Akan, 2006). Stafilokokların hücre zarına bağlı koagulaz, direkt fibrinojeni fibrine dönüştürebilir ve stafilokoklarda kümelenmeye neden olur. Serbest koagulaz ise bir plazma globulin faktörü (CRF) ile tepkimeye girerek bir trombin benzeri faktör (staphylothrombin) meydana getirmektedir. Staphylothrombin fibrinojeni fibrine dönüşümünü sağlayarak bağlı koagulazla benzer sonuçlar oluşturur (Murray ve ark., 2005).

Koagulaz stafilokoksik apsenin çevresinde bir fibrin tabakasının meydana gelmesini sağlamaktadır. Bu fibrin tabakası koagulaz pozitif stafilokokların üstünde oluşmaktadır. Stafilokokları fagositozdan, immun sistemin diğer humoral ve hücrel savunma sistemlerinden koruyarak patojeniteyi arttırdığı tespit edilmiştir. Bu yüzden koagulaz, *S. aureus* için önemli bir virulens faktör olmuştur (Bannerman, 2003; Winn ve ark., 2006; Forbes ve ark., 2007).

Termonükleaz (TNaz)

Stafilokokal nükleaz, fosfodiesteraz yapısında, endo ve ekzonükleolitik nitelikleri olan bir enzimdir. Konakçı hücrelerin DNA ve RNA'sını hidrolize edebilmektedir (Halpin-Donahue ve Marth, 1989; Sardel ve McKillip, 2004). Sert sıcaklık koşullarında stafilokokların özellikle de *S. aureus*'un canlı kaldığı görülmüştür. Bunun nedeni, *nuc* geni tarafından kodlanan *TNaz*'ın üretilmesidir (Kulkarni ve Barve, 1983). Bu enzim KPS'lerin %98-100'ü tarafından üretilir ve 30 dk kaynatılmaya direnç gösterirler. *S. intermedius*, *S. aureus subsp anaerobius*, *S. simulans*, *S. schleiferi subsp coagulans*, *S. xyloso*, *S. capitis*, *S. hyicus* tarafından oluşturulurlar (Anonim 2).

S. aureus 'un identifikasyonu için TNaz üretimi belirleyici bir özelliktir. TNaz etkinliğinin belirlenmesi için, toluidin mavili deoksiribonükleik asit agar tekniği gibi basit ve hızlı bir yöntem uygulanmaktadır. Bu teknikle ısıya dirençli nükleaz enzimi duyarlı bir şekilde saptanmaktadır (Lachica, 1971; Barry ve ark., 1973; Cords ve Tatini, 1973; Boothby, 1979).

Hyaluronidaz

Birçok memeli dokusunda hücreler arası madde, doku çimentosu görevini yapan ve asetilglukozamin ile glukuronik asitten oluşan mukopolisakkarid bir enzimdir. *S. aureus* suşlarının %90'dan fazlası hyaluronidaz meydana getirirler. Bu enzimi oluşturmayan ya da az oluşturan suşlara karşılık, oluşturan suşların invazif kabiliyeti çok daha fazladır. Hyaluronidaz plazmadaki anti-invazin I enzimi ile tahrip olmaktadır. Buna karşılık bakteriler bu enzimi tahrip eden pro-invazin I denilen bir başka enzim, konak da bu bakteri enzimini tahrip eden anti-invazin II denilen bir başka enzim oluşturur. Bu durum bakterinin invazyonunun bakteri ve konağa ait çeşitli faktörler tarafından belirlendiğini göstermektedir (Freeman, 1985).

Hyaluronidaz bağ dokusunun yapısındaki hyaluronik asidin depolimerizasyonunu sağlayıp dokunun permeabilitesini arttırarak stafilokokların doku içerisine yayılmasına olanak sağlamaktadır. Yayılma faktörü olarak da tanınan bu enzim antijenik karaktere sahiptir bu yüzden özgül antikorları ile nötralize olur (Çalık, 1998; Arvidson, 2000).

Deoksiribonükleaz (DNaz)

DNaz nükleik asitleri 3'-fosfomononükleotidlere parçalayan endo ve ekzonükleaz etkinliğine sahip fosfodiesterazlardır. Isıya dirençli bir enzimdir (Winn ve ark., 2006). DNaz *S. aureus*ların %90'dan fazlasında bulunduğundan dolayı DNaz testi, *S. aureus* suşlarının diğer stafilokok suşlarından ayrımı için kullanılmaktadır. Çoğu *S. aureus*, *S. schleiferi* ve *S. intermedius* suşları DNaz enzimi meydana getirirken, daha yetersiz DNaz aktive yeteneğine sahip suşlar *S. epidermidis*, *S. simulans*, *S. carnosus* bakterilerinden oluşmaktadır (Bannerman, 2003; Forbes, 2007).

Beta laktamaz (penisilinaz)

β laktam grubu antibiyotiklere stafilokoklar, beta laktamaz enzimi oluşturarak direnç göstermektedir. 1941'de penisilinler ilk kez kullanılmaya başlandığı zaman stafilokokların çoğu penisiline duyarlı idi ama son zamanlarda stafilokokların oluşturduğu bu enzimden dolayı %90'dan fazla bir direnç meydana geldiği görülmüştür. *S. aureus* izolatının en az üç çeşit penisilinaz enzimi oluşturduğu yapılan çalışmalarda belirlenmiştir (Winn ve ark., 2006). Plazmidler tarafından kodlanan beta laktamaz enzimi stafilokokların suşları arasında direncin çabucak oluşmasına sebep olmuştur. Oranları %80-90 arasında olan beta laktamaz salgılayan stafilokoklar ülkemizde oldukça yaygın bulunmaktadır (Livermore, 1995). Ayrıca aşırı miktarda beta-laktamaz üretimi borderline metisilin dirençliliğine de yol açmaktadır (Chambers, 1997).

1950'li yıllarda penisiline dirençli stafilokokların tedavisi için metisilinin kullanımına başlanmış ve 1961 yılında ilk MRSA (Metisiline dirençli *S. aureus*) izolasyonu bildirilmiştir. MRSA nozokomiyal enfeksiyonların önemli bir nedenidir ve hızla artan bir biçimde hem insan hem de hayvan sağlığını etkilemeyi sürdürmektedir. Bakterinin hücre çeperinde bulunan ve penisiline düşük oranda yatkınlığı bulunan 78 kDa ağırlıktaki modifiye Penisilin-Bağlayan Proteine (PBP2a) bağlı olarak metisilin direnci oluşmaktadır. Bu protein de kromozom üzerinde olan ve mecA olarak adlandırılan bir gen aracılığıyla kodlanmaktadır (Duquette ve Nuttall, 2004; van Duijkeren ve ark., 2004; Kwon ve ark., 2006; Morgan, 2008; Epstein ve ark., 2009).

Stafilokinaz (Fibrinolizin)

Stafilokinaz, fibrinolizin ve fibrin pıhtılarına zarar verip enfeksiyonun komşu dokulara yayılmasına yardım etmektedir (Cengiz, 1999). Bu enzim *S. aureus* izolatlarının neredeyse tamamı tarafından yapılmaktadır. Normalde pıhtının erimesi sırasında endotelial hücreler, doku plazminojen aktivatör (tPA) adlı bir protein salgılamaktadır. tPA plazminojenle etkileşime girerek fibrin ağını parçalayan plazmin adlı yapı oluşur ve pıhtı bozulur. Kanda serbest kalan plazmin hızla parçalanır. Fibrinolizin de plazminojeni aktive eder. Fibrinolizin aktivitesi yalnızca pıhtıyı bozmaz aynı zamanda hücrelerle beraber yapılan fibrin iplikçiklerini ve ekstraselüler matriksi de bozar. Böylelikle bakteri doku boyunca hareket eder (Winn ve ark., 2006).

Proteaz

Bu enzim, proteinleri peptid bağlarına veya serbest amino asitlerine kadar yıkımlamaktadır (Rao ve ark., 1998). Stafilokokların başlıca ana türü olan *S. aureus* izolatının farklı hücre dışı proteaz enzimlerini (metallo-, serin ve sistein proteaz) ürettiği görülmüştür (Maeda ve Yamamoto, 1996). Bu proteazlar konağın savunmasının bozulmasına ve dokulara yayılmasında etkili olmaktadır. Serin proteaz bunlara örnektir ve IgG tarafından bağlandığı bildirilmiştir. Proteazlar konak proteinlerini parçalayarak yaygın doku harabiyetine neden olmaktadır. Bunun yanında mikrobiyal üreme için gerekli besinlerin elde edilmesini sağlamaktadır. Proteaz salınımı yüzeysel stafilokok enfeksiyonlarının şiddetine de katkıda bulunmaktadır (Archer, 1998; Dubin, 2002).

Üreaz

Protein metabolizmasında ve üre döngüsünde görev alan bu enzim üreyi yıkımlayarak NH_3 ve CO_2 meydana getirmektedir. Amonyak hücrelere zarar verir hatta stafilokoklar için de aşırı amonyak toksik etki oluşturabilir. Metabolizma sonrasında görülen formik asit ve laktik asit pH'ın düşmesine yol açmaktadır. Biyofilm oluşturan stafilokoklar da bu düşük pH'tan kendilerini üreaz genlerinin op-regülasyonu ile muhafaza ederler. Yapılan çalışmalarda biyofilm oluşumunun devamlılığında üreaz aktivitesinin gerekli olduğu görülmüştür (Resch ve ark., 2005).

2.2.6. Toksinler

Alfa toksin (α -hemolizin)

Alfa toksin hem kromozom hem de plazmitte bulunabilen 33 kDa ağırlığındaki gen tarafından kodlanan hayvan ve insanlarda hastalık meydana getiren *S. aureus* izolatları tarafından sentezlenen polipeptit yapıda bir toksindir (Murray ve ark., 2002). Alfa toksin lökosit, eritrosit ve trombositleri de kapsayan çeşitli hücrelerin zarını yıkımlayarak etkilerini göstermektedirler. Alfa toksin hemolizisine karşı tavşan eritrositleri son derece duyarlıdır ancak insan eritrositlerine karşı fazla etkisi bulunmamaktadır. Bu toksinin *S. aureus* 'un karakterizasyonu için oldukça önemli olduğu görülmüştür. Alfa toksininden tavşanlara damar içi 1 μg verildiğinde öldürücü bir etki yaratmaktadır (Bilgehan, 2000). Gray ve Kehoe tarafından 1984 yılında ilk defa alfa toksinini kodlayan genin (*hla*), *S.*

aureus kromozomundan klonlanması ve gen incelemesi yapılmıştır. Alfa toksinin en önemli özelliği eritrositleri parçalama kabiliyetidir. Hücre zarında porlar açarak Na ve Ca iyonlarının intraselüler, K ve diğer küçük moleküllerin ise ekstraselüler ortama girmesine sebep olmaktadır. Böylece hücrede ozmotik değişiklik meydana gelir ve hücre lize olur (Dinges ve ark., 2000; Menestrina ve ark., 2001; Berube ve Wardenburg, 2013). Yapılan araştırmalar sonucunda birtakım suşların *hla* geni taşıdıkları halde alfa toksin oluşturamadıkları görülmüştür (Müştak ve Esendal, 2008). *S. aureus* patogeneğinde rol oynayan ve virulens faktörü olarak belirleyici olan alfa hemolizin, ciddi cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, pnömoni ve sepsis gibi hastalıklara neden olmaktadır (Tavares ve ark., 2014).

Beta toksin (β -hemolizin)

Glenny ve Stevens tarafından ilk kez 1935 yılında tanımlanmış beta toksin "sfingomiyelinaz C" olarak da bilinmektedir (Glenny ve Stevens, 1935). Beta hemolizin geni (*hly*) 330 aminoasitlik polipeptiti kodlamakta ve 4-kbClaI DNA parçasında bölgesel olarak bulunmaktadır. (Müştak ve Esendal, 2008). Hemoliz için magnezyum iyonları gerekir, substrat özgüllüğü lizofosfatidilkolin ve sfingomyelinle sınırlıdır (Murray ve ark., 2002; Winn ve ark., 2006). Hücre zarında bulunan sfingomyelin ile lökosit, eritrosit ve fibroblast gibi hücrelere etki eden bir hemolizindir. β -hemolizin, eritrositler ile 37°C'de koyun kanlı agarda etkileşime girer fakat onları kesin olarak parçalayamamaktadır. Daha sonra agarlar 4°C'ye konup inkübe edildiğinde ise hemoliz arttığından lizis tam olarak gerçekleşmektedir. Bu sebeple β -toksin "sıcak-soğuk toksin" olarak da isimlendirilmektedir. Bununla birlikte tanısal mikrobiyolojide kimi bakterilerin hemolitik aktivitelerinin tespit edildiği CAMP testinde de β -toksin kullanılmaktadır (Dinges ve ark., 2000; Huseby ve ark., 2007). Alfa hemolizin ve beta hemolizinin birlikte stafilokoksik enfeksiyonlarda özgün olan doku hasarı ve apse oluşumundan yükümlü olduğu düşünülmektedir (Bannerman, 2003; Forbes, 2007).

Gama toksin (γ - hemolizin)

Gama toksini 1938'de Smith ve Price tarafından keşfedilmiştir (Cengiz, 1999). Molekül ağırlığı 32 kDa olan bu toksin birçok *S. aureus* suşu tarafından sentezlenmektedir. Toksin hemolitik ve lökotosik aktiviteye sahip olmakla birlikte

nötrofil ve makrofajları etkilemektedir. Ayrıca birçok memeli eritrositlerini de hemoliz etmektedir. Agarın toksin üzerindeki inhibisyon etkisinden dolayı, kanlı agarda hemolizi belirlenememiştir (Dinges ve ark., 2000; Huseby ve ark., 2007). Stafilocokların oluşturduğu kemik enfeksiyonlarında ve kanda bu toksine karşı antikor seviyesinin yüksek olması gama toksinin bu enfeksiyonlarda etkili olduğunu düşündürmektedir (Bilgehan, 2005).

Delta toksin (δ-hemolizin)

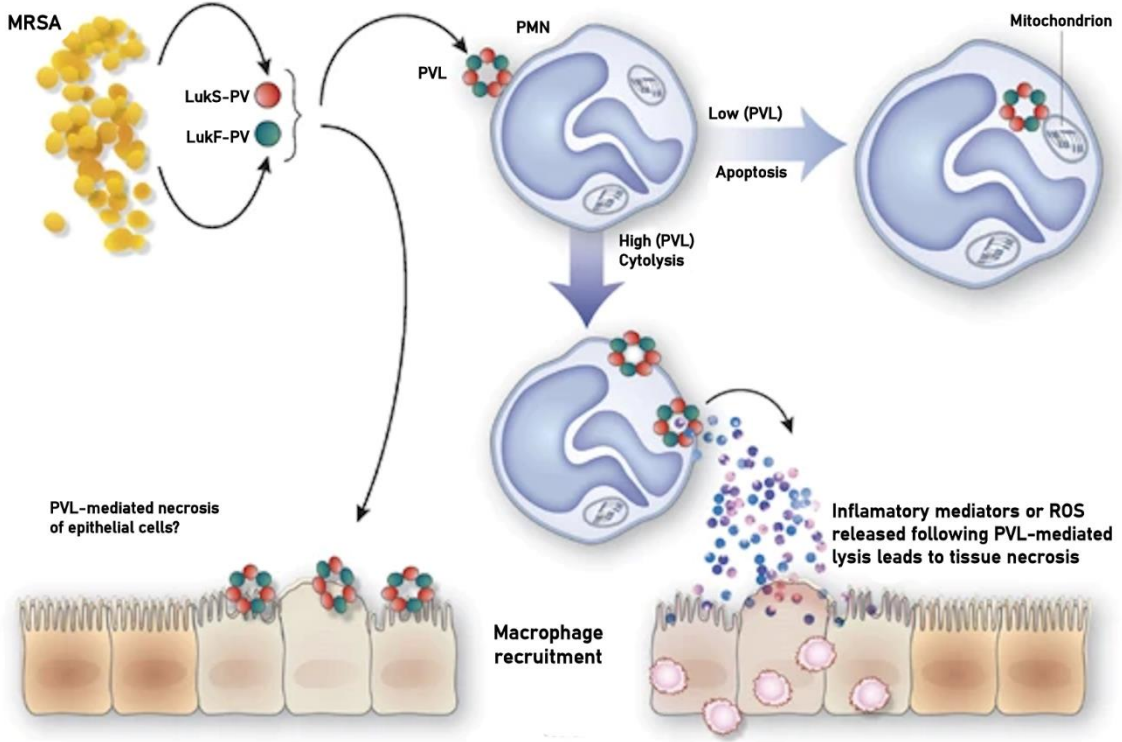
Delta toksin 3 kDa ağırlığında olan ve bazı stafilocoklar ile çoğu *S. aureus* suşları tarafından oluşturulan polipeptit yapılı bir toksindir (Cengiz, 2004; Murray ve ark., 2010). Lenfosit, eritrosit ve makrofaj gibi hücrelere etki edip bunlar üzerine yıkıcı bir reaksiyon gerçekleştirmektedir. Ek olarak ileumda su emilimini de engellemektedir (Dinges ve ark., 2000; Bilgehan, 2005). *S. aureus* suşlarının %97'sinin, KNS suşlarının ise %50-70'inde bulunduğu tespit edilmiştir. Geniş spektrumlu bir sitolitik aktiviteye sahiptir. Toksin sürfaktana benzer etkiyle deterjan gibi davranarak hücre membranları üzerine toksik etki göstermektedir (Murray ve ark., 2016; Procop ve ark., 2017).

S. aureus delta hemolizin familyasından phenol-soluble modulins (PSM) adı verilen elemanın stafilocok patogenezinde birkaç fonksiyonu olduğu görülmüştür. PSM'lerin bazıları özgün olmayan hücreleri parçalayan bir aktiviteye sahiptir. Patojen özellik bulunmayan stafilocoklarda da PSM oluşmada *S. aureus*'ta fazla miktarda PSM oluşmaktadır. Son zamanlarda *S. aureus* PSM'lerin fagositozdan sonra nötrofil lizisi yaptığı keşfedilmiştir. Ayrıca son çalışmalar gösteriyor ki *S. aureus*'un oluşturduğu delta hemolizin mast hücre degranülasyonuna neden olarak atopik dermatit oluşumuna yol açmaktadır. Sadece delta hemolizinde bu fenotip bulunmaktadır. PSM'lerde böyle bir özellik görülmemektedir. Patogeneizde farklı fonksiyonları yapmak için PSM'ler evrimleşmektedir (Otto, 2014).

Panton-valentine lökositidin

Van deVelde ilk defa 1984'te PVL'i "substance leukocidine" (lökositleri öldüren cisim) olarak belirtirken, Panton ve Valentine isimli bilimciler 1932 yılında bu lökositidini cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları ile ilişkili olduğunu söylemişlerdir (Boyle-Vavra ve

Daum, 2007). PVL, doku nekrozuna ve lökosit yıkımına yol açan bir sitotoksindir ve *S. aureus* suşlarının %5'inden daha azı tarafından üretilmektedir. Bu lökositinin asıl olarak mukoza ya da deriyi kapsayan nekrotik lezyonlarla bağlantılı olduğu tespit edilmiştir (Lina ve ark., 1999).



Şekil 4. PVL ile oluşan doku nekrozu (Boyle-Vavra ve Daum, 2007).

PVL, birlikte etki gösteren iki tane proteinden meydana gelen bir toksindir. PVL'nin yapısında bulunan bu proteinlerin elektroforezde, yavaş olanına S (Slow) hızlı olanına F (Fast) denilmiştir. İki protein de antijenik özellik göstermektedir. F komponent immun yanıtı S komponentine göre daha düşük uyarmaktadır. F ve S proteinleri, *lukF-PV* ve *lukS-PV* denilen iki gen aracılığıyla kodlanmaktadır (Prevost ve ark., 2001). *S. aureus*'un oluşturduğu PVL proteinlerinin ekstraselüler ortama verilmesini takiben, polimorfonükleer (PMN) lökosit üzerine etki göstermeden evvel yedili bir yapı meydana gelmektedir. F ve S proteinleri, konak savunma hücrelerinin ve eritrositlerin membranlarında por meydana getirerek bu proteinlerin parçalanmasına yol açmaktadır. Lökositlerin lizis olmasıyla oluşan granüller ve oksijenin doku nekrozuna neden olduğu bildirilmiştir (Şekil 4) (Jung ve ark., 2008).

Bazı *S. aureus* suşlarında, TK-MRSA izolatlarının nekrotizan pnömoni ile şiddetli cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarının PVL ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. TK-MRSA suşları ve PVL genlerinin birbirleriyle epidemiyolojik açıdan bağlantısı bulunmaktadır. Ayrıca PVL-MRSA suşları genellikle belirli bir bölgede farklı hücrelerden türemiştir. TK-MRSA suşları PVL genlerinin yaygınlaşmasına neden olmakta ve dünyada PVL pozitif suşlara sahip olan *S. aureus* enfeksiyonlarının miktarı artmaktadır (Morgan, 2005).

Eksfoliyatif toksin

Epidermolitik ve protein yapılı bir toksindir. Stafilokoklarda veziküler ve eksfoliyatif deri lezyonlarının oluşmasına neden olmaktadır. 24 kDa moleküler ağırlığında ve immunolojik etkileri farklı olan bu toksin, sahip olduğu preteolitik fonksiyonlar nedeniyle epidermisin mukopolisakkarit matriksini parçalamaktadır (Peacock, 2006). Eksfoliyatif toksin A ve eksfoliyatif toksin B olmak üzere iki proteinden oluşmaktadır. Eksfoliyatif toksin A'nın kromozomal kökenli ve ısıya dayanıklı olduğu görülmüştür. Eksfoliyatif toksin B ise buna zıt olarak plazmid kökenli ve ısıya duyarlı bir proteindir. İmmunolojik ve biyokimyasal olarak iki toksin de birbirinden farklıdır. Her iki toksininde ortak özellikleri proteolitik (serin proteazlar) aktiviteye sahip olmaları ve süperantijen özellik taşımalarıdır. Tek başlarına olduklarında da hastalık oluşturabilmektedirler (Tünger, 2004; Winn ve ark., 2006). Bu iki toksinde epidermisteki stratum granulosum tabakasını oluşturan hücrelerin interselüler bağlarının kopmasına ve stratum granulosum'un ayrılmasına neden olurlar (Takagi ve ark., 1990). Bu da soyulmuş (haşlanmış) deri lezyonlarına (staphylococcal skin syndrome) yol açmaktadır (Peacock, 2006). Epidermisin toksine maruz kalmasından sonra koruyucu nötralizan antikorlar gelişmektedir (Tünger, 2004).

Toksik şok sendromu toksini-1 (TSST-1)

Isı ve proteolize dirençli olan tsst-1 önceleri pirojenik enterotoksin C ve enterotoksin F olarak bilinen bir ekzotoksindir (Brook ve ark., 1991). 1980'lerin başlarında belirlenmiş olan bu toksin hipotansiyon, ateş, deride kaşıntı ve dökülmelerin etkeni olup ameliyat sonrası yaralarda da tespit edilmiştir. Enterotoksinler gibi süperantijen olarak da etki gösterdiği bildirilmiştir (Ljungh, 1998; Nizet ve Bradley, 2011; Que ve Moreillon, 2015). Sistemik olarak salınan bu toksin T lenfosit

proliferasyonu ve monositlerden IL-1 salınımını uyarmaktadır. *S. aureus* suşlarında %5-25'i arasında *tsst-1* geni bulunduğu tespit edilmiştir. Son zamanlarda yapılan araştırmalarda KNS'lerin de toksik şok sendromu oluşturduğu bildirilmiştir (Dinges ve ark., 2000; Moreillon ve ark., 2005; Winn ve ark., 2006).

Enterotoksin

Enterotoksinler, Barber'ın stafilokok kaynaklı mastitisli bir ineğin sütünü içmesiyle ilk defa 1914'te ortaya çıkan, mide bulantısı belirtisi gösteren akut gastrointestinal enfeksiyon oluşumuyla fark edilmiş fakat Duck tarafından 1930'lu yıllarda kanıtlanana dek ne olduğu kesin olarak belirlenememiştir. Enterotoksinler gerçekte ekzotoksin özelliğindedir ve sindirim sistemini etkilediklerinden dolayı bu ismi almışlardır (Halpindohnalek ve Marth, 1989). Bağırsaklarda bulunan enzimler sayesinde hidrolize fazlasıyla direnç göstermektedirler. Gıda zehirlenmesine sebep olurlar. Enterotoksinler suşa has olmanın yanında, bir suş birden çok toksin oluşturabilmektedir (Berkiten, 2005; Winn ve ark., 2006). Yakın zamanda klasik 5 SE tipine (SEA, SEB, SEC, SED ve SEE) ek olarak 15 yeni SE (SEG, SEH, SEI, SEJ, SER, SES ve SET) ve SEI (SEIK, SEIL, SEIM, SEIN, SEIO, SEIP, SEIU ve SEIQ) bildirilmiştir (Zschöck ve ark., 2005; Ono ve ark., 2008; Wang ve ark., 2009). SE'ler nonspesifik olarak yardımcı T lenfositlerinden aşırı sitokin sentezine neden olması nedeniyle süperantijenik etkileri bulunmaktadır. SEA ve SED gıda zehirlenmesi olgularında sıklıkla karşılaşılan enterotoksinlerdir (Moreillon ve ark., 2005; Winn ve ark., 2006). *S. intermedius*, *S. hyicus* gibi bazı koagülaz pozitif stafilokok türleri ve *S. epidermis* gibi bazı koagülaz negatif stafilokok türlerinin enterotoksin oluşturduğu bildirilmiştir (Küplülü ve ark., 2002; Sutherland ve ark., 2002).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Sıvı örnekleri

Bu çalışmada, Van Büyükşehir Belediyesi'nden alınan resmi izinler doğrultusunda Ocak 2022 - Mart 2022 tarihleri arasında Van Büyükşehir Belediyesi Hayvan Bakım ve Rehabilitasyon Merkezi'ne kısırlaştırma operasyonu yapılmak üzere getirilen farklı cins, ırk ve yaştaki 95 adet sokak köpeği örnek grubunu oluşturdu. Anestezi altındaki köpeklerin 40'ından burun ve diğer 55'inden ise kulak sıvı örneği usulüne uygun olarak alındı. Örnekler içerisinde Stuart Transport Medium bulunan tüplere konularak bakteriyolojik analiz için kısa süre içerisinde Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına getirildi.

3.1.2. Referans suşlar

Çalışmada pozitif kontrol amacıyla Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan *S. aureus* ATCC-29212 referans suşu kullanıldı.

3.1.3. Besiyerleri

Alınan burun ve kulak sıvı örneklerinden *Staphylococcus spp.* izolasyonu, ön identifikasyon ve biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla Blood Agar Base (Oxoid- CM0055), Brain Heart Infusion Broth (Oxoid-CM1135), Mannitol Salt Agar (BD-BBL211407) ve Tryptic Soy Broth (Oxoid-CM0129), besi yerleri kullanıldı. Besiyerleri üretici firma önerileri doğrultusunda hazırlandı ve otoklavda steril edildikten sonra kullanıldı.

3.1.4. Çözelti ve ayıraçlar

Fizyolojik tuzlu su (FTS): 8.76 gr Sodium chloride (NaCl), 1 lt distile su içinde çözdürüldü (Lenette ve ark., 1985).

Katalaz test reagent: İzole edilen suşların katalaz reaksiyonlarının belirlenmesinde %3'lük hidrojenperoksit (H₂O₂) kullanıldı (Procop ve ark. 2017).

TAE buffer: PCR işlemi sonunda elde edilen ampliconların jel elektroforezinde TAE (Tris-Acetate-EDTA) buffer (Bioshop, TAE 222) kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. İzolasyon ve ön identifikasyon

Burun ve kulak sıvı örnekleri, Stuart Transport Medium'dan çıkarılıp içinde 1.5 ml steril BHI bulunan tüplere aktarıldı ve vorteksle iyice homojenize edilerek bakterilerin sıvı faza geçişi sağlandı. Daha sonra süspansiyon 2 ml'lik eppendorf tüplere aktarıldı. Eppendorf tüpler inceleninceye kadar -20°C'de saklandı. Örneklerden *Staphylococcus spp.* izolasyonu için süspansiyondan 0.1 ml alınarak %5-7 koyun kanlı agara çizme yöntemiyle ekim yapıldı ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda ön identifikasyon amacıyla besiyerinde şekillenen kolonilerin yapısı ve hemolitik özellikleri dikkate alınarak saf kültürler elde edildi. Saf kültürlerle Gram boyama, katalaz testi ve koagülaz testi uygulandı. Gram pozitif, katalaz pozitif, koagülaz pozitif ve / veya negatif olan kok morfolojisine sahip olan isolatlar *Staphylococcus spp.* olarak kabul edildi. (Procop ve ark., 2017).

3.2.2. İdentifikasyon

Staphylococcus spp. isolatlarının tür düzeyinde identifikasyonu BD Phoenix otomatize bakteri tanımlama cihazı ile yapıldı. Bu amaçla BD Phoenix™ PMIC/D-87 Gram pozitif paneli kullanıldı.

Testin uygulanması ve değerlendirilmesi üretici firmanın protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi. İncelenen saf kültürlerden alınan bakteri kolonileri önce ID Broth'da süspanse edilerek yoğunluk Mac Farland 0.5'e ayarlandı. AST Broth'a 1 damla indikatör çözeltisi döküldü. Bunun üzerine ID Broth süspansiyonundan 20 µl aktarıldı. Daha sonra hazırlanan ID Broth ve AST Broth süspansiyonları panele dökülerek otomatize sisteme yerleştirildi ve cihazın identifikasyon işlemi tamamlaması beklendi.

İzole edilen stafilokok türlerinde bazı virulens ve patojenite ile ilişkili genlerin varlığı, PCR tekniği uygulanarak belirlenmek üzere Tryptic Soy Agara pasajları yapılarak +4°C’ de muhafaza edildi.



Şekil 5. BD Phoenix™ PMIC/D-87 Gram pozitif paneli

3.2.3. Virulens faktörlerinin moleküler analizi

DNA izolasyonu

İzolatlardan bakteriyel DNA izolasyonu için kaynatma yöntemi kullanıldı. Bu amaçla taze kültürden alınan birkaç bakteri kolonisi 1 ml’lik FTS’ de McFarland 0.5’e ayarlandı. 10.000 x g’de 5 dk santrifüj edildi ve supernatant atıldı. Bunun üzerine 200 µl PCR suyu eklenerek homonijasyon sağlandı. Daha sonra bu süspansiyon çalkalamalı kuru banyo cihazında (Euroclone, EMS100) 100 °C’de 10 dk süreyle kaynatıldı. Bakteri süspansiyonu 10000 x g’de 5 dk santrifüj edildi üstte kalan sıvı alınarak PCR amplifikasyonunda hedef DNA olarak kullanılmak amacı ile - 20°C’de saklandı (Ewers ve ark., 2006).

PCR analizi

İzolatlarda virulens ile ilişkili genlerin varlığının belirlenmesinde gen spesifik oligonükleotid dizileri kullanılarak PCR yapıldı (Tablo 1).

Olgo dizisi

Stafilokok izolatlarında varlığı belirlenecek olan virulens ve patojenite ile ilişkili genlerin tespiti için konu ile ilgili daha önce yapılan çalışmalarda (Smeltzer ve ark. 1993; Lina ve ark. 1999; Frebourg ve ark. 2000; Booth ve ark. 2001; Kim ve ark. 2001; Yamaguchi ve ark. 2002; Saïd-Salim ve ark. 2003; Vandecasteele ve ark. 2003) kullanılan oligonükleotid dizileri tespit edilerek GenBank veritabanı ile doğrulanıp sentezletirildi.

Tablo 1. Stafilokok izolatlarında incelenen virulens ve patojenite faktörlerinin oligonükleotid dizileri

Genler	Oligonükleotid Dizisi	Boyut (bp)	Kaynaklar
Virulens Regülatörleri	<i>agrA</i> F: CAACAACGAAACATGGTGCT R: TGTCAATCGAAAATGGTTACTTTG	923	Frebourg ve ark. (2000)
	<i>sarA</i> F: TGGTCACTTATGCTGACAGATT R: TTTGCTTCTGTGATACGGTTG	313	
Metisilin Direnci	<i>mecA</i> F: GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA R: CCAATTCCACATTGTTTCGGTCTAA	310	Frebourg ve ark. (2000)
Biyofilm Hidrofobik yüzeylere yapışma Faktörleri	<i>AtlE</i> F: CAACTGCTCAACCGAGAACA R: TTTGTAGATGTTGTGCCCA	682	Frebourg ve ark. (2000)
	<i>icaAB</i> F: TTATCAATGCCGCAGTTGTC R: GTTTAACGCGAGTGCGCTAT	546	Frebourg ve ark. (2000)
	<i>aap</i> F: ATACAACTGGTGCAGATGGTTG R: GTAGCCGTCCAAGTTTTACCAG	399	Vandecasteele ve ark. (2003)
Eksfoliyatif toksin	<i>eta</i> F-CTATTTACTGTAGGAGCTAG R-ATTTATTTGATGCTCTCTAT	741	Yamaguchi ve ark. (2002)
	<i>etb</i> F-ATACACACATTACGGATAAT R-CAAAGTGTCTCCAAAAGTAT	629	
	<i>etd</i> F-AACTATCATGTATCAAGG R-CAGAATTTCCCGACTCAG	376	
Panton-Valentine lökositin toksin	<i>luk-PV</i> F-ATCATTAGGTAAAATGTCTGGACATGATCCA R-GCATCAASTGTATTGGATAGCAAAAGC	433	Lina ve ark. (1999)
Toksik Şok Sendrom toksini	<i>tsst</i> F-AAGCCCTTTGTTGCTTGCG R-ATCGAACTTTGGCCCATACT	445	Booth ve ark. (2001)
Lipaz	<i>geh</i> F-GCACAAGCCTCGG R-GACGGGGGTGTAG	473	Saïd-Salim ve ark. (2003)
Serine proteaz	<i>GluSE</i> F-CAAGTTGAAGCACCTACTGG R-TAGAGTGTGAATCGGCTTTGG	934	Smeltzer ve ark. (1993)
Termonükleaz	<i>nuc</i> F-GCGATTGATGGTGATACGGTT R-AGCCAAGCCTTGACGAACCTAAAGC	279	Kim ve ark. (2001)

PCR karışımının hazırlanmasında 8 µl mastermikse (A.B.T.TM 2X PCR Mastermix), 2'şer µl primerlerden ve 8 µl genomik DNA eklenerek toplam hacim PCR suyu ile 25 µl'ye tamamlandı. Amplifikasyon işleminde primerlerin sentez ettirildiği firmanın önerileri doğrultusunda bağlanma sıcaklığı (Tablo 2) ve PCR protokolü optimize edildi. Hazırlanan karışım 95°C'de 10 dakika bekletildi. Daha sonra toplam 25 siklusklik amplifikasyon işleminde 95°C'de 30 saniye denatürasyon, gen spesifik her bir primerin bağlanma sıcaklığı farklı ve ayrı olacak şekilde 45 saniye bağlanma ve 72°C'de 30 saniye uzama aşamaları uygulandı. Final uzaması ise 72°C'de 5 dakika olacak şekilde ayarlandı.

Tablo 2. Stafilokok izolatlarında incelenen virulens ile ilişkili faktörlerin tespitinde kullanılan oligonükleotid dizilerinin bağlanma sıcaklıkları ve boyutları

Gen Adı	Bağlanma Isısı (°C)	Boyut (bp)
Virulens Regülatörü (<i>agrA</i>)	49.83	923 bp
Virulens Regülatörü (<i>sarA</i>)	50.78	313 bp
Meticillin Direnci (<i>mecA</i>)	54.40	310 bp
Biyofilm Hidrofobik yüzeylere yapışma Faktörü (<i>AtIE</i>)	50.75	682 bp
Biyofilm Hidrofobik yüzeylere yapışma Faktörü (<i>icaAB</i>)	50.75	546 bp
Biyofilm Hidrofobik yüzeylere yapışma Faktörü (<i>aap</i>)	53.90	399 bp
Eksfoliyatif toksin (<i>eta</i>)	44.60	741 bp
Eksfoliyatif toksin (<i>etb</i>)	44.60	629 bp
Eksfoliyatif toksin (<i>etd</i>)	44.62	376 bp
Panto-Valentine lökositin toksin (<i>luk-PV</i>)	57.23	433 bp
Toksik Şok Sendrom toksini (<i>tsst</i>)	50.41	445 bp
Lipaz (<i>geh</i>)	44.00	473 bp
Serine proteaz (<i>GluSE</i>)	52.09	934 bp
Termonükleaz (<i>nuc</i>)	54.89	279 bp

Agaroz Jel Analizi

Test için %1'lik agaroz kullanıldı. Bu amaçla 0.8 gr agaroz 100 ml 1X TAE buffer içerisinde çözdürüldü ve üzerine 7 µl etidyum bromür eklenerek karıştırıldı. Elektroforez kalıbına dökülerek polimerize olması beklendi ve ardından yükleme tırağı çıkartıldı. Elektroforez tankı 1X TAE buffer ile dolduruldu.

PCR işleminden sonra elde edilen ampikonlardan 8 µl alınarak, loading dye boyası ile karıştırıldı. Her jel için ilk kuyucuğa marker konuldu. Örnekler ise jeldeki ardışık kuyucuklara yüklendikten sonra elektroforez tankının kapağı kapatılıp 70 voltta 45 dakika elektroforez işlemine tabi tutuldu. Bu süre sonunda jel, görüntüleme cihazına (GeneLine Image SCI GL5000 – Spectronics Image Analysis System) yerleştirilerek UV ışığı altında görüntüler analiz edildi. Marker bantları baz alınarak incelenen örneklerdeki bant boyutları hesaplandı.

4. BULGULAR

4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Sonuçları

Araştırmada incelenen 40 adet burun sıvap örneğinden 25 adet (%62.5) *Staphylococcus spp.* izole edildi. Bu izolatların otomatize bakteri tanımlama cihazı ile tür düzeyinde yapılan identifikasyonlarında 25 stafilokok izolatının %56'sı *S. aureus*, %36'sı *S. intermedius*, %8'i de *S. warneri* olarak identifiye edildi. Çalışmada kullanılan 55 adet kulak sıvap örneğinden 25 adet (%45.5) *Staphylococcus spp.* izole edildi. Bu izolatların ise %56'sı *S. aureus*, %36'sı *S. intermedius*, %4'ü *S. warneri* ve %4'ü de *S. schleiferi* olarak identifiye edildi. Buna göre incelenen 95 köpeğe ait burun ve kulak sıvap örneğinden elde edilen 50 stafilokok izolatının %56'sı *S. aureus*, %36'sı *S. intermedius*, %6'sı de *S. warneri* ve %2'si de *S. schleiferi* olarak identifiye edildi (Tablo 3).

Tablo 3. İncelenen örnekler ve izolat oranları

Örnek türü	n	<i>Staphylococcus spp.</i>		<i>S. aureus</i>		<i>S. intermedius</i>		<i>S. warneri</i>		<i>S. schleiferi</i>	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Burun	40	25	62.50	14	56	9	36	2	8	0	0
Kulak	55	25	45.50	14	56	9	36	1	4	1	4
Toplam	95	50	52.63	28	56	18	36	3	6	1	2

Lab Report
Preliminary
The Diagnostic Switch is ON

05/10/22 15:39
V6.21A / V6.51A (x-US)

Accession #	RC-KNS-7	Test Start	04/10/22 17:44
Isolate #	1	Test End	04/10/22 23:48
Sequence #	426100417358	Instr # / Station	98/D01
Panel Type	PMIC/ID-87	Finalized	No
Status	COMPLETE		

Final ID	Staphylococcus aureus	Inoculum Density	0.5
-----------------	-----------------------	-------------------------	-----

Instrument ID(s)	Confidence Value
Staph. aureus	99%

<u>Biochemical</u>	<u>Instr Result</u>	<u>Expected Result</u>	<u>Biochemical</u>	<u>Instr Result</u>	<u>Expected Result</u>	<u>Biochemical</u>	<u>Instr Result</u>	<u>Expected Result</u>
A_ARARR	-	-	A_GLPRB	-	-	A_LALT	-	-
A_LARGH	-	-	A_LHIST	-	-	A_LISO	-	-
A_LLEUH	-	-	A_LPHET	-	-	A_LPROB	-	-
A_LPYR	-	-	A_LTRY	-	-	A_META	-	-
C_3MGA	+	+	C_CLST	+	+	C_DFRU	+	+
C_DGUA	+	+	C_DMNT	+	+	C_IMN	+	+
C_KGA	+	+	C_MAA	+	+	C_PXB	+	+
C_THY	+	+	M_ADGLU	-	-	M_BDCEL	-	-
M_BDGAL	-	-	M_BDGLC	-	-	M_BDGLU	-	-
M_NAG	-	-	M_PHOS	+	V	M_PHOT	+	+
N_ALALH	-	-	N_LPROT	-	-	N_VAALA	-	-
P_ADGLU	-	-	P_PHOL	-	-	R_BGEN	-	-
R_DEX	+	+	R_DSUC	+	V	R_DTAG	-	-
R_DTRE	+	V	R_MAL	+	V	R_MTT	+	V
R_NGU	-	-	S_URE	-	-	T_ESC	-	-
R_MGP	-	V						

NEEDS ATTENTION REASONS

Test Aborted	Invalid AST Results	No Growth On Panel
--------------	---------------------	--------------------

Şekil 6. BD Phoenix™ Otomatize bakteri identifikasyon sistemi analiz sonucu (S. aureus)

Lab Report
Preliminary
The Diagnostic Switch is ON

05/10/22 15:45
V6.21A / V6.51A (x-US)

Accession #	RC-KNS-6	Test Start	04/10/22 17:44
Isolate #	1	Test End	05/10/22 06:08
Sequence #	426100417352	Instr # / Station	98/C01
Panel Type	PMIC/ID-87	Finalized	No
Status	COMPLETE		

Final ID	Staphylococcus intermedius	Inoculum Density	0.5
-----------------	----------------------------	-------------------------	-----

Instrument ID(s)	Confidence Value
Staph. intermedius	99%

<u>Biochemical</u>	<u>Instr Result</u>	<u>Expected Result</u>	<u>Biochemical</u>	<u>Instr Result</u>	<u>Expected Result</u>	<u>Biochemical</u>	<u>Instr Result</u>	<u>Expected Result</u>
A_ARARR	+	V	A_GLPRB	-	-	A_LALT	-	-
A_LARGH	-	-	A_LHIST	-	-	A_LISO	-	-
A_LLEUH	+	V	A_LPHET	-	-	A_LPROB	-	-
A_LPYR	+	+	A_LTRY	-	-	A_META	-	-
C_3MGA	+	+	C_CLST	+	+	C_DFRU	+	+
C_DGUA	+	+	C_DMNT	+	V	C_IMN	+	+
C_KGA	+	+	C_MAA	+	+	C_PXB	+	+
C_THY	+	+	M_ADGLU	-	-	M_BDCEL	-	-
M_BDGAL	-	-	M_BDGLC	-	-	M_BDGLU	-	-
M_NAG	-	-	M_PHOS	+	+	M_PHOT	+	+
N_ALALH	-	-	N_LPROT	-	V	N_VAALA	-	-
P_ADGLU	+	V	P_PHOL	+	+	R_BGEN	-	V
R_DEX	+	+	R_DSUC	+	+	R_DTAG	-	-
R_DTRE	+	+	R_MAL	+	+	R_MTT	-	V
R_NGU	+	V	S_URE	+	V	T_ESC	-	-
R_MGP	-	V						

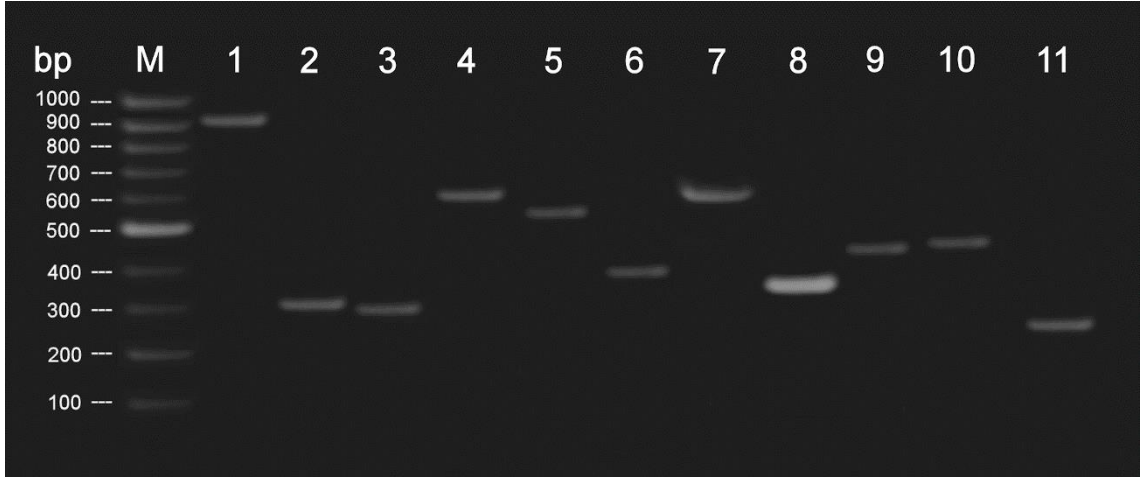
NEEDS ATTENTION REASONS

Test Aborted	Invalid AST Results	No Growth On Panel
--------------	---------------------	--------------------

Şekil 7. BD Phoenix™ Otomatize bakteri identifikasyon sistemi analiz sonucu (S. intermedius)

4.2. Virulens Faktörlerinin Moleküler Analiz Sonuçları

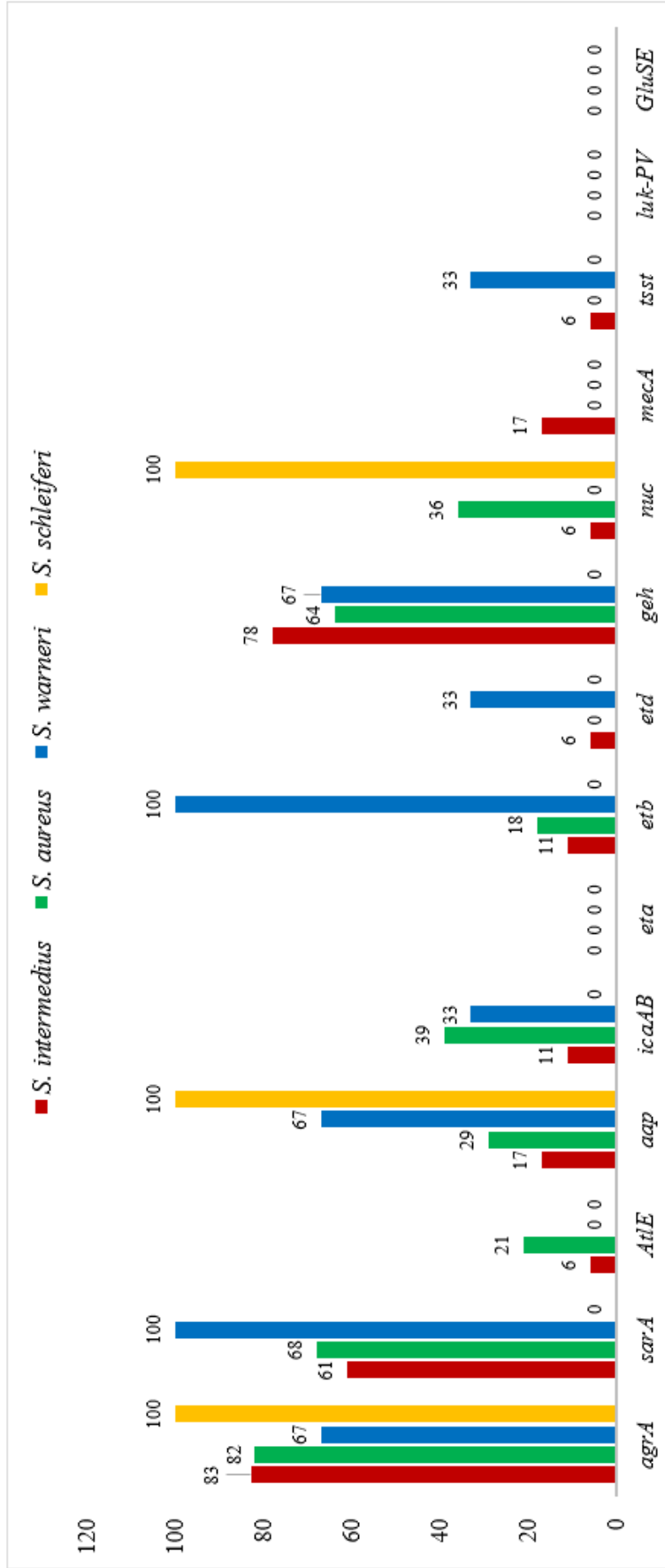
Bu çalışmada elde edilen stafilocok izolatlarında toplam 14 adet virulens ve patojenite ile ilişkili gen varlığı PCR ile incelendi (Şekil 8).



Şekil 8. Stafilocok izolatlarında incelenen virulens ve patojenite faktörlerinin agaroz jel görüntüsü (1: *agrA*, 2: *sarA*, 3: *mecA*, 4: *AtlE*, 5: *icaAB*, 6: *aap*, 7: *etb*, 8: *etd*, 9: *tsst*, 10: *geh*, 11: *nuc*)

Tablo 4. İncelenen örneklerden izole edilen suşlarda bazı virulens ve patojenite ile ilişkili genlerin moleküler analiz sonuçları

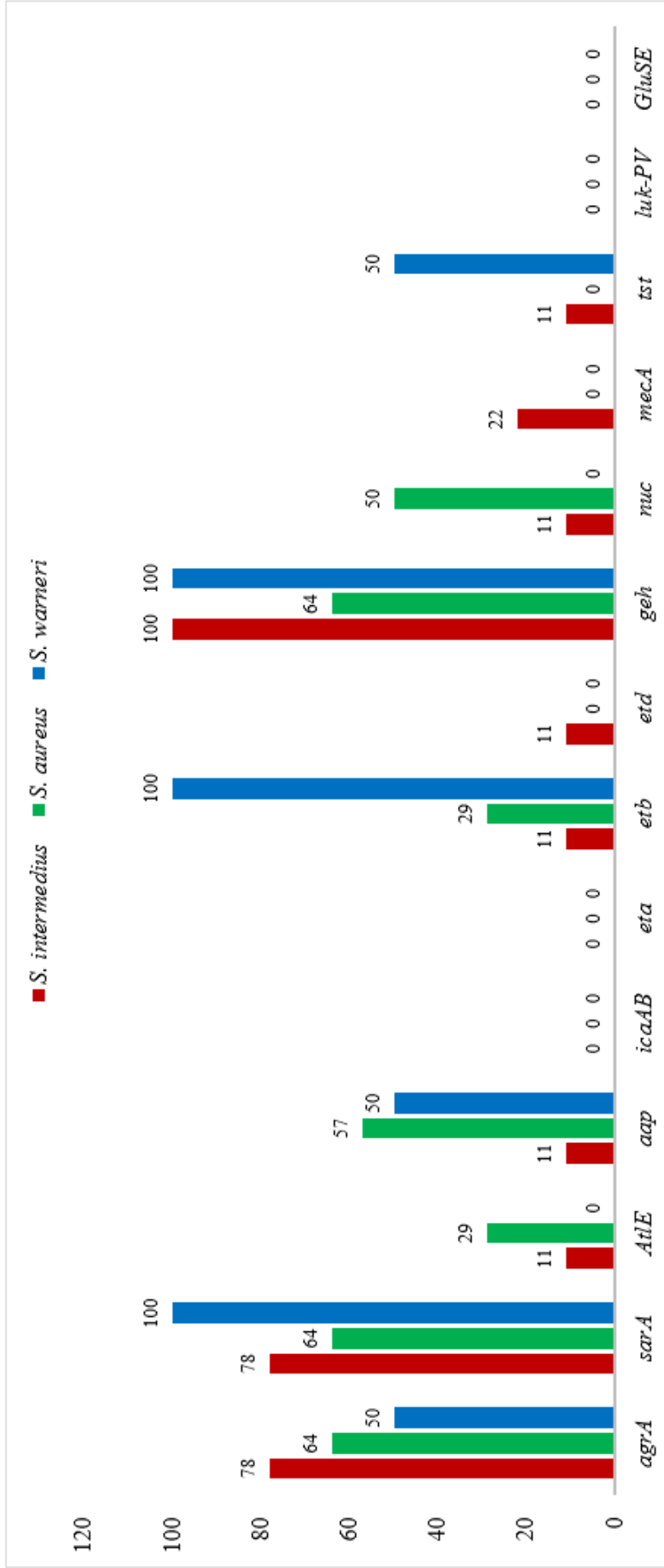
İzolatlar	Virulens Regülatörleri (%)				Biyofilm Faktörleri (%)				Eksfoliyatif toksin (%)				Lipaz (%)		Termonükleaz (%)	Metisilin Direnci (%)	Toksik Şok Sendrom toksini (%)	Panton-Valentine İoksidin toksin (%)	Serine proteaz (%)
	<i>n</i>	<i>agrA</i>	<i>sarA</i>	<i>AtfE</i>	<i>aap</i>	<i>icaAB</i>	<i>eta</i>	<i>etb</i>	<i>etd</i>	<i>geh</i>	<i>nuc</i>	<i>mecA</i>	<i>tsst</i>	<i>luk-PV</i>	<i>GlucE</i>				
<i>S. intermedius</i>	18	15 (83)	11 (61)	1 (6)	3 (17)	2 (11)	0 (0)	2 (11)	1 (6)	14 (78)	1 (6)	3 (17)	1 (6)	0 (0)	0 (0)				
<i>S. aureus</i>	28	23 (82)	19 (68)	6 (21)	8 (29)	11 (39)	0 (0)	5 (18)	0 (0)	18 (64)	10 (36)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)				
<i>S. warneri</i>	3	2 (67)	3 (100)	0 (0)	2 (67)	1 (33)	0 (0)	3 (100)	1 (33)	2 (67)	0 (0)	0 (0)	1 (33)	0 (0)	0 (0)				
<i>S. schleiferi</i>	1	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)				



Şekil 9. İncelenen örneklerden izole edilen suşlarda bazı virulens ve patojenite ile ilişkili genlerin moleküler analiz sonuçlarının grafiksel görüntüsü

Tablo 5. Burundan izole edilen suşlarda bazı virulens ve patojenite ile ilişkili genlerin moleküler analiz sonuçları

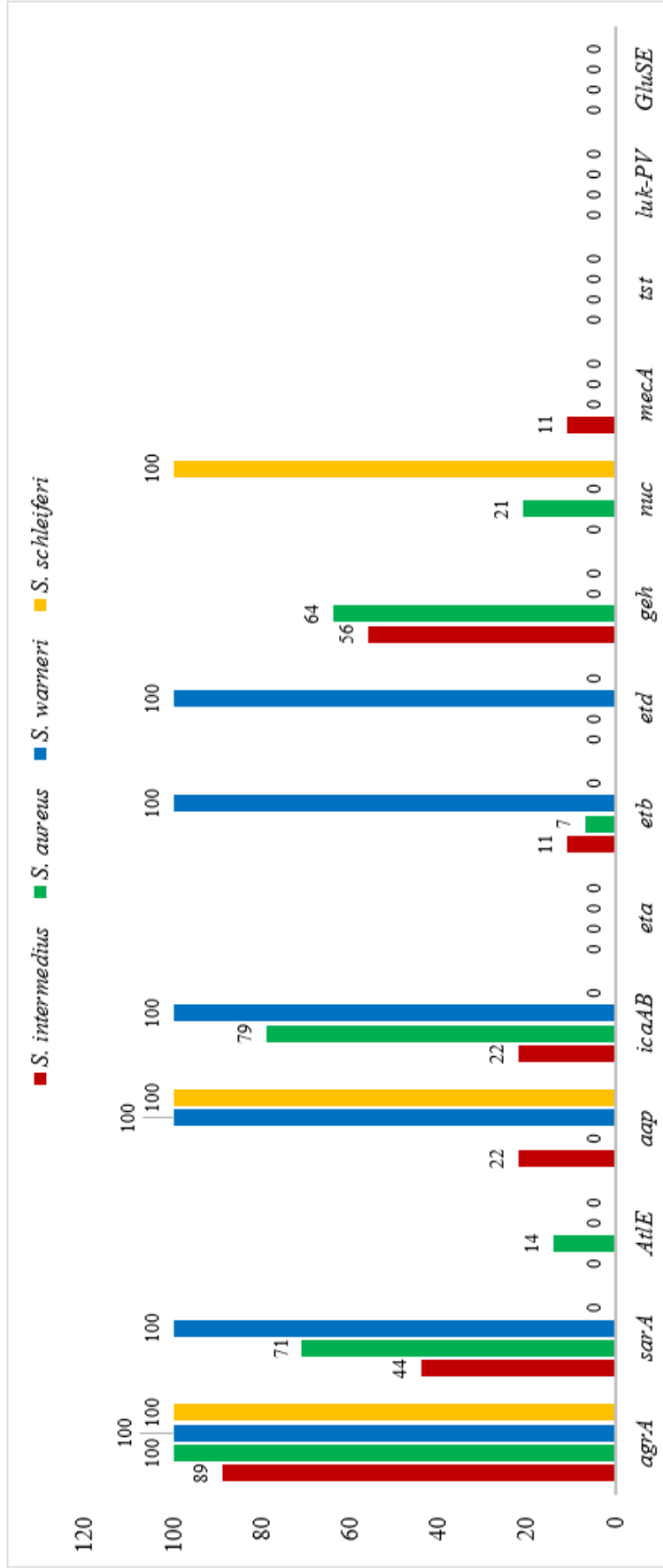
İzolatlar	Virulens Regulatorleri (%)										Eksfoliyatif toksin (%)				Lipaz (%)		Termonükleaz (%)		Metisilin Direnci (%)		Toksik Şok Sendrom toksini (%)		Panton-Valentine İktosidin toksin (%)		Serine proteaz (%)	
	n	agrA	sarA	AtfE	aap	icaAB	eta	etb	etd	geh	nuc	mecA	tsst	luk-PV	GluSE											
S. intermedius	9	7 (78)	7 (78)	1 (11)	1 (11)	0 (0)	0 (0)	1 (11)	1 (11)	9 (100)	1 (11)	2 (22)	1 (11)	0 (0)	0 (0)											
S. aureus	14	9 (64)	9 (64)	4 (29)	8 (57)	0 (0)	0 (0)	4 (29)	0 (0)	9 (64)	7 (50)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)											
S. warneri	2	1 (50)	2 (100)	0 (0)	1 (50)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (50)	0 (0)	0 (0)											



Şekil 10. Burundan izole edilen suşlarda bazı virulens ve patojenite ile ilişkili genlerin moleküler analiz sonuçlarının grafiksel görüntüsü

Tablo 6. Kulaktan izole edilen suşlarda bazı virulens ve patojenite ile ilişkili genlerin moleküler analiz sonuçları

İzolatlar	Virulens Regulatorleri (%)										Biyofilm Faktörleri (%)				Eksfoliyatif toksin (%)				Lipaz (%)				Termonükleaz (%)				Metisilin Direnci (%)				Toksik Şok Sendrom toksini (%)				Panton-Valentine lökositidin toksin (%)				Serine proteaz (%)																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																					
	<i>n</i>	<i>agrA</i>	<i>sarA</i>	<i>AtfE</i>	<i>aap</i>	<i>icaAB</i>	<i>eta</i>	<i>etb</i>	<i>etd</i>	<i>geh</i>	<i>nuc</i>	<i>mecA</i>	<i>tsst</i>	<i>luk-PV</i>	<i>GluSE</i>	<i>n</i>	<i>agrA</i>	<i>sarA</i>	<i>AtfE</i>	<i>aap</i>	<i>icaAB</i>	<i>eta</i>	<i>etb</i>	<i>etd</i>	<i>geh</i>	<i>nuc</i>	<i>mecA</i>	<i>tsst</i>	<i>luk-PV</i>	<i>GluSE</i>	<i>n</i>	<i>agrA</i>	<i>sarA</i>	<i>AtfE</i>	<i>aap</i>	<i>icaAB</i>	<i>eta</i>	<i>etb</i>	<i>etd</i>	<i>geh</i>	<i>nuc</i>	<i>mecA</i>	<i>tsst</i>	<i>luk-PV</i>	<i>GluSE</i>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																															
<i>S. intermedius</i>	9	8 (89)	4 (44)	0 (0)	2 (22)	2 (22)	0 (0)	1 (11)	0 (0)	5 (56)	0 (0)	1 (11)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (22)	2 (22)	0 (0)	1 (11)	0 (0)	0 (0)	5 (56)	0 (0)	1 (11)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)



Şekil 11. Kulaktan izole edilen suşlarda bazı virulens ve patojenite ile ilişkili genlerin moleküler analiz sonuçlarının grafiksel görünümü

Araştırmada elde edilen 50 adet stafilokok izolatının %56'sı *S. aureus*, %36'sı *S. intermedius*, %6'sı *S. warneri* ve %2'si de *S. schleiferi* olarak identifiye edildi. İzolatların hiçbirinde *eta*, *luk-PV* ve *GluSE* genlerine rastlanılmadı. *S. aureus* izolatlarının %82'si *agrA*, %68'i *sarA*, %21'i *AtlE*, %29'u *aap*, %39'u *icaAB*, %18'i *etb*, %64'ü *geh*, %36'sı *nuc* genleri yönünden pozitif, *etd*, *mecA* ve *tsst* genleri yönünden ise negatif bulundu. *S. intermedius* izolatlarının %83'ü *agrA*, %61'i *sarA*, %6'sı *AtlE*, *nuc* ve *tsst*, %17'si *aap*, %11'i *icaAB* ve *etb*, %6'sı *etd*, %78'i *geh*, %17'si *mecA*, genleri yönünden pozitif bulundu. *S. warneri* izolatlarının tamamı *sarA* ve *etb*, %67'si *agrA*, *aap*, *geh*; %33'ü *icaAB*, *etd*, *tsst* genleri yönünden pozitif, *AtlE*, *mecA* ve *nuc* genleri yönünden ise negatif bulundu. Bir adet *S. schleiferi* izolatı *agrA*, *aap* ve *nuc* genleri yönünden pozitifken diğer genler yönünden negatif bulundu. (Tablo 4, Şekil 9).

Burundan elde edilen izolatların virulens ve patojenite ile ilişkili genlerinin analizinde 9 adet *S. intermedius* izolatının tamamı *IcaAB*, *eta*, *luk-PV* ve *GluSE* genleri yönünden negatif ve *geh* geni yönünden ise pozitif bulunurken, %78'i *agrA* ve *sarA*, %22'si *mecA* ve %11'i de *AtlE*, *aap*, *etb*, *etd*, *nuc* ve *tsst* genleri yönünden pozitif bulundu. Çalışmada 14 adet *S. aureus* izolatının %64'ü *agrA*, *sarA* ve *geh*, %57'si *aap*, %50'si *nuc* ve %29'u da *AtlE* ve *etb* genleri yönünden pozitif bulunurken, izolatların tamamı *icaAB*, *eta*, *etd*, *mecA*, *tsst*, *luk-PV* ve *GluSE* genleri yönünden negatif bulundu. İncelenen 2 adet *S. warneri* izolatının tamamı *sarA*, *etb* ve *geh* genleri yönünden pozitif bulunurken, izolatların %50'si *agrA*, *aap* ve *tsst* genleri yönünden pozitif bulundu. Tüm *S. warneri* izolatları *AtlE*, *icaAB*, *eta*, *etd*, *nuc*, *mecA*, *luk-PV* ve *GluSE* genleri yönünden negatif bulundu (Tablo 5, Şekil 10).

Kulaktan elde edilen izolatların virulens ve patojenite genlerinin analizinde 9 adet *S. intermedius* izolatının tamamı *AtlE*, *eta*, *etd*, *nuc*, *tsst*, *luk-PV* ve *GluSE* genleri yönünden negatif bulunurken, %89'u *agrA*, %56'sı *geh*, %44'ü *sarA*, %22'si *aap* ve *icaAB*, %11'i de *etb* ve *mecA* genleri yönünden pozitif bulundu. İncelenen 14 adet *S. aureus* izolatının tamamı *agrA* geni yönünden pozitif ve *aap*, *eta*, *etd*, *mecA*, *tsst*, *luk-PV* ve *GluSE* genleri yönünden negatif bulunurken %79'u *icaAB*, %71'i *sarA*, %64'ü *geh*, %21'i *nuc*, %14'ü *AtlE* ve %7'si de *etb* genleri yönünden pozitif bulundu. Çalışmada 1 adet *S. warneri* izolatı *agrA*, *sarA*, *aap*, *icaAB*, *eta*, *etb* ve *etd* genleri yönünden pozitif bulunurken, *AtlE*, *geh*, *nuc*, *mecA*, *tsst*, *luk-PV* ve *GluSE* genleri yönünden de negatif

bulundu. Yine 1 adet *S. schleiferi* izolatu *agrA*, *aap* ve *nuc* genleri yönünden pozitif bulunurken *sarA*, *AtlE*, *icaAB*, *eta*, *etb*, *etd*, *geh*, *mecA*, *tsst*, *luk-PV* ve *GluSE* genleri yönünden ise negatif bulundu (Tablo 6, Şekil 11).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Staphylococcus türleri farklı patojenite mekanizmalarına, virulens faktörlerine ve kendilerine özgü bulaşma özelliklerine sahiptir. Dirençli bakterilerin zoonoz potansiyeli ve evcil hayvanların sahipleriyle yakın teması nedeniyle, stafilokok türlerinin olası bulaşma yolları ve enfeksiyon kaynaklarının araştırılması gerekmektedir. *Staphylococcus* cinsi, hayvanlarda ve insanlarda yaygın olmakla birlikte insan ve hayvan açısından en önemli sağlık tehditlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Ruzauskas ve ark., 2014).

Köpeklerin stafilokoklarla enfekte veya portör olması ayrıca insanlara bulaşarak zoonoz enfeksiyonlar oluşturmaları ve stafilokokların birçok antibiyotiğe direnç göstermeleri nedeniyle oluşturdıkları enfeksiyonların teşhis ve tedavisinin önemi gün geçtikçe artmaktadır (Tanner ve ark., 2000; Manian, 2003; Guardabassi ve ark., 2004). Köpeklerden en sık izole edilen stafilokok türleri *S. aureus* ve *S. intermedius* olarak bildirilmiştir. Burun, deri ve anal bölge dahil olmak üzere köpeklerin çeşitli bölgelerinden *S. aureus* ve *S. intermedius* izole edilmektedir. Bu etkenlerin ağız ve burundan köken alıp deri veya başka bölgelerine ağızyla kaşıma sonucu geçtiği tahmin edilmektedir (Boost ve ark., 2008).

Yurt dışında yapılan çalışmalar incelendiğinde; Nagase ve ark. (2002), Japonya’da 25 adet sağlıklı köpeğin derisinden %40 oranında KPS tespit etmişlerdir. Hoekstra ve Paulton (2002) Kanada’da yapmış oldukları çalışmada, farklı yaş ve cinsiyetteki 2206 köpeğin değişik bölgelerinden (boğaz, burun, kulak, göz, deri, genital bölge ve apse) %60.7 *S. intermedius* ve %39.3 *S. aureus* izole etmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca 325 burun sıvabından %47.07 *S. aureus*, %52.92 *S. intermedius* ve 338 kulak sıvabından da %39.05 *S. aureus*, %60.95 *S. intermedius* izole ettiklerini ifade etmişlerdir. Fernandez ve ark. (2006), Venezuela’da yaptıkları çalışmada 53 otitis eksternalı köpekte %12.5 *S. aureus*, %8.33 *S. epidermidis* ve %5.56 KNS tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Benzer şekilde Lyskova ve ark. (2007) Çek Cumhuriyeti’nde otitis eksternalı 97 adet köpekten %58.8 *S. intermedius*, %6.2 *S. schleiferi* ve %11.3 KNS izole etmişlerdir ve yine aynı çalışmada 178 sağlıklı köpekten %24.2 *S. intermedius*, %1.7 *S. schleiferi* ve %20.8 KNS izole etmişlerdir. Maleyeri ve ark. (2010) İran’da 74 otitis eksternalı köpekten toplam 92 bakteri izole ettiklerini, bunların da %74’ünün *S. intermedius*

olduğunu bildirmişlerdir. Gandolfi-Decristophoris ve ark. (2013) İsviçre’de 284 sağlıklı köpekten 176 burun ve 108 kulak örneği incelediklerini, izole ettikleri stafilokokların %60’ının KNS olduğunu belirtmişlerdir. Bertelloni ve ark. (2021) İtalya’da yapmış oldukları çalışmada hasta köpeklerin deri, kulak, burun ve idrar örneklerinden 50 adet *Staphylococcus spp.* izole ettiklerini, bunların %52’sinin *S. pseudintermedius*, %20’sinin *S. xylosus*, %12’sinin *S. aureus*, %8’inin *S. chromogenes* ve %2’sinin de *S. capitis*, *S. simulans*, *S. haemolyticus*, *S. hyicus* olarak tanımladığını belirtmişlerdir.

Ülkemizde yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde; Sığırcı ve ark. (2018), İstanbul ve yöresinde inceledikleri 475 köpeğin dış kulak kanalından aldıkları örneklerde en sık olarak *S. intermedius* (%18.7) izole ettiklerini, ifade etmişlerdir. Borum ve ark. (2014), Bursa ve yöresindeki otitis eksterna şüpheli 54 adet köpekten aldıkları kulak sıvabı örneğinden en yaygın olarak *S. aureus* (%55.76) ve KNS (%17.30) izole ettiklerini bildirmişlerdir. Kuyucuoglu ve Sarıtaş (2010), Afyonkarahisar’da çeşitli ırk, yaş ve cinsiyetteki sağlıklı 141 köpeğin dış kulak kanalından en yüksek oranda *S. aureus* (%31.5) ve *S. intermedius* (%9.5) izole ettiklerini belirtmişlerdir. Coşgun (2019), İstanbul’da yaptığı bir çalışmada 200 köpeğin nazal sıvı örneğinden izole ettiği stafilokok türlerinin %33.3’ünü *S. aureus* olarak tanımlamıştır. Müştak (2007), Ankara ve yöresinde 50 adet sağlıklı ve 50 adet deri lezyonu bulunan toplam 100 adet köpekten aldığı 200 deri ve burun örneğinden %67.5 *S. intermedius*, %6 *S. aureus*, %1 *S. chromogenes* ve %0.5 oranında da *S. capitis* tespit ettiğini, %25 örnekte ise üreme olmadığını bildirmiştir. Kurnaz (2022), Bursa’da yaptığı bir çalışmada 67 sağlıklı köpekten %86.5 *S. pseudintermedius*, %7.5 *S. aureus*, %4.5 *S. simulans* ve %1.5 *S. schleiferi* izole ettiğini, incelediği 57 hasta köpekten ise %77.2 *S. pseudintermedius*, %8.7 *S. aureus*, %7 *S. schleiferi*, %3.5 *S. epidermidis* ve %1.7 oranında ise *S. hominis* ve *S. xylosus* izole ve tanımladığını ifade etmiştir. Metiner ve ark. (2015), İstanbul ve yöresinde yaptıkları çalışmada otitis eksternalı 100 köpekten elde ettikleri 40 stafilokok izolatının %75’ini KPS, diğer %25’ini ise KNS olarak belirlemişlerdir. KPS izolatlarının %27.5’ini *S. pseudintermedius*, %20’sini *S. aureus*, %7.5’ini de *S. schleiferi* olarak tanımladığını belirtmişlerdir.

Bu araştırmada, incelenen 95 köpeğin burun (40 adet) ve kulaklarından (55 adet) alınan örneklerin bakteriyolojik analizinde, elde edilen 50 stafilokok izolatının %56’sı *S.*

aureus, %36'sı *S. intermedius*, %6'sı *S. warneri* ve %2'si de *S. schleiferi* olarak identifiye edildi.

Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, bu çalışmada izole edilen *S. aureus* izolasyon oranının, Coşgun (2019), Müştak (2007) ve Kuyucuoğlu ve Sarıtaş (2010)'tan yüksek, Borum (2014) ile uyumlu olduğu görüldü. Elde edilen *S. intermedius* izolasyon oranının, Sığırcı (2018) ve Kuyucuoğlu ile Sarıtaş (2010)'tan yüksek, Müştak (2007)'den düşük olduğu görüldü. *S. warneri* izolasyon oranı Kurnaz (2022)'den yüksek olduğu, *S. schleiferi* izolasyon oranının ise Metiner (2015)'den düşük olduğu görüldü. Bu tür olgularda örneğin sağlıklı veya klinik belirti gösteren hayvanlardan alınması, örneklerde farklı bakteri türlerinin izole edilmesi ile sonuçlanabilmektedir. Öte yandan bu araştırmada incelenen hayvanlar, klinik belirti göstermeyen sağlıklı görünen hayvanlardı. Bu hayvanlarda bile izole edilen stafilocok türlerinin potansiyel patojen türler olması dikkati çeken bir diğer unsur olarak değerlendirildi.

Pet hayvanlarından izole edilen stafilocok türleri ile yapılan araştırmalarda *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. warneri*, *S. epidermidis*, *S. xylosus*, *S. lentus*, *S. haemolyticus*, *S. hominis* ve *S. sciuri* izolatlarında metisilin direnci rapor edilmiştir (Gortel ve ark., 1999; van Duijkeren ve ark., 2004; Bağcigil ve ark., 2007). Fındık ve ark. (2009), köpeklerde yaptıkları bir araştırmada 390 nazal sıvı örneklerinin %20.5'inde *S. aureus* izole ettiklerini, bunların da yalnızca %3.75'inde *mecA* geni tespit ettiklerini; Metiner ve ark. (2015), otitis eksternalı köpeklerden elde ettikleri 40 adet stafilocok izolatının sadece %2.5'inin metisilin dirençli olduğunu ve aynı zamanda *mecA* geni taşıdığını; Coşgun (2019), ise köpeklerden aldıkları burun sıvıplarının %10.5'inden KPS (%66.6'sı *SIG* ve %33.3'ü *S. aureus*) izole ettiklerini, izolatların da %38.09'unda *mecA* geni tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Epstein ve ark. (2009), sağlıklı görülen köpeklerden aldıkları burun sıvıplarında %16.6 oranında metisilin dirençli *S. intermedius* saptadıklarını; Hemeg (2021), klinik olarak otitis media ve üst solunum yolu enfeksiyonu tespit ettiği köpeklerde yaptığı çalışmada %44.4 oranında *S. aureus* izole ettiğini ve bunların tamamında *mecA* geni bulduğunu; Bertelloni ve ark. (2021), ise İtalya'da yapmış oldukları çalışmada hasta köpeklerden elde ettikleri 50 stafilocok izolatında %24 *mecA* geni tespit ettiklerini belirtmişlerdir.

Yapılan bu araştırmada, 95 köpekten elde edilen 50 stafilokok izolatu arasında 18 adet *S. intermedius* izolatının %16.6'sında *mecA* geni tespit edilirken, diğer izolatların hiçbirinde *mecA* geni bulunamadı.

Hemeg (2021), klinik olarak otitis media ve st solunum yolu enfeksiyonu tespit ettiği köpeklerde yaptığı çalışmada %44.4 oranında *S. aureus* izole ettiğini ve bunların %38.5'inde *luk-PV* genini pozitif bulduğunu; Bertelloni ve ark. (2021), İtalya'da yapmış oldukları çalışmada hasta köpeklerden elde ettikleri 50 stafilokok izolatının hiçbirinde *luk-PV* geni bulamadıklarını belirtmişlerdir.

Sığır sütlerinden izole edilen *S. aureus* izolatları ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda (Monecke ve ark., 2007; Piccinini ve ark., 2010; Kreausukon ve ark., 2012) *luk-PV* geni saptanmazken, diğer bazı çalışmalarda (Wang ve ark., 2014; Sur, 2019; Nalça ve ark., 2021) ise %4.7-75.5 arasında *luk-PV* geni saptandığı bildirilmiştir.

Yapılan bu araştırmada, elde edilen stafilokok izolatlarının hiçbirinde *luk-PV* genine rastlanılmadı.

Terauchi ve ark. (2003), genellikle piyodermalı köpeklerden elde edilen *S. intermedius* 'un da *S. aureus* 'unkine benzer eksfoliatif toksin oluşturup oluşturmadıklarını incelemişlerdir ve bunun üzerine ilk defa köpeklerde *S. intermedius* 'un eksfoliatif toksini (SIET)'ni izole etmeyi başarmışlardır. Müştak (2007), Ankara ve yöresinde sağlıklı ve deri lezyonu bulunan köpeklerden aldığı örneklerden izole ettiği 54 adet *S. intermedius*, 2 adet *S. chromogenes* ve 1 adet *S. capitis* izolatlarında *eta* ve *etb* genlerine hiç rastlamazken, izole ettiği 12 adet *S. aureus* 'un ise *eta* yönünden negatif, *etb* yönünden ise pozitif sonuç tespit ettiğini; Türkel (2012), Aydın ve yöresinde incelediği köpeklerin deri örneklerinden elde ettiği 23 adet stafilokok izolatının %8.7'sinde ise *eta* ve *etb* genleri yönünden pozitif olduğunu; Bertelloni ve ark. (2021) ise İtalya'da yapmış oldukları çalışmada hasta köpeklerden elde ettikleri 50 stafilokok izolatının hiçbirinde *eta* ve *etb* genlerini tespit edemediklerini bildirmişlerdir.

Sığır sütlerinden izole edilen stafilokoklar ile ilgili yapılan çalışmalarda, Nalça ve ark. (2021), elde ettikleri 42 adet *S. aureus* izolatının %14.2'sinde *etb* ve %2.3'nde *eta* geni bulduklarını; Kot ve ark. (2016), Polonya'da yaptıkları çalışmada elde ettikleri 124

S. aureus izolatının %5.6'sında *eta* ve %8.9'unda *etd* geni tespit ettiklerini, izolatların hiçbirinde *etb* geni saptayamadıklarını; Sur (2019), yapmış olduğu araştırmada, *S. aureus* izolatların %73'ünün *etd* ve %13.3'ünün *eta* geni bulundurduklarını ancak izolatların hiçbirinde de *etb* geni tespit edilemediğini; Ikawaty ve ark. (2010), elde ettikleri 76 *S. aureus* izolatının, Karahan ve ark. (2009), elde ettikleri 92 adet *S. aureus* izolatının, Akineden ve ark. (2001) ise Almanya'da yaptıkları bir araştırmada elde ettikleri 103 adet *S. aureus* izolatının hiçbirinde *eta*, *etb* genlerine rastlamadıklarını bildirmişlerdir.

Yapılan bu araştırmada, 95 köpekten elde edilen 50 stafilocok izolatının bakteriyolojik analizinde, 28 adet *S. aureus*, 18 adet *S. intermedius*, 3 adet *S. warneri* ve 1 adet *S. schleiferi* izolatının hiçbirinde *eta* genine rastlanmadı. *S. aureus*'un %17.86'sı, *S. intermedius*'un %11.1'i, *S. warneri*'nin ise tamamı *etb* pozitifken, *S. schleiferi*'de *etb* genine rastlanmadı. *S. aureus* ve *S. schleiferi*'de *etd* genine rastlanmazken, *S. intermedius*'ta %5.5 ve *S. warneri*'de %33.3 oranlarında *etd* geni bulundu.

Dünyanın farklı bölgelerinde sığır sütlerinden izole edilen stafilocoklar ile yapılan çalışmalarda, Zschöck ve Sommerhauser (2004), Almanya'da mastitisli sığırlardan elde ettikleri 573 *S. aureus* izolatının %9.3'ünün, Monecke ve ark. (2007), Almanya'da sığır orijinli 20 *S. aureus* izolatının %15'inin, Polonya'da gerçekleştirilen bir çalışmada (Kot ve ark., 2016), subklinik mastitisli sığırlardan elde edilen 124 *S. aureus* izolatının %2.4'ünün; Smyth ve ark. (2005), sığır orijinli 99 *S. aureus* izolatının %19.2'sinin, Srinivasan ve ark., (2006), mastitisli sığır sütlerinden elde ettikleri 78 *S. aureus* izolatının %25.6'sının, Ikawaty ve ark. (2010), Hollanda'da mastitisli sığırlardan elde ettikleri 76 *S. aureus* izolatının %28'inin, İran'da gerçekleştirilen çalışmalarda ise Baniardalan ve ark. (2017), sığır sütlerinden elde ettikleri 76 *S. aureus* izolatının %1.3'ünün, Farahmand-Azar ve ark. (2012) ise mastitisli sığırlardan elde ettikleri 58 *S. aureus* izolatının %15.5'inin, *tsst* geni yönünden pozitif bulunduğunu bildirmişlerdir.

Piccinini ve ark. (2010), İtalya'da mastitisli sığırlardan elde ettikleri 33 *S. aureus* izolatının, Kreausukon ve ark. (2012), Almanya'da sığır sütlerinden elde ettikleri 50 *S. aureus* izolatının, Wang ve ark. (2014) ise Çin'de mastitisli sığırlardan elde ettikleri 53 *S. aureus* izolatının tamamının *tsst* geni yönünden negatif bulunduğunu rapor etmişlerdir.

Bertelloni ve ark. (2021) ise İtalya’da yapmış oldukları çalışmada hasta köpeklerden elde ettikleri 50 stafilokok izolatının %2’sinin *tsst* geni yönünden pozitif bulunduğunu belirtmektedirler.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda, Nalça ve ark. (2021), Samsun’da mastitisli sığırlardan elde ettikleri 42 *S. aureus* izolatının %11.9’unun, Sur (2019) Aydın’da yapmış olduğu araştırmada *S. aureus* oldukları *nuc* geni ile doğrulanmış izolatların %26.6’sının, Karahan ve ark. (2009) ise subklinik mastitisli sığırlardan elde ettikleri *S. aureus* izolatlarının %3.3’ünün *tsst* geni yönünden pozitif bulunduğunu belirtmişlerdir.

Bu çalışmada, incelenen köpeklerden elde edilen 50 stafilokok izolatının 28’i *S. aureus* ve 1’i *S. schleiferi* olarak identifiye edildi ve bu izolatların hiçbirinde *tsst* genine rastlanılmazken 18 adet *S. intermedius*’un %5.5’inde ve 3 adet *S. warneri*’nin ise %33.3’ünde *tsst* geni bulundu.

Vasudevan ve ark. (2003) sığır mastitisinden elde ettikleri *S. aureus* izolatlarında biyofilm oluşumunu, in vitro slime üretimini ve *ica* gen lokusu ile *icaA* ve *icaD* genlerinin varlığını araştırmışlardır. İnceledikleri 35 izolatın %68.57’sinin in vitro biyofilm ürettiğini, izolatların tamamının *icaA* ve *icaD* genleri yönünden de pozitif bulunduğunu, Andrade ve ark. (2021), Portekiz ile Brezilya’da keçi ve koyun sütlerinden elde ettikleri 137 stafilokok izolatının %5.1’inin *icaA*, %13.8’inin *icaD* geni taşıdığını, Bertelloni ve ark. (2021) ise İtalya’da yapmış oldukları çalışmada hasta köpeklerden elde ettikleri 50 stafilokok izolatının %4’ünde *icaAD* geni saptadıklarını rapor etmişlerdir.

Yapılan bu araştırmada, incelenen köpeklerden elde edilen 28 adet *S. aureus* izolatının %39.29’unda, 18 adet *S. intermedius* izolatının %11.1’inde ve 3 adet *S. warneri* izolatının %33.3’ünde *icaAB* geni tespit edilirken, *S. schleiferi* izolatında *icaAB* genine rastlanmadı.

Andrade ve ark. (2021), keçi ve koyun sütlerinden elde ettikleri 137 stafilokok izolatının %48.9’unun, Ewida ve Hosary (2020), Mısır’da subklinik mastitisli sığırlardan elde ettikleri 46 *S. aureus* izolatının %71.73’ünün *nuc* geni yönünden pozitif bulunduğunu belirtmektedirler.

Yürütülen bu araştırmada, incelenen köpeklerden elde edilen *S. aureus* izolatlarının %35.71'inde, *S. intermedius* izolatlarının %5.5'inde ve *S. schleiferi* izolatında *nuc* geni tespit edilirken 3 adet *S. warneri* izolatında *nuc* genine rastlanmadı.

İnsanlarda yapılan bir çalışmada Azmi ve ark. (2019), filistinli hastalardan elde ettikleri 248 adet MRSA izolatının %69.8'inde *sarA* genini pozitif bulmuşlardır.

Bu çalışmada, incelenen köpeklerden elde edilen *S. aureus* izolatlarının %67.86'sı, *S. intermedius* izolatlarının %61.1'i, *S. warneri* izolatlarının ise tamamı *sarA* geni yönünden pozitif bulundu.

Pereira ve ark. (2020), hastanede yatan hastalardan elde ettikleri 300 adet *S. epidermitis* izolatının %53.3'ünde *app* geni saptadıklarını ifade etmişlerdir.

Yapılan bu araştırmada, incelenen köpeklerden elde edilen *S. aureus* izolatlarının %28.57'sinde, *S. intermedius* izolatlarının %16.6'sında, *S. warneri* izolatlarının %66.6'sında ve *S. schleiferi* izolatında *aap* geni tespit edildi.

Bu araştırmada incelenen köpeklerden elde edilen *S. aureus* izolatlarının %82.14'ü *agrA*, %21.43'ü *AtlE*, %60.71'i *geh* geni yönünden; *S. intermedius* izolatlarının %83.3'ü *agrA*, %5.5'i *AtlE*, %77.7'si *geh* geni yönünden; *S. warneri* izolatlarının %66.6'sı *agrA*, %66.6'sı da *geh* geni yönünden pozitif bulunurken, *S. schleiferi* izolatında *sarA*, *agrA*, *AtlE* ve *geh* geni tespit edilmedi. Ayrıca izolatların hiçbirinde *GluSE* geni tespit edilemedi.

Konu ile ilgili yapılan araştırmalar değerlendirildiğinde, izole edilen stafilocok türlerinin ağırlıklı olarak *S. aureus* üzerinde yoğunlaştığı, izolatların kaynakları açısından çoğunlukla sığır sütlerinden izole edilen stafilocoklarda çalışıldığı görölmüştür. İncelenen virulens ve patojenite genlerinde hem literatürler arasında hem de yürütölen bu çalışmada elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir uyum gözlenmedi.

Farklı habitatlarda bulunan saha suşlarında farklı karakterlerin gelişebileceği göz önünde bulundurulduğunda bu araştırmada incelenen hayvanların sağlıklı görönen hayvanlar oluşu ve etkenlerin lokasyonları, bu karakterlerde farklılığa neden olabilecek unsurlar olabileceği mütalaa edildi.

SONUÇ

- Bu araştırmada Van ve yöresinde köpeklerden izole edilen stafilokok türlerinde bazı virulens ve patojenite ile ilişkili genlerin moleküler analizi ilk defa yapıldı.
- İncelenen 14 adet virulens ve patojenite ile ilişkili genler ve karşılaştırılmalı analizleri ülkemizde ilk defa bu çalışma ile ortaya konuldu.
- Yapılan bu çalışmada sağlıklı köpeklerden izole edilen stafilokok türlerinin potansiyel patojen türler olması dikkat çekti.
- İzolatların virulens ve patojenite genleri varlığı açısından önemli oranlarda pozitiflik tespit edilmesi nedeniyle hayvan sağlığı açısından önemli risk oluşturabileceğı kanaatine varıldı.

KAYNAKLAR

- Akan E. Tıbbi Mikrobiyoloji. 2. Basım. İzmir: Saray Yayınları; 1993. Staphylococcus; s.1-18.
- Akan M. Staphylococcus İnfeksiyonları. Aydın N, Paracıkoğlu J, editörler. Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar). Ankara: İlke-Emek Yayınları; 2006.
- Akineden O, Annemu C, Hassan AA, Lammler C, Wolter W, Zcshöck M. Toxin genes and other characteristics of Staphylococcus aureus isolates from milk of cows with mastitis. Clin Diagn Lab Immunol. 2001;8(5):959-69.
- Andrade NC, Laranjo M, Costa MM, Queiroga MC. Virulence factors in Staphylococcus associated with small ruminant mastitis: Biofilm production and antimicrobial resistance genes. Antibiotics (Basel). 2021;25;10(6):633.
- Anonim 1, Presentation on theme: "Staphylococci Facultative, non-sporulating, non-motile, Gram positive cocci Cell Division 3 planes –Daughter cells don't fully separate form clusters (İnternet) 2016 (Erişim Tarihi 14 Kasım 2022). Erişim adresi: <https://slideplayer.com/slide/6281431>
- Anonim 2, Thermonuclease. (İnternet) (Erişim Tarihi 26 Kasım 2022). Erişim adresi: <https://avys.omu.edu.tr/app/public>
- Archer GL. Staphylococcus aureus: a well-armed pathogen. Clin Infect Dis. 1998;26(5):1179-81.
- Archer GL. Staphylococcus epidermidis and other coagulase negative Staphylococci. Mandel GL, Douglas RG, Bennett JE, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. 3rd ed. Melbourne: Churchill Livingstone; 1990.
- Archer NK, Mazaitis MJ, Costerton JW, Leid JG, Powers ME, Shirtliff ME. Staphylococcus aureus biofilms properties, regulation and roles in human disease. Virulence. 2011;2(5):445-59.
- Arciola CR, Baldassarri L, Montanaro L. Presence of icaA and icaD genes and slime production in a collection of staphylococcal strains from catheter-associated infections. J Clin Microbiol. 2001;39(6):2151-6.
- Arciola CR, Campoccia D, Ravaioli S, Montanaro L. Polysaccharide intercellular adhesin in biofilm: structural and regulatory aspects. Front Cell and Infect Microbiol. 2015;10:5-7.
- Arvidson S. Extracellular Enzymes. Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA, Rood JJ, editors. Gram Positive Pathogens. 2th ed. Washington DC: ASM Press. 2000.
- Atshan SS, Shamsudin MN, Sekawi Z, Lung LTT, Hamat RA, Karunanidhi A, Ali AM, et al. Prevalence of adhesion and regulation of biofilm-related genes in different clones of Staphylococcus aureus. J Biomed Biotechnol. 2012;976-72.
- Azmi K, Qrei W, Abdeen Z. Screening of genes encoding adhesion factors and biofilm production in methicillin resistant strains of Staphylococcus aureus isolated from Palestinian patients. BMC Genomics. 2019;12.
- Bagcigil FA, Moodley A, Baptiste KE, Jensen VF, Guardabassi L. Occurrence, species distribution, antimicrobial resistance and clonality of methicillin- and

- erythromycin-resistant staphylococci in the nasal cavity of domestic animals. *Vet Microbiol.* 2007;121(3-4):307-15.
- Baird-Parker AC. The staphylococci: an introduction. *J Appl Bacteriol Symp Ser.* 1990;19:1-8.
- Baniardalan S, Mohammedzadeh A, Pajohi-Alamoti M, Mahmoodi P, Sadeghinassab A. Detection of toxic shock toxin (tst) gene in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine milk samples. *BJVM.* 2017;20(3):236-43.
- Bannerman TL. *Staphylococcus micrococcus* and other catalase-positive cocci that grow aerobically. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover MC, editors. *Manual of Clinical Microbiology.* 8. Baskı. Washington DC: ASM Press; 2003.
- Barry AL, Lachiva RV, Atchison FW. Identification of *Staphylococcus aureus* by simultaneous use of tube coagulase and thermonuclease tests. *Appl Microbiol.* 1973;25(3):496-7
- Becker K, Heilmann C, Peters G. Coagulase-Negative Staphylococci. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27(4):870-926.
- Beenken KE, Dunman PM, McAleese F, Macapagal D, Murphy E, Projan SJ, Blevins JS, Smeltzer MS. Global gene expression in *Staphylococcus aureus* biofilms. *J Bacteriol.* 2004;186(14):4665-84.
- Bergdoll MS. Enterotoxins, Staphylococci and Staphylococcal Infections. New York: Academic Press; 1989.
- Bergdoll MS. *Staphylococcus aureus.* Doyle MP, editor. Foodborne Bacterial Pathogens. New York: Marcel Dekker; 1989.
- Berkiten R. Gram Pozitif Koklar. Bozkaya E, editör. Tıbbi mikrobiyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2005.
- Bertelloni F, Cagnoli G, Ebani VV. Virulence and antimicrobial resistance in canine *Staphylococcus* spp. isolates. *Microorganisms.* 2021;9(3):515.
- Berube BJ and Wardenburg J. *Staphylococcus aureus* α -Toxin: Nearly a Century of Intrigue. *Toxins.* 2013;5(6):1140-66.
- Biberstein EL, Jang SS, Hirsch DC. Species distribution of coagulase positive staphylococci in animals. *J Clin Microbiol.* 1984;19:610-615.
- Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji Tanı. 5. Baskı. İzmir: Fakülteler Kitabevi; 2009.
- Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. 10. Baskı. İzmir: Fakülteler Kitabevi; 2000. Gram pozitif koklar; s.239-68.
- Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. 8. Basım. İzmir: Fakülteler Kitabevi; 1993. Gram pozitif koklar; s.187-210.
- Bilgehan H. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi (Uygulamalı Konuları ile.). İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitap evi; 2005.
- Boost MV, O'donoghue MM ve James A. Prevalence of *Staphylococcus aureus* carriage among dogs and their owners. *Epidemiol Infect.* 2008;136(7):953-64.

- Booth MC, Pence LM, Mahasreshti P, Callegan MC, Gilmore MS. Clonal associations among *Staphylococcus aureus* isolates from various sites of infection. *Infect Immun*. 2001;69:345-52.
- Boothby J, Genigeorgis C, Fanelli MJ. Tandem coagulase / thermonuclease agar method for the detection of *Staphylococcus aureus*. *Appl Environ Microbiol*. 1979;37(2):298-302.
- Borum E, Çeçen G, Demir G, Çetin C, Şentürk S. Determination and Antimicrobial Susceptibility of Microorganisms Isolated from Otitis Externa with Dogs. *Kocatepe Vet J*. 2014;7(1):27-31.
- Boyle-Vavra S, Daum RS. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the role of Pantone-Valentine leukocidin. *Lab Invest*. 2007;87(1):3-9.
- Brooks GF, Butel JS, Ornston LN. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. Appleton & Norwalk: Lange; 1991.
- Cengiz AT. *Staphylococcus*. Ustaçelebi N, editör. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş kitabevi; 1999.
- Cengiz AT. Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi; 2004.
- Chambers HF. Methicillin resistance in *Staphylococci*: Molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*. 1997;10(4):781-91.
- Christensen GD, Simpson WA, Bisno AL, Beachey EH. Adherence of slime producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infect Immun*. 1982;37:318-26.
- Cords BR, Tatini SR. Applicability of heat stable deoxyribonuclease assay for assessment of staphylococcal growth and presence of enterotoxin in cheeses. *J Dairy Sci*. 1973;56(12):1512-19.
- Coşgun T. Köpeklerde Koagülaz Pozitif Stafilocokların Nazal Kolonizasyonu ve Metisilin Direncinin Araştırılması (Yüksek lisans tezi). İstanbul: Cerrahpaşa Üniversitesi; 2019.
- Cramton S, Gerke C, Schnell NF, Nicholson WW, Götz F. The intercellular adhesion (ica) locus is present in *Staphylococcus aureus* and is required for biofilm formation. *Infect Immun*. 1999;67:5427-33.
- Cucarella C, Solano C, Valle J, Amorena B, Lasa I, Penadés JR. Bap, a *Staphylococcus aureus* surface protein involved in biofilm formation. *J Bacteriol*. 2001;183:2888-96.
- Cunha MLRS, Antimicrobial Resistance. Cunha MLRS, editor. *Staphylococcus aureus and Coagulase- Negative Staphylococci: Virulence, Antimicrobial Resistance and Molecular Epidemiology*. New York: Nova; 2014.
- Çalık Z. Koagülaz olumlu ve olumsuz stafilocok suşlarında metisilin direnci ve çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıkları (Yüksek Lisans Tezi). Erzurum: Atatürk Üniversitesi; 1998.
- Davenport DS, Masanari KM, Pfaller MA, Bae MJ, Streed SA, Hierholzer WS. Usefulness of a test for slime production as a marker for clinically significant infections with coagulase negative staphylococci. *J Infect Dis*. 1986;153(2):332-39.

- Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Rev. 2000;13(1):16-34.
- Dubin G. Extracellular proteases of *Staphylococcus* spp. Biol Chem. 2002;383(7-8):1075-86.
- Duquette RA, Nuttall TJ. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dogs and cats: an emerging problem. J Small Anim Pract. 2004;45(12): 591-97.
- Epstein CR, Yam WC, Peiris JSM, Epstein RJ. Methicillin-resistant commensal staphylococci in healthy dogs as a potential zoonotic reservoir for community-acquired antibiotic resistance. Infect Genet Evol. 2009;9(2):283-85.
- Ewers C, Lübke-Becker A, Bethe A, Kiebling S, Filter M, Wieler LH. Virulence genotype of *Pasteurella multocida* strains isolated from different hosts with various disease status. Vet Microbiol. 2006;114,304-17.
- Ewida RM, Al-Hosary AA. Prevalence of enterotoxins and other virulence genes of *Staphylococcus aureus* caused subclinical mastitis in dairy cows. Vet World. 2020;13(6):1193-98.
- Farahmand-Azar S, Ahmadi M, Dastmalchi SH, Anassori E. Identification of Toxic Shock Syndrome Toxin-1 (TSST-1) gene in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis milk. Arch Razi Inst. 2012;68(1):17-22.
- Fernández G, Barboza G, Villalobos A, Parra O, Ramírez G. Isolation and Identification of microorganisms present in 53 dogs suffering otitis externa. Rev Cient (Maracaibo) v.16 n.1 Maracaibo feb. 2006.
- Findık A, Akan N, Onuk EE, Çakıroğlu D, Çiftçi A. Methicillin resistance profile and molecular typing of *Staphylococcus aureus* strains isolated from noses of the healthy dogs. Kafkas Üniversitesi Vet Fak Derg. 2009;15(6):925-30.
- Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA, Rood JJ. Gram positive pathogens. USA: American Society For Microbiology. 2006.
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. USA: Mosby Elsevier; 2007. Laboratory Methods and Strategies For Antimicrobial Susceptibility Testing; s.187-214.
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey and Scott's Diagnosttic Microbiology. 12th ed. USA: Mosby Elsevier; 2007. *Staphylococcus*, *Micrococcus* and Similar Organisms; s.254-63.
- Forsgren A, Sjogulst J. "Protein A" from *Staphylococcus aureus* I. Pseudo immune reaction with Human globulin. J Immunol. 1966;97:822-26.
- Foster TJ, Höök M. Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*. Trends Microbiol. 1998;6(12):484-88.
- Fox LK, Ferens WA, Bohach GA, Bayles KW, Davis WC. *Staphylococcus aureus*: Super Mastitis Pathogen. 39th Annu. Meet. Natl. Mastitis Counc., Inc. Atlanta, GA. 2000. s.98-103.
- Frebourg NB, Lefebvre S, Baert S, Lemeland JF. PCR-Based assay for discrimination between Invasive and contaminating *Staphylococcus epidermidis* Strains. J Clin Microbiol. 2000;38(2):877-80.

Freeman BA. Burrow's Textbook of Microbiology, 22th (ed). Philadelphia: Saunders Co WB; 1985,371.

Gad GF, El-Feky MA, El-Rehewy MS, Hassan MA, Abolella H, El-Baky RM. Detection of *icaA*, *icaD* genes and biofilm production by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from urinary tract catheterized patients. *J Infect Dev Ctries*. 2009;3,352-51.

Gandolfi-Decristophoris P, Regula G, Petrini O, Zinsstag J, Schelling E. Prevalence and risk factors for carriage of multi-drug resistant *Staphylococci* in healthy cats and dogs. *J Vet Sci*. 2013;14(4):449-56.

Gemmell CG, Lang S. Coagulase- Negative *Staphylococci* and Their Role in Infection. Tang YW, Susman M, Liu D, Poxto J ve Schwartzman J, editors. *Molecular Medical Microbiology*. 2nd ed. USA: Elsevier; 2015.

Gillaspay AF, Iondolo JJ. *Staphylococcus*. Schaechter M, editor. *Encyclopedia of Microbiology*. 3rd ed. USA: Elsevier; 2009.

Glenny AT, Stevens NF. *Staphylococcal* toxins and antitoxins. *J Pathol Bacteriol*. 1935;40,201-10.

Gortel K, Campbell KL, Kakoma I, Whitem T, Schaeffer DJ, Weisiger RM. Methicillin resistance among *staphylococci* isolated from dogs. *Am J Vet Res*. 1999;60(12):1526-30.

Guardabassi L, Schwarz S, Lloyd DH. Pet animals as reservoirs of antimicrobial resistant bacteria. *J Antimicrob Chemother*. 2004;54:321-32.

Guidry AJ. Mastitis and the Immune System of the mammary gland. Lactation, Larson, Anderson BL, editors. USA: Iowa State Univ. Press; 1985.

Halphin-donhalek MI, Marth EH. *Staphylococcus aureus*: Production of Extracellular Compounds and Behaviour in Foods - A review. *J Food Prot*. 1989;52(4):267-82.

Halpindohnalek MI, Marth EH. Growth and production of enterotoxin-A by *Staphylococcus aureus* in cream. *J Dairy Sci*. 1989;72(9):2266-75.

Heilmann C, Schweitzer O, Gerke C, Vanittanakon N, Mack D, Götz F. Molecular basis of intercellular adhesion in the biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. *Mol. Microbiol*. 1996;20,1083-91.

Heilmann C, Thumm, G, Chhatwal GS, Hartleib J, Uekötter A, Peters G. Identification and characterization of a novel autolysin (Aae) with adhesive properties from *Staphylococcus epidermidis*. *Microbiology*. 2003;149,2769-78.

Hemeg HA. Determination of phylogenetic relationships among methicillinresistant *Staphylococcus aureus* recovered from infected humans and Companion Animals. *Saudi J Biol Sci*. 2021;28(4):2098-2101.

Hoekstra KA, Paulton RJL. Clinical prevalence and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and *Staph. Intermedius* in dogs. *J Apply Microbiol*. 2002;93:406-13.

Huseby M, Shi K, Brown CK, Digre J, Mengistu F, Seo KS, Bohach GA, Schlievert PM, Ohlendorf DH, Earhart CA. Structure and biological activities of beta toxin from *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*. 2007;189(23):8719-26.

- Ihrke PJ. An overview of bacterial skin disease in the dog. *Br Vet J*. 1987;143(2):112-8.
- Ikawaty R, Brouwer EC, van Duijkeren E, Mevius D, Verhoef J, Fluit AC. Virulence factors of genotyped bovine mastitis *Staphylococcus aureus* isolates in The Netherlands. *International J Dairy Sci*. 2010;5:60-70.
- Jans C, Merz A, Johler S, Younan M, Tanner SA, Kaindi DWM, et al. East and West African milk products are reservoirs for human and livestock-associated *Staphylococcus aureus*. *Food Microbiology*. 2017;65:64-73.
- Joklik WK, Willet HP, Amos DB, Wilfet C. *Zinsser Microbiology*. 12th ed. Stamford: Appleton and Lange; 1992.
- Joklik WK, Willett HP, Amos DB. *Slaphyloccus*. *Zinsser Microbiology*. 18th ed. USA: Norwalk, Conn: Appleton-Century-Crofts; 1984.
- Juhász-Kaszanyitzky É, Jánosi S, Somogyi P, Dán Á, Bloois LG, Duijkeren E, Wagenaar JA. MRSA Transmission Between Cows and Humans. *Emerg Infect Dis*, 2007;13(4):630-2.
- Jung N, Lehmann C, Hellmann M, Seifert H, Valter MM, Hallek M, et al. Necrotizing pneumonia caused by Panton-Valentine leucocidin- producing *Staphylococcus aureus* originating from a Bartholin's abscess. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2008;1-5.
- Karahan M, Açık MN, Çetinkaya B. Investigation of toxin genes by polymerase chain reaction in *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis in Turkey. *Foodborne Pathog Dis*. 2009;6(8):1029-35.
- Karahan M. Mastitisli inek sütlerinden izole edilen streptokok ve stafilokok etkenlerinde genetik polimorfizmin araştırılması (Doktora Tezi). Elazığ: Fırat Üniversitesi; 2005.
- Keane KA, Taylor DJ. Slime-Producing *Staphylococcus* species in Canine Pyoderma. *Vet Rec*. 1992;130:75.
- Kim CH, Khan M, Morin DE, Hurley WL, Tripathy D Kehrli MJ, Oluoch AO, Kakoma I. Optimization of the PCR for detection of *Staphylococcus aureus* nuc gene in bovine milk. *J Dairy Sci*. 2001;84(1):74-83.
- Kloos WE, Bannerman TL. Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev*. 1994;7(1):117-40.
- Kloos WE, Jorgensen JH. *Slaphylococci*. Lennette HE, Balows A, Hausler JW, Shadomy CH, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 4th ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 1985.
- Kloos WE, Schleifer KH. Genus IV. *Staphylococcus*. In: Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG, editors. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1986.
- Kloos WE. Systematics and The Natural History of *Staphylococci*. *Soc Appl Bacteriol Symp Ser*. 1990;69:25-37.
- Kot B, Szweda P, Frankowska-Maciejewska A, Piechota M, Wolska K. Virulence gene profiles in *Staphylococcus aureus* isolated from cows with subclinical mastitis in eastern Poland. *J Dairy Res*. 2016;83(2):228-35.

- Kreusokun K, Fetsch A, Kraushaar B, Alt K, Müller K, Krömker V, Zessin KH, Käsbohrer A, Tenhagen BA. Prevalence, antimicrobial resistance, and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from bulk tank milk of dairy herds. *J Dairy Sci.* 2012;95(8):4382-88.
- Kulkarni PR, Barve SS. Heat stability of staphylococcal thermonuclease, *J Health Sci.* 1983;132-38.
- Kumar R, Yadav BR, Anand SK, Singh RS. Prevalence of adhesin and toxin genes among isolates of *Staphylococcus aureus* obtained from mastitis cattle. *World J Microbiol Biotechnol.* 2010;27(3):513-21.
- Kurnaz H. Kedi ve Köpek Kökenli Stafilocok Türlerinde Beta-laktam Direncinin Fenotipik VE Genotipik Karakterizasyonu (Doktora tezi). Bursa: Uludağ Üniversitesi; 2022.
- Kuyucuoğlu Z, Sarıtaş ZK. Identification and Antimicrobial Susceptibility of Microorganisms Isolated from External Ear Canal of Healthy Dogs. *Kocatepe Vet J.* 2010;3(2):19-23.
- Küplülü Ö, Sarımehtemioğlu B, Kaymaz Ş. Pastörize sütlerde ELISA tekniği ile stafilocokal enterotoksin varlığının belirlenmesi. *Turk J Vet. Anim Sci.* 2002;26,631-37.
- Kwon NH, Park KT, Jung WK, Youn HY, Lee Y, Kim SH, Bae W, Lim JY, Kim JY, Kim JM, Hong SK, Park YH. Characteristics of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat and hospitalized dogs in Korea and their epidemiological relatedness. *Vet Microbiol.* 2006;117(2-4): 304-12.
- Lachica RVF, Genigeorgis C, Hoeprich PD. Metachromatic agar-diffusion methods for detecting staphylococcal nuclease activity. *Appl Microbiol.* 1971;21(4):585-87.
- Langevelde P, Dissel JT, Ravensbergen E, Appelmeik BJ, Schrijver IA, Groeneveld PH. Antibiotic-Induced Release of Lipoteicoic Acid and Peptidoglycan from *Staphylococcus aureus*; Quantitative Measurements and Biological Reactivities. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998;42(12):3073-78.
- Lee JC, Bohach GA. Pathogenesis of disease. In: Ala' Aldeen D, Hiramatsu K, editors. *Staphylococcus aureus Molecular and Clinical aspects.* 1st ed. Japan: Horwood, 2004.
- Lenette EH, Balows A, Hausler JWJ, Shadomy JH. *Manual of Clinical Microbiology.* 4th ed. USA: 1985.
- Levinson W, Jawetz E. *Medical Microbiology and Immunology.* 6th ed. Singapore: Lange Medical Books/McGraw-Hill; 2000.
- Lina G, Etienne J, Vandenesch F. Biology and pathogenicity of staphylococci other than *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA, Rood JJ, editors. *Gram Positive Pathogens.* Washington DC: ASM Press; 2000.
- Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis.* 1999;29(5):1128-32.
- Livermore DM. beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1995;8(4):557-84.

- Ljungh A. Staphylococcus, infection and immunity, Delves PJ, Roitt MI editors. Encyclopedia of Immunology. 2nd ed. United Kingdom: Elsevier; 1998.
- Loir YL, Baron F and Gautier M. Staphylococcus aureus and food poisoning. Genet Mol Res. 2003;2(1):63-76.
- Lowy FD. Staphylococcus aureus Infections. N Engl J Med. 1998;339(8): 520-32.
- Lyskova P, Vydrzalova M, Mazurova J. Identification and antimicrobial susceptibility of bacteria and yeasts isolated from healthy dogs and dogs with otitis externa. J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med. 2007;54(10):559-63.
- Maeda H, Yamamoto T. "Pathogenic mechanisms induced by microbial proteases in microbial infections." Biol Chem Hoppe Seyler. 1996;377(4):217-26.
- Malayeri HZ, Jamshidi S, Salehi TZ. Identification and antimicrobial susceptibility patterns of bacteria causing otitis externa in dogs. Vet Res Commun. 2010;34(5):435-44.
- Manian FA. Asymptomatic nasal carriage of mupirocin-resistant, methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in a pet dog associated with MRSA infection in household contacts. Clin. Infect. Dis., 36: 26-28. mec of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. J Bacteriol. 2003;185:2711-722.
- Marraffini LA, Dedent AC, Schneewind O. Sortases and the art of anchoring proteins to the envelopes of Gram-positive bacteria. Microbiol Mol Biol Rev. 2006;70:192-221.
- McCrea KW, Hartford O, Davis S. The serine-aspartate repeat (Sdr) protein family in Staphylococcus epidermidis. Microbiol. 2000;146:1535-46.
- McKenney D, Hübner J, Muller E, Wang Y, Goldmann DA, Pier GB. The ica locus of Staphylococcus epidermidis encodes production of the capsular polysaccharide/adhesin. Infect Immun. 1998;66(10):4711-20.
- Menestrina G, Serra MD, Prevost G. Mode of action of beta-barrel pore-forming toxins of the staphylococcal alpha-hemolysin family. Toxicon. 2001;39(11):1661-72.
- Metiner K, Bağcıgil AF, Ilgaz A. Determination of the diversity and antibiotic resistance profiles of Staphylococcus species from dogs with otitis externa and examination of mecA gene occurrence. Vet Med. 2015;60,(5):261-67.
- Monecke S, Kuhnert P, Hotzel H, Slickers P, Ehrlich R. Microarray based study on virulence-associated genes and resistance determinants of Staphylococcus aureus isolates from cattle. Vet Microbiol. 2007;125(1-2):128-40.
- Moormeier DE, Bayles KW. Staphylococcus aureus biofilm: a complex developmental organism. Mol Microbiol. 2017;104(3):365-76.
- Moreillon P, Que Y, Glauser MP. Staphylococcus aureus (Including Staphylococcal Toxic Shock). Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2005.
- Morgan M. Methicillin resistant Staphylococcus aureus and animals: zoonosis or humanosis. J Antimicrob Chemother. 2008;62(6):1181-87.
- Morgan M. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus and Animals: Zoonosis or Humanosis. J Antimicrob Chemother. 2008;10:1093-105.

- Morgan M. Staphylococcus aureus, Pantone-Valentine leukocidin, and necrotising pneumonia. *BMJ*. 2005;8;331(7520):793-94.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology. 8th ed. Elsevier; 2016.
- Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical Microbiology. 4th ed. St. Louis Missouri: Mosby Inc; 2002. Staphylococcus and related organisms; s.202-16.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Tıbbi Mikrobiyoloji. 6. Baskı. Başustaoğlu A. Ankara: Atlas Kitapçılık; 2010, 209-224.
- Müştak HK, Esendal ÖM. Staphylococcus aureus ekzotoksinleri. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*. 2008;2(1):63-68.
- Müştak HK. Sağlıklı ve Deri Lezyonlu Köpeklerin Derilerinden İzole Edilen Stafilokok Türlerinde Eksfoliyatif Toksin Varlığının Belirlenmesi (Doktora tezi). Ankara Üniversitesi; 2007.
- Nagase N, Sasaki A, Yamashita K, Shimizu A, Wakita Y, Kıtai S, Kawano J. Isolation and species distribution of staphylococci from animal and human skin. *J Vet Med Sci*. 2002;64:245-50.
- Nalça AR. Mastitisli Sığırlardan İzole Edilen Staphylococcus Aureus İzolatlarının Virulens Gen Profillerinin Belirlenmesi (Yüksek lisans tezi). Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi; 2021.
- Navarre WW, Schneewind O. Proteolytic cleavage and cell wall anchoring at the LPXTG motif of surface proteins in gram-positive bacteria. *Mol Microbiol*. 1994;14:115-21.
- Nizet V, Bradley JS. Staphylococcal Infections. Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Nizet V, Maldonado YA, editors. Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant. 7th ed. Philadelphia: Elsevier, 2011.
- Ono HK, Omoe K, Imanishi K, Iwakabe Y, Hu DL ve ark. Identification and characterization of two novel staphylococcal enterotoxin, types S and T. *Infect Immunity*. 2008;76(11):4999-5005.
- Ote I, Taminiau B, Duprez JN, Dizier I, Mainil JG. Genotypic characterization by polymerase chain reaction of Staphylococcus aureus isolates associated with bovine mastitis. *Vet Microbiol*. 2011;153(3-4):285-92.
- Otto M. Staphylococcus aureus toxins. *Curr Opin Microbiol*. 2014;17:32-37.
- Paharik AE, Horswill AR. The Staphylococcal Biofilm: Adhesins, regulation, and host response. *Microbiol Spectr*. 2016;4(2):101-28.
- Peacock SJ. Staphylococcus aureus. Gilgipe SH, Hawkey PM, editors. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. 2nd ed. England: John Wiley & Sons Ltd; 2006
- Pei L, Flock JI. Functional study of antibodies against a fibronectin-binding protein in Staphylococcus epidermidis adherence to polyethylene catheters. *J Infect Dis*. 2001;184,52-5.
- Pereira VC, Hubinger LP, Oliveira a, Riboli DFM, Martins KB, Romero LC, et al. Detection of the agr System and Resistance to Antimicrobials in Biofilm-Producing S. epidermidis. *Molecules*. 2020;25(23):5715.

- Peschel A, Otto M. Phenol-soluble modulins and staphylococcal infection. *Nat Rev Microbiol*. 2013;11,667-73.
- Peschel A, Vuong C, Otto M, Gotz F. The D-alanine residues of *Staphylococcus aureus* teichoic acids alter the susceptibility to vancomycin and the activity of autolytic enzymes. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44(10):2845-47.
- Piccinini R, Borromeo V, Zecconi A. Relationship between *S. aureus* gene pattern and dairy herd mastitis prevalence. *Vet Microbiol*. 2010;145,100-5.
- Prevost G, Mourey L, Colin DA, Menestrina G. Staphylococcal pore-forming toxins. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2001;257,53-83.
- Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC, et al. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 7th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins; 2017.
- Que YA, Moreillon P. *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock Syndrome). Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, editors. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 8th ed. USA: Elsevier; 2015.
- Rachid S, Ohlsen K, Witte W, Hacker J, Ziebuhr W. Effect of subinhibitory antibiotic concentrations on polysaccharide intercellular adhesin expression in biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44,3357-63.
- Rao MB, Tanksale MA, Ghatge SM, Deshpande V. "Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases." *Microbiol Mol Biol Rev*. 1998;62(3):597-635.
- Resch A, Rosenstein R, Nerz C, Gotz F. Differential gene expression profiling of *Staphylococcus aureus* cultivated under biofilm and planktonic conditions. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71(5):2663-76.
- Rich M. Staphylococci in animals: prevalence, identification and antimicrobial susceptibility, with an emphasis on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Br J Biomed Sci*. 2005;62(2):98-105.
- Rohde H, Knobloch JKM, Horstkotte MA, Mack D. Correlation of *Staphylococcus aureus* *icaADBC* genotype and biofilm expression phenotype. *J Clin Microbiol*. 2001;39,4595-6.
- Romeo T. Bacterial Biofilms. Berlin: Springer-Verlag Heidelberg; 2008.
- Rosenbach FJ. Mikro-Organismen bei den Wund-Infections-Krankheiten des Menschen. Wiesbaden: Bergmann VVJF; 1884.
- Ruzauskas M, Siugzdiniene R, Klimiene I, Virgailis M, Mockeliunas R, Vaskeviciute L, & Zienius D. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus haemolyticus* in companion animals: a cross-sectional study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2014;13,56.
- Saïd-Salim B, Dunman PM, McAleese FM, et al. Global regulation of *Staphylococcus aureus* genes by Rot. *J Bacteriol*. 2003;185,610-19.
- Sardel MK, Mckillip JL. Virulence and recovery of *Staphylococcus aureus* relevant to the food industry using improvements on traditional approaches. *Food Control*. 2004;15:5-10.

- Sasaki T, Shimizu A, Kawano J, Wakita Y, Hayashi T, Ootsuki S. Characteristics of *Staphylococcus intermedius* isolates from diseased and healthy dogs. *J Vet Med Sci.* 2005;67:103-6.
- Schleifer KH, Bell JA. Family VIII. Staphylococcaceae fam.nov. De Vos P, Gamity GM, Jones D, Keieg NR, Ludwig W, Rainey Fa, Schleifer KH, Whitman WB, editors. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume III.* 2nd ed. USA: Springer; 2009.
- Shuttleworth RR, Behme RJ, McNabb A, Colby WD. Human isolates of *Staphylococcus caprae*: Association with bone and joint infections. *J Clin Microbiol.* 1997;35:2537-41.
- Şığırcı BD, Kahraman B, Çelik B, Metiner K, İkiz S, Bağcıl AF, Özgür NY, Ak S. Bacterial and Fungal Species Isolated From Dogs With Otitis Externa. *Kocatepe Vet J.* 2018;11(3):260-65.
- Smeltzer MS, Hart ME, Iandolo JJ. Phenotypic characterization of xpr, a global regulator of extracellular virulence factors in *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun.* 1993;61,919-25.
- Smyth DS, Hartigan PJ, Meaney WJ, Fitzgerald JR, Deobald CF, Bohach GA, Smyth CJ. Superantigen genes encoded by the egc cluster and SaPI_{bov} are predominant among *Staphylococcus aureus* isolates from cows, goats, sheep, rabbits and poultry. *J Med Microbiol.* 2005;54,401-11.
- Snowden MA, Perkins HR. Peptidoglycan cross-linking in *Staphylococcus aureus*. An apparent random polymerisation process. *Eur J Biochem.* 1990;191:373-77.
- Srinivasan V, Sawant AA, Gillespie BE, Headrick SJ, Ceasaris L, Oliver SP. Prevalence of enterotoxin and toxic shock syndrome toxin genes in *Staphylococcus aureus* isolated from milk of cows with mastitis. *Foodborne Pathog Dis.* 2006;3(3): 274-83.
- Sur E. Subklinik Mastitisli İnek Sütlerinden Elde Edilen *Staphylococcus Aureus* İzolatlarında Bazı Toksin Genlerinin ve Antibiyotik Dirençliliğinin İncelenmesi (Yüksek lisans tezi). Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi; 2019.
- Sutherland J, Varnam A. Enterotoxin producing *Staphylococcus*, *Shigella*, *Yersinia*, *Vibrio*, *Aeromonas* and *Pleisomonas*. Blackburn CW, McClure PJ, editörs. *Foodborne Pathogens.* Washington DC: CRC Press; 2002.
- Sutra L, Poutrel B. Virulence Factors Involved in the Pathogenesis of Bovine Intramammary Infections due to *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol.* 1994;40(2):79-89.
- Takagi Y, Futamura S, Asada Y. Action site of exfoliative toxin on keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 1990;94,52-543.
- Tanner MA, Everett CL, Youvan DC. Molecular phylogenetic evidence for noninvasive zoonotic transmission of *Staphylococcus intermedius* from a canine pet to a human. *J Clin Microbiol.* 2000;38,1628-631.
- Tavares A, Nielsen JB, Boye K, Rohde S, Paulo AC, Westh H, Schønning K, Lencastre H, Miragaia M. Insights into Alpha-Hemolysin (Hla) Evolution and Expression among *Staphylococcus aureus* Clones with Hospital and Community Origin. *PLoS One.* 2014;9(7):e98634.

- Temiz A. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. 4. Baskı. Ankara: Hatiboğlu Yayınevi; 2008.
- Terauchi R, Sato H, Hasegawa T, Yamaguchi T, Aizawa C, Maehara N. Isolation of exfoliative toxin from *Staphylococcus intermedius* and its local toxicity in dogs. *Vet. Microbiol.* 2003;94(1):19-29.
- Tille PM. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 13th ed. Elsevier, St. Louise; 2014.
- Traber KE, Lee E, Benson S, Corrigan R, Cantera M, Shopsin B, Novick RP. agr function in clinical *Staphylococcus aureus* isolates. *Microbiol.* 2008;154(8):2265-74.
- Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Asya Mikrobiyoloji. 4. Baskı. İzmir: Asya Tıp Kitabevi; 2005.
- Tünger A. *Staphylococcus aureus*. Mikrobiyoloji, patogenezi ve epidemiyoloji. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S, editörler. Gram-Pozitif Bakteri Enfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004.
- Türkel CŞ. Köpeklerin Derilerinden Stafilocok Türlerinin İzolasyonu ve Eksfoliyatif Toksin Varlığının Belirlenmesi (Yüksek lisans tezi). Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi; 2012.
- Van Duijkeren E, Box ATA, Heck MEOC, Wannet WJB, Fluit AC. Methicillin resistant staphylococci isolated from animals. *Vet Microbiol.* 2004;103(1-2): 91-97.
- Vancraeynest D, Hermans K, Haesebrouck F. Genotypic and phenotypic screening of high and low virulence *Staphylococcus aureus* isolates from rabbits for biofilm formation and MSCRAMMs. *Vet Microbiol.* 2004;103(3-4):241-7.
- Vandecasteele SJ, Peetermans WE, Merckx RR, Rijnders BJA, Eldere JV. Reliability of the ica, aap and atlE genes in the discrimination between invasive, colonizing and contaminant *Staphylococcus epidermidis* isolates in the diagnosis of catheter-related infections. *Clin Microbiol Infect.* 2003;9,114-19.
- Vasudevan P, Nair MK, Annamalai T, Venkitanarayanan KS. Phenotypic and genotypic characterization of bovine mastitis isolates of *Staphylococcus aureus* for biofilm formation. *Vet Microbiol.* 2003;92,179-85.
- Vasudevan P, Nair MKM, Annamalai T, Venkitanarayanan KS. Phenotypic and genotypic characterization of bovine mastitis isolates of *Staphylococcus aureus* for biofilm formation. *Vet Microbiol.* 2003;92:179-185.
- Vuong C, Saenz HL, Gotz F, Otto M. Impact of the agr quorum-sensing system on adherence to polystyrene in *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis.* 2000;182,1688-93.
- Waldvogel FA. *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock). Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. New York: Churchill Livingstone; 2000.
- Wang SC, Wu CM, Xia SC, Qi YH, Xia LN, Shen JZ. Distribution of superantigenic toxin genes in *Staphylococcus aureus* isolates from milk samples of bovine subclinical mastitis cases in two major dairy regions of China. *Vet Microbiol.* 2009;137(3-4):276-81.

- Wang X, Wang X, Wang Y, Guo G, Usman T, Hao D, Tang X, Zhang Y, Yu Y. Antimicrobial resistance and toxin gene profiles of *Staphylococcus aureus* strains from Holstein milk. *Lett Apply Microbiol.* 2014;58(6):527-34.
- Wilkinson BJ, Biology. Crossley KB, Archer GL, eds. The staphylococci in human disease. New York: Churchill Livingstone; 1997.
- Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, et al. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Baltimore: Lippincott Williams Wilkins; 2006. Gram-Positive Cocci; s.623-71.
- Yamaguchi T, Nishifuji K, Sasaki M, Fudaba Y, Aepfelbacher M, Takata T, Ohara M, Komatsuzawa H, Amagai M, Sugai M. Identification of the *Staphylococcus aureus* *etd* pathogenicity island which encodes a novel exfoliative toxin, ETD, and EDIN-B. *Infect Immun.* 2002;70(10):5835-45.
- Yüksekdağ ZN, Baltacı N. *Staphylococcus aureus* türlerinde biyofilm ve biyofilm oluşumundan sorumlu genler. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 2013;43(3):77-83.
- Zschöck M, Kloppert B, Wolter W, Hamann HP ve Lämmle CH. Pattern of enterotoxin genes *seg*, *seh*, *sei* and *sej* positive *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. *Vet Microbiol.* 2005;108(3-4):243-49.
- Zschöck M, Riße K, Sommerhauser J. Occurrence and clonal relatedness of *sec/tst*-gene positive *Staphylococcus aureus* isolates of quartermilk samples of cows suffering from mastitis. *Lett Apply Microbiol.* 2004;38,493-98.

ÖZGEÇMİŞ

Veteriner Hekim Rabia Çelik, 20 Aralık 1995'te Gaziantep'te doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Gaziantep'te tamamladı. 2013 yılında 19 Mayıs Lisesi'nden mezun oldu. 2013 yılında kazanmış olduğu Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 2018 yılında mezun oldu. 2018-2020 yılları arasında özel bir veteriner kliniğinde çalışma fırsatı buldu. Eylül 2020'de Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji (Veteriner) Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onay Belgesi

Evrak Tarih ve Sayısı: 29.12.2021-146210



HİZMETE ÖZEL
T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : E-27552122-604.01.02-146210
Konu : Prof. Dr. İsmail Hakkı EKİN'e ait
Araştırma Onay Gerektirmeyen Belge

29.12.2021

Sayın Prof. Dr. İsmail Hakkı EKİN

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 23/12/2021 tarih ve 2021/12-01 sayılı kararı gereği; Yürütücülüğünü yapmayı tasarladığınız, "Köpeklerden İzole Edilen Stafilokokların Bazı Virulens ve Patojenite Faktörlerinin Moleküler Analizi"adlı çalışmayla ilgili, Van YUHADYЕК Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönergenin 6. Maddesinin 8. Fıkrasının m-5 bendinde yer alan "Sürüntü ile örnek alma."hükmü gereğince VAN YUHADYЕК'ten Çalışma ve Araştırma Kesin Sonuç Onay Belgeleri alınmasına gerek olmadığına karar verilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Semiha DEDE
Etik Kurulu Başkanı

Ek: 01 (1 sayfa)

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Doğrulama Kodu :BSC6V156KF Pin Kodu :33352 Belge Takip Adresi : <https://turkiye.gov.tr/ebd?eK=4575&eD=BSC6V156KF&eS=146210>
Adres: Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Zeve
Kampüsü 65080 Tuşba / Van Bilgi için: Mehmet Şah OĞUZ
Telefon No: +90 432 2251701-04 / +90 4445065 Faks No: +90 432 4865413 Unvanı: Şef
e-Posta: yuhadyek@yyu.edu.tr İnternet Adresi: <http://www.yyu.edu.tr> 
Tel No: 29019

HİZMETE ÖZEL

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

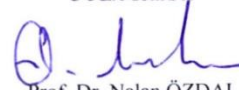
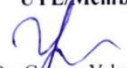
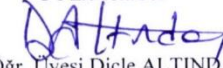
		VAN YÜHADYEK VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
ÇALIŞMA ONAY BELGESİ		
VAN YUZUNCU YIL UNIVERSITY (TURKEY) ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE APPROVAL CERTIFICATE		
Araştırmanın Adı: <i>Research Title:</i>	Köpeklerden İzole Edilen Stafilokokların Bazı Virulens ve Patojenite Faktörlerinin Moleküler Analizi Molecular Analysis of Some Virulence and Pathogenicity Factors of Staphylococci Isolated from Dogs	
Araştırmacı(lar): <i>Investigator(s)</i>	Yürütücü / Chief investigator: Yardımcı Araştırmacı(lar) / Co-investigator(s):	Prof. Dr. İsmail Hakkı EKİN Vet. Hek. Rabia ÇELİK
Araştırmada kullanılacak hayvanlar / Animals to be used in the research:		
Tür / species: Köpek Yaş /Age: Farklı Yaşlarda	Sayı / Numbers: 200 Adet (En Fazla) Cinsiyet / Sex: Hem Erkek Hem Dişi Kullanılacak	
Araştırmanın Öngörülen Başlama Tarihi / Proposed Research Starting Date: Ocak 2022		
Araştırmanın Öngörülen Bitiş Tarihi / Proposed Research Completion Date: Ocak 2023		

Karar:

Yukarıda bilgileri verilen planlanan araştırma projesi için Hayvan Deneyleri Etik Kurul Onayı gerekmemektedir. Tarih: 23/12/2021 Karar No: 2021/12-01

Decision:

The proposed research project detailed above does not need Animal Researches Ethic Committee Approval. Date.: 23/12/2021 Decision number: 2021/12-01

	BAŞKAN/CHAIR  Prof. Dr. Semiha DEDE	
ÜYE/Member Prof. Dr. N. Tuğba BİNGÖL	ÜYE/Member Prof. Dr. Sıddık KESKİN	ÜYE/Member  Prof. Dr. Nalan ÖZDAL
ÜYE Prof. Dr. Atilla DURMUŞ	ÜYE/Member  Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ	ÜYE/Member  Doç. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN
ÜYE/Member  Doç. Dr. Çınar Yılmaz DEMİR	ÜYE/Member  Doç. Dr. Abdulahad DOĞAN	ÜYE/Member  Dr. Öğr. Üyesi Dicle ALTINDAL
ÜYE/Member  Dr. Öğr. Üyesi Şükrü ÖNALAN	ÜYE/Member Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET	ÜYE/Member Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU

Ek 2. Çalışma İzin Belgesi



YYU Evrak Tarih ve Sayısı: 24.05.2021-55672

T.C.
VAN BÜYÜKŞEHİR BELEDİYE BAŞKANLIĞI
Sağlık İşleri Dairesi Başkanlığı

Sayı : E-79007167-155.99-13143
Konu : Örnek Alma İzin Talebi

17.05.2021

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜNE

İlgi : 02.05.2021 tarihli ve 75548883-600.07.01-E.49804 sayılı yazınız

Üniversiteniz Veteriner Fakültesi Klinik Öncesi Bilimler Bölüm Başkanlığı Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. İsmail Hakkı EKİN'in barınaktaki köpeklerden örnek alma talebi uygun görülmüştür.

Bilgilerinize rica ederim.

Nihat ARPA
Başkan a.
Genel Sekreter Yardımcısı

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Doğrulama Kodu: E0MXD5-vaiAi-pEyKFJ-g4LfGF-ePn6tQVG Doğrulama Linki: <https://www.turkiye.gov.tr/ficisleri-belediye-ebys>

Seyit Fehim Arvası Mahallesi Özdemirler Sok. No:5 İpekyolu Van
Telefon No: (432)444 44 65 Faks No: (432)216 20 08
e-Posta: info@vbb.bel.tr İnternet Adresi: <https://vanbel.tr/>
Kep Adresi: vanbuyuksehir@hs01.kep.tr

Bilgi için: Metin ŞÖS
Belediye İşçisi
Telefon No:



1

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
Evrak sorgulaması <https://turkiye.gov.tr/ebd?eK=4575&eD=BSULJ61M8K&eS=55672> adresinden yapılabilir.

Ek 3. Tez Orijinallik Raporu



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



G19 –TEZ ORİJİNALLİK RAPORU

Tez Başlığı / Konusu	Köpeklerden İzole Edilen Stafilocokların Bazı Virulens ve Patojenite Faktörlerinin Moleküler Analizi			
İntihal taraması yapılan bölümler ve sayfa sayıları				
Kapak sayfası	Giriş	Ana bölümler	Sonuç bölümleri	Toplam sayfa sayısı
1	5	21	19	46
İntihal taraması yapılan program			Taramanın yapıldığı tarih	Benzerlik oranı %
Turnitin			16 / 01 / 2023	%10
*Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir: - Kabul ve onay sayfası hariç, - Teşekkür hariç, - İçindekiler hariç, - Simge ve kısaltmalar hariç, - 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words) - Gereç ve yöntemler hariç, - Kaynakça hariç, - Alıntılar hariç, - Tezden çıkan yayınlar hariç,				
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim. Gereğini bilgilerinize arz ederim. Rabia ÇELİK				

Öğrencinin Adı Soyadı	Rabia ÇELİK
Anabilim Dalı	Veterinerlik Mikrobiyolojisi
Öğrenci No	20930001029
Programı	☒ Yüksek Lisans ☐ Doktora
DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR Prof. Dr. İsmail Hakkı EKİN	ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR Doç. Dr. Hamit Hakan ALP