



T.C.

KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İLERİ TEKNOLOJİLER ANABİLİM DALI

**THI-QAR İLİNDE İDRAR YOLU HASTALARINDAN
İZOLE EDİLEN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*'UN
BAKTERİYOLOJİK VE MOLEKÜLER ÇALIŞMASI**

AHMED SABAH MOHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIRŞEHİR / 2022



T.C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İLERİ TEKNOLOJİLER ANABİLİM DALI

**THI-QAR İLİNDE İDRAR YOLU HASTALARINDAN
İZOLE EDİLEN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*'UN
BİYOKİMYASAL VE GENETİK ANALİZİ**

AHMED SABAH MOHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Esin KIRAY

II. DANIŞMAN

Dr. Amran MEZHER

KIRŞEHİR /2022

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

AHMED SABAH MOHAN



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.



ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez çalışmamın planlanması, yürütülmesi ve sonuçların değerlendirilmesinin her aşamasında bilgi, birikim ve deneyimlerini paylaşan ve her türlü yardımı ve desteği esirgemeyen sayın danışman hocalarım Dr. Öğretim Üyesi Esin Kıray ve Dr. Amran Mezher'e büyük bir memnuniyet ve derin minnet duygusuyla teşekkür ederim.

Çalışmalarımın tamamlanmasında yardımını esirgemeyen Bilim ve Teknoloji Enstitüsü Dekanına, Lisansüstü Çalışmalar ve Bilimsel Araştırma Dekan Yardımcısı'na ve çalışmalarım sırasında bize gösterdikleri destek ve sabır için Biyomühendislik ve Genetik Başkanı' na teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmayı gerçekleştirmemde bana yardımcı olan tüm kurum personeline teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

AL-Hussein Eğitim Hastanesi'nde çalışmaya katılan tüm hastalara ve bakteri Laboratuvarı'nın tüm personeline, numunelerin toplanmasında yardımcı oldukları için Sayın Maytham M. Faleih'e en içten teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Benim bu günlere gelmemde büyük emekleri olan maddi ve manevi her zaman yanımda olan annem, babam ve eşime sonsuz sevgilerimi sunarım.

AHMED SABAH MOHAN

İÇERİKLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ.....	V
İÇERİKLER.....	VII
TABLO LİSTESİ	X
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	XIII
ÖZET	XIV
ABSTRACT	XVII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Amaç	2
1.2. Önem	2
2. LİTERATÜR İNCELEMESİ.....	3
2.1. <i>Staphylococcus aureus</i> 'un Tarihsel Arka Planı.....	3
2.2. <i>Staphylococcus aureus</i> 'un Sınıflandırılması	3
2.3. Morfoloji, Genel Kültür ve Biyokimyasal Özellikler.....	4
2.4. <i>Staphylococcus aureus</i> Epidemiyolojisi.....	4
2.5. Patogenez	5
2.6. <i>Staphylococcus aureus</i> 'un Virülans Faktörleri	6
2.6.1. Kapsül.....	7
2.6.2. Yüzey Proteini (Protein A).....	7
2.6.3. Toksinler.....	7
2.6.3.1. Hemolizinler	7
2.6.3.2. Lökositin.....	8
2.6.4. Enzimler	8
2.6.4.1. Proteazlar.....	8
2.6.4.2. Hiyaluronidaz	8
2.6.4.3. Diğer Enzimler	8
2.7. Antibiyotik Direnci.....	8
2.7.1. <i>Staphylococcus aureus</i> 'un Antibiyotik Direnci	9
2.7.2. Metisilin Dirençli <i>S. aureus</i> (MRSA).....	10
2.8. <i>Staphylococcus aureus</i> 'a T Hücre Yanıtı	10

2.9. İdrar Yolu Enfeksiyonları.....	11
2.9.1. İdrar Yolunun Biyolojisi	12
2.9.2. İYE nedir?	13
2.9.3. İYE'lerin Sınıflandırması	14
2.9.4. Tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonu.....	15
2.9.5. İYE'lerin Klinik Belirtileri.....	15
2.9.5.1. Sistit.....	15
2.9.5.2. Üretrit	15
2.9.5.3. Prostatit.....	15
2.9.5.4. Akut ve Kronik Piyelonefrit	15
2.9.5.5. Böbrek İltihabı.....	16
2.9.6. Bakteriüri.....	16
2.9.7. Risk Faktörleri.....	16
2.9.8. İYE Prevalansı ve Epidemiyolojisi	16
2.9.9. İYE'lerin Önlenmesi ve Tedavileri.....	17
3. MATERYAL VE YÖNTEMLER.....	19
3.1. Malzemeler.....	19
3.1.1. Aletler ve Ekipmanlar	19
3.1.2. Kültür Medyası.....	22
3.1.3. Kimyasallar ve Tepkimeler	22
3.1.4. Kitler.....	23
3.1.6. Primerler.....	24
3.2. Yöntemler.....	25
3.2.1. Kültür Ortamlarının Hazırlanması.....	25
3.2.1.1. Kanlı Agar	25
3.2.1.2. Beyin Kalp İnfüzyon Agar	25
3.2.1.3. Mannitol Tuzlu Agar (MSA).....	25
3.2.1.4. MacConkey Agar	25
3.2.1.5. Muller –Hinton Agarı (MHA).....	25
3.2.1.6. Sistein Laktoz Elektrolit Eksik Agar (CLED Agar).....	26
3.2.2.1. Katalaz Reaktifi	26
3.2.2.2. Oksidaz Reaktifi	26
3.2.2.3. Bulanıklık Standardı (McFarland).....	26
3.2.2.4. Tris- Borat -EDTA (TBE)	27
3.2.2.5. Jel Elektroforez Çözeltisi	27
3.2.2.6. Hidroklorik Asit (HCL).....	27

3.2.3. Numunelerin Toplanması	27
3.2.4. Bakteriyel İdentifikasyon	29
3.2.4.1. Stafilokokların Tanımlanması	29
3.2.4.2. Mikroskobik İnceleme	29
3.2.5. Biyokimyasal Testler.....	29
3.2.5.1. Katalaz Testi.....	29
3.2.5.2. Oksidaz Testi.....	29
3.2.5.3. Koagülaz Testi.....	29
3.2.5.4. Deoksiribonükleaz (DNaz) Testi.....	30
3.2.5.5. Novobiyosin Testi	30
3.2.5.6. Üreaz Testi	30
3.2.5.7. Hemoliz Testi	30
3.2.5.8. Staph için Analitik Profil İndeksi (Api - 20 Staph).....	30
3.2.5.9. VITEK®2 Compact Sistem ile İzolatların Tanımlanması.....	31
3.2.6. Bakteriyel İzolatlarının Depolanması.....	31
3.2.6.1. Kısa Süreli Depolama.....	31
3.2.6.2. Uzun Süreli Depolama	31
3.2.7. Antibiyotik Duyarlılık Testi	31
3.2.8. <i>Staphylococcus aureus</i> 'un Moleküler Tayini	32
3.2.8.1. Bakteriyel DNA Ekstraksiyonu.....	32
3.2.8.3. PCR Karışımının Hazırlanması	33
3.2.8.5. PCR Ürün Analizi	35
3.2.9. DNA Dizileme Yöntemi.....	35
3.2.10. İstatistiksel Analiz	35
4. SONUÇLAR	36
4.1. Hasta Sonuçları.....	36
4.1.1. Bakteri Büyümesine Göre Hastaların Dağılımı.....	36
4.1.2. Hastaların Yaşa Göre Dağılımı	36
4.1.3. Hastaların Cinsiyete Göre Dağılımı	37
4.1.4. Hastaların Yerleşim Bölgesine Göre Dağılımı.....	38
4.1.5. Hasta Durumuna Göre Enfeksiyonun Dağılımı	39
4.2. <i>Staphylococcus aureus</i>'un izolasyonu ve tanımlanması	39
4.2.1. <i>Staphylococcus</i> kültürü.....	40
4.2.2. Makroskopik İnceleme	41
4.2.3. Mikroskobik İnceleme.....	41
4.3. Biyokimyasal tanımlama.....	41

4.3.1. Api-20 Sistem Tanımlama.....	43
4.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi	43
4.5. <i>S. aureus</i> 'a Özgü Genlerin Moleküler Tanımlanması	44
4.5.1. <i>S. aureus</i> İzolatlarında <i>spa</i> Geninin Belirlenmesi	45
4.5.2. <i>S. aureus</i> 'ta <i>tst-1</i> Geninin Tespiti	46
4.6. <i>S. aureus</i> Dizileme Analizi.....	47
4.6.1. <i>Spa</i> geni için DNA Dizisi sonuçları	47
4.6.2. <i>tsst-1</i> geni için DNA Dizi sonuçları	50
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	57
7. REFERANSLAR.....	58
8. EKLER.....	72

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 3.1. Çalışmamızda kullanılan laboratuvar cihaz ve ekipmanlar	19
Tablo 3.2. Kültür araçları ve kökenleri	22
Tablo 3.3. Çalışmamızda kullanılan biyolojik ve kimyasal bileşikler	22
Tablo 3.4. Çalışmamızda kullanılan ticari kitler.....	23
Tablo 3.5. Antibiyotik diskler, konsantrasyonları ve menşei.....	24
Tablo 3.6. Nükleotid dizileri ve ürün boyutları ile PCR primerleri	24
Tablo 3.7. Standart PCR karışım protokolü.....	33
Tablo 3.8. <i>Spa</i> geni için PCR termocycler koşullar protokolü	34
Tablo 3.9. PCR termocycler <i>tst-I</i> geni için protokol koşulları	34
Tablo 4.1. Bu çalışmaya dahil edilen İYE hastalarının özellikleri.....	36
Tablo 4.2. Hastaların cinsiyet ve bakteri üremesine göre dağılımı.....	36
Tablo 4.3. İdrar yolu enfeksiyon durumu yaş gruplarına göre değişir.....	37
Tablo 4.4. Yerleşim bölgelerine göre hastalık dağılımı.....	38
Tablo 4.5. Hastalık durumuna göre enfeksiyonun dağılımı.....	39
Tablo 4.6. <i>Staphylococcus aureus</i> izolatlarının biyokimyasal testleri	42
Tablo 4.7. <i>Staphylococcus aureus</i> izolatlarının antibiyogram sonuçları	44
Tablo 4.8. <i>Spa</i> genotipleme sonuçları	45
Tablo 4.9. Çalışmamızda elde edilen <i>S. aureus</i> izolatları arasındaki NCBI-BLAST genetik varyasyon analizi.	48
Tablo 4.10. Yerli <i>S. aureus</i> izolatı <i>tsstI</i> geni ve GENBANK'ta yer alan <i>S. aureus</i> izolatları arasındaki genetik varyasyon analizi	52

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Üriner sistemin şematik görünüşü	13
Şekil 3.1. Bu çalışmada bazı Enstrümanlar kullanıldı: A:Vitek2 compact, B:Nano drop, C: PCR Thermo cyclers, D: UV transilluminator, E: Elektroforez.....	21
Şekil 3.2. İdrar örneklerinin toplanmasının ardından gerçekleştirilen çalışma planı.....	28
Şekil 4.1. Hastaların cinsiyete göre dağılımı	37
Şekil 4.2. Hastalığın yerleşim bölgelerine göre dağılımı	38
Şekil 4.3. Hastalık durumuna göre enfeksiyonun dağılımı	39
Şekil 4.4. Mannitol Salt Agar üzerinde <i>Staphylococcus aureus</i> 'un mannitol fermentasyonu ...	40
Şekil 4.5. Kanlı agarda <i>S. aureus</i> izolatlarının görünümü	40
Şekil 4.6. Işık mikroskobu altında <i>Staphylococcus aureus</i> 'un gram boyama görüntüsü.....	41
Şekil 4.7. Tüp koagülaz testi	42
Şekil 4.8. <i>Staphylococcus aureus</i> katalaz testi için pozitif sonuç	42
Şekil 4.9. <i>Staphylococcus aureus</i> Novobiyosin testi	43
Şekil 4.10. <i>Staphylococcus aureus</i> DNAaz duyarlı	43
Şekil 4.11. Api-20 Sistemine göre <i>Staphylococcus aureus</i> sonuçları	43
Şekil 4.12. <i>Staphylococcus aureus</i> izolatlarının agar disk difüzyon testi	44
Şekil 4.13. Ekstrakte edilen DNA'nın Nanodrop ile konsantrasyonunun ve saflığının belirlenmesi.....	45
Şekil 4.14. İYE hastalarından izole edilen <i>S. aureus</i> izolatlarında <i>S. aureus</i> protein A (<i>spa</i>) geninin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforezi görüntüsü. Markır (100-1500 bç), şerit (1-24): (260-1400 bç) PCR ürün boyutunda pozitif <i>spa</i> geni görüntüsü.....	46
Şekil 4.15. İdrar yolu enfeksiyonu <i>Staphylococcus aureus</i> izolatlarında toksik şok sendromu toksin-1 (<i>tst-I</i>) geninin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforezi görüntüsü. Markır (100-1500bç), PCR 4, 5, 17 ve 18 örneklerinde pozitif <i>tst-I</i> geni (538bç) görüntülenmektedir.....	47
Şekil 4.16. Filogenetik ağaç analizi, genetik ilişki analizi için kullanılan lokal <i>S. aureus</i> izolatlarında immünoglobulin G bağlayıcı protein A (<i>spa</i>) geni kısmi sekansına dayalıdır.	

Filogenetik ağaç, (MEGA 6.0 versiyonunda) Aritmetik Ortalama (UPGMA ağacı) ile Ağırlıksız Çift Grup yöntemi kullanılarak oluşturulmuştur. Yerel *S. aureus* izolatlarının (İYE-IQ.1 ve İYE-IQ.2), toplam genetik değişimde (%0.020-0.060) NCBI BLAST *S. aureus* genetik küme varyant 2 izolatı ile ilgili kapalı olduğu gösterilmiştir.....48

Şekil 4.17. Lokal *S. aureus* izolatlarında ve NCBI-Genbank *S. aureus* ile ilgili izolatlarda immünoglobulin G bağlayıcı protein A (*spa*) geninin çoklu dizi analizi. Çoklu dizi analizi, çevrimiçi ClustalW hizalama aracı kullanılmıştır. Bu hizalama analizi, izolatlar arasında (*) olarak nükleotid hizalama benzerliğini ve immünoglobulin G bağlayıcı protein A (*spa*) genindeki ikame mutasyonlarını göstermiştir.....50

Şekil 4.18. Genetik ilişki analizi için kullanılan lokal *S. aureus* izolatlarında filogenetik ağaç analizine dayalı toksik şok sendromu toksin-1 (*tsst-1*) geni kısmi dizisi. Filogenetik ağaç, (MEGA 6.0 versiyonunda) Aritmetik Ortalama (UPGMA ağacı) ile Ağırlıksız Çift Grup yöntemi kullanılarak oluşturulmuştur. Yerel *S. aureus* izolatları (İYE-IQ.3), toplam genetik değişimde (%0.00050-0.00350) NCBI BLAST *S. aureus* izolatı (MH920611.1) ile ilişkili olarak kapalı gösterildi51

Şekil 4.19. Yerel *S. aureus* izolatı ve NCBI-Genbank *S. aureus* ile ilgili izolatlarda toksik şok sendromu toksin-1 (*tsst-1*) geninin çoklu dizi analizi. Çoklu hizalama analizi (ClustalW hizalama aracı. Çevrimiçi) kullanılarak oluşturulmuştur. Bu hizalama analizi, izolatlar arasında *tsst-1* genindeki (*) nükleotid hizalama benzerliğini ve ikame mutasyonlarını göstermiştir.....52

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
df	Özgürlük derecesi
spa	Stafilokokal protein A geni
µg	Mikro gram
ul	Mikrolitre
tst-1	Toksik şok toksini-1 geni
W/V	Ağırlık / Hacim
°C	Santigrat Derece

Kısaltmalar	Açıklama
API	Analitik Profil İndeksi
Bç	Baz Çiftleri
CA-MRSA	Topluluk – Edinilmiş Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
DNA	Deoksiribonükleik Asit
G	Gram
HA-MRSA	Sağlık hizmetinden edinilen Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
İYE	İdrar Yolu Enfeksiyonları
MEGA6.0	Moleküler Evrimsel Genetik Analizi Sürüm 6.0
Mg	Miligram
NCBI	Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
NITI 1&NITI 2	Nitrare İndirgeme Reaktifi 1 ve 2
PBS	Fosfat Tampon Tuzlu Su
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PVL	Panton-Sevgililer Lökositidin
RPM	Dakikadaki devir sayısı
RUTİ	Tekrarlayan İdrar Yolu Enfeksiyonu
SET	Stafilokokal Enterotoksin
SNPs	Tek Nükleotid Polimorfizmleri
SPSS	Sosyal Bilimler İstatistik Paketi
TBE	Tris baz-Borik asit-EDTA
TSST	Toksik şok sendromu toksini
UV	Aşırı ihlal
UPEC	Üro Patojenik <i>Escherichia coli</i>
İYEs	İdrar yolu enfeksiyonları
VF's	Virülans Faktörleri
VPI&VP2	Voges-Proskauer Reaktifi 1 ve 2
ZYMA&ZYMB	Alkalın fosfataz Reaktifi

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

THI-QAR İLİNDE ÜRİNER SİSTEM ENFESKIYONU OLAN HASTALARINDAN İZOLE EDİLEN STAPHYLOCOCCUS AUREUS'UN BAKTERİYOLOJİK VE MOLEKÜLER ÇALIŞMASI

AHMED SABAH MOHAN

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Bilim ve Teknoloji Enstitüsü

Biyomühendislik ve Genetik Bölümü

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Esin KIRAY

II. Danışman: Dr. Amran MEZHER

İdrar yolu enfeksiyonu (İYE), insanlarda görülen en yaygın bulaşıcı hastalıklardan biridir. Gram pozitif bir bakteri olan *Staphylococcus aureus* İYE' nin en sık görülen etkenlerindendir.

Çalışmamızda İYE hastalarından izole edilen *S. aureus*'un izolasyonu ve identifikasyonu sonrasında, kültürel ve biyokimyasal incelemeler ile moleküler genotiplendirmesi ve genetik varyasyonunu araştırılmıştır. Türlerin idendifikasyonunda API-20 ve Vitek2 kompakt sistemleri kullanılmıştır.

Çalışmamızda, Şubat-Haziran 2021 ayları arasında Güney Irak, AL-Nasiriyah Şehrindeki AL-Hussein Eğitim Hastanesinde İYE şikayeti ile başvuru yapan 200 hastadan alınan idrar örnekleri değerlendirilmiştir. Alınan 200 hasta örneğinin 133'ünde (%66.5) *Staphylococcus aureus* pozitif olarak bulunmuştur.

Suşların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde klinikte sık olarak kullanılan on dört antibiyotik kullanılmıştır. Suşların en yüksek direnç oranları Ampisilin (%100), Sefoksitin (%97.7), Tetrasiklin (%76.6), Klindamisin (7%1.4) ve Trimetoprim-Slfametoksazole (%54.1) olarak belirlenirken Eritromisin (%43.6) ve Doksisiklin (%42.8) olarak tespit edilmiştir. Diğer yandan, test edilen suşlar, Vankomisin ve Novobiyosine karşı yüksek derecede duyarlılık göstermiştir.

İYE hastalarından izole edilen *S. aureus*'un virülans geni olarak (*spa*) geninin varlığını belirlemek için PCR tekniği kullanılmıştır. Tüm *S. aureus* izolatları (n=55), *spa* genine karşı (260-1400 b) %100 oran ile pozitif reaksiyonla amplifiye edilmiştir. Ayrıca, bu genin genotiplenmesinde moleküler boyutu (538 b) olan *tst-1* geni tüm *S. aureus* suşlarının %20' sinde tespit edilmiştir.

Bir DNA dizileme analizi yönteminde, *S. aureus* izolatları (IQ-İYE.1-IQ-İYE.2) ve NCBI-Blast ile ilgili v immünoglobulin G bağlayıcı protein A (*spa*) genindeki genetik varyasyon (ikame Mutasyonları) analizi *S. aureus* izolatı, (IQ-İYE.3) ve NCBI-Blast ile ilgili *S. aureus* izolatı, toplam genetik varyasyon yüzdesi (%0.23) aralığında bir ikame mutasyon bulunmuştur.

Kasım 2021, 94 Sayfa

Anahtar Kelimeler: İYE, *S. aureus*, Moleküler, PCR, Antibiyotik.

ABSTRACT

M.SC. THESIS

BACTERIOLOGICAL AND MOLECULAR STUDY OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATED FROM PATIENTS WITH URINARY INFECTION IN THI-QAR PROVINCE

AHMED SABAH MOHAN

Kirsehir Ahi Evran University

Institute of Sciences and Technology

Bioengineering and Genetics Department

Supervisor: Prof. Dr. Esin KIRAY

II. Supervisor: Prof. Dr. Amran MEZHER

Urinary tract infection (UTI) is one of the most common infectious diseases in humans both in the clinical and community settings. involvement of Gram-positive bacteria cannot be ruled out in relation to UTI. *Staphylococcus aureus* is one of such agents involved in the infection that is capable of invading the urinary tract. Although *S. aureus* accounts to 0.5–6% of UTI.

This study aims to detect the molecular genotyping and genetic variation of *S. aureus* isolated from UTIs patients after its isolation and diagnosis, depending on the cultural and biochemical examinations and confirmation by API-20 and Vitek2 compact systems.

Two hundred clinical (urine) specimens were collected during the period (February to June 2021); from patients who were complained from İYEs at AL-Hussein Teaching Hospital in AL-Nasiriyah City, South Iraq. diagnostic results show that 133 out of the 200 specimens gave positive bacterial cultures as *Staphylococcus aureus*.

According to gender, females recorded the high İYE rates with 136 cases (68%) ($p \leq 0.01$). the antibiotic susceptibility profile for these isolates was examined against Fourteen types of

antibiotics. Highest resistance was recorded against Ampicillin, Cefoxitin, Tetracycline, Clindamycin and Trimethoprim-Sulfamethoxazole with a percentages of (100%), (97.7%), (76.6%), (71.4%), and (54.1%), respectively while Erythromycin (43.6%) followed by Doxycycline (42.8%). On the other hand the tested isolates showed a high degree of susceptibility towards vancomycin and novobiocin.

PCR technique was used to detect the presence of (*spa*) gene as a virulence gene in *S. aureus* isolated from İYE patients.

All *S. aureus* isolates (n=55) were amplified to (*spa*) gene at (1400-260 bç) with a positive reaction of 55 (100%), with note the genotyping of this gene. also, (*tst-1*) gene detected in (20%) of all *S. aureus* isolates with a molecular size of (538 bç).

In a DNA sequencing analysis method , the genetic variation (substit UTI on Mutations) analysis in v immunoglobulin G binding protein A (*spa*) gene between local *S. aureus* isolates (IQ-UTI.1-IQ-UTI.2) and NCBI-Blast related *S. aureus* isolate were find 4 into 5 substitİYEon mutations at total genetic variation percentage ranged (0.84-1.05%).While the genetic variation analysis in toxic shock syndrome toxin- 1 (*tsst-1*) gene between local *S. aureus* isolates (IQ-UTI.3) and NCBI-Blast related *S. aureus* isolate were find one substit UTI on mutation at total genetic variation percentage ranged (0.23%).

November 2021, 94 Pages

Key Words: İYE, *S. aureus*, Molecular, PCR, Antibiotic.

1. GİRİŞ

Staphylococci, iki Yunanca kelime ile adlandırılmıştır: "üzüm salkımı" anlamına gelen staphyle ve karakteristik kümeler halinde düzenlenmesi nedeniyle "küresel bakteri" anlamına gelen coccus (Wang ve *et al.*, 2018). *Staphylococcus* bakterisi ilk olarak 1880 yılında Alexander Ogston tarafından diz kapağı eklemesindeki cerrahi bir enfeksiyondan tanımlanmıştır. Alman doktor Friedrich Julius Rosenbach, organizmaları 1884'te saf kültürde yetiştirmeyi başarmış ve onları renk oluşumlarına göre sınıflandırmıştır (Licitra *et al.*, 2013).

Stafilokoklar Gram pozitif, katalaz pozitif, hareketli olmayan, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerobik koklardır. Ortalama çapı 0.5–1.0 m olan bakteriler; çiftler, dörtlüler veya düzensiz üzümler benzeri kümeler halinde düzenlenir. Bilinen yaklaşık 40 türü vardır ve bunlardan dokuzu iki, biri üç alt türe sahiptir (Doskar *et al.*, 2010).

Stafilokokların sınıflandırılması henüz kapsamlı değildir; yeni türler sürekli olarak keşfedilmekte ve onaylanmaktadır. Bazı üyeler klinikte önemliyken, diğerleri hayvanlarda veya gıdalarda bulunur. Hayvanlarda bulunması nedeni ile de veterinerlik için de önemi olan bir bakteri grubudur. Cinsin üyeleri biyokimyalarına göre koagülaz pozitif stafilokoklar ve koagülaz negatif stafilokoklar olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Koagülaz pozitif stafilokokların en önemli üyesi olan *Staphylococcus aureus* türü stafilokok cinsinin en patojenik üyesi olarak kabul edilir (Turnidge *et al.*, 2008).

Staphylococcus aureus, altın pigment üreten fırsatçı bir patojendir ve stafilokoklar arasında en yaygın insan ve hayvan patojenidir (Markey *et al.*, 2014). Koagülaz testi, *S. aureus*'u koagülaz negatif stafilokoklardan ayırt etmek için en basit laboratuvar yöntemidir, ayrıca *S. aureus*, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tekniği ile de tespit edilebilir veya doğrulanabilir (Becker *et al.*, 2014).

S. aureus suşları hem toplum kaynaklı hem de hastane kaynaklı olarak ayrı ayrı sınıflandırılır (Khan *et al.*, 2015). Her iki tipte de *S. aureus* suşlarının klinik belirtileri, genetik özelliklerine bağlı olarak antimikrobiyal duyarlılık açısından farklılık göstermektedir (Bien *et al.*, 2011). Bu mikroorganizmalar yüzeysel bir enfeksiyondan, yaşamı tehdit eden ciddi enfeksiyonlara kadar değişen spektrumda birçok klinik tabloya yol açabilmektedirler. *S. aureus* ile ilgili hastalıklar minör, lokalize hastalıktan şiddetli sistemik enfeksiyonlara kadar çeşitlilik göstermektedir. Pyomiyozit enfektif deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, endokardit, plöropulmoner enfeksiyonlar, sepsis ve

osteoartiküler enfeksiyonlar (Bassetti *et al.*, 2011; Kechrid *et al.*, 2011) en sık görülen klinik *S. aureus* enfeksiyonlarıdır (Burdette *et al.*, 2012).

Diğer klinik enfeksiyonlar nekrotizan pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları (İYE)'leri (Kreienbuehl *et al.*, 2011), menenjit, epidural apse ve toksik şok sendromudur (Tong *et al.*, 2015). Yüzey proteini, biyofilm, ekzoenzimler, eksotoksinler ve eksfoliyatif toksinler gibi çeşitli olası virülans faktörlerinin oluşturulması hastalığın şiddetine katkıda bulunur. Birden fazla antibiyotik sınıfına karşı direnç kazanma yeteneği, *mecA*, *VanA*, stafilokokal eksotoksinler gibi antibiyotik direnç genlerine ve hastalığın başlamasını, bağışıklıktan kaçınmayı ve konakçıyı kolaylaştıran diğer faktörlere sahip olması nedeniyle *S. aureus*'u tedavi edilmesi zor bir patojen yapar. Ayrıca doku tahribatının yanı sıra toksik bir etkiye neden olan bağışıklık sistemini istila etme yeteneğine de sahiptir (Costa *et al.*, 2013).

İYE'nun, her yıl dünya çapında 150 milyondan fazla insanı etkilediği bilinmektedir. Ayrıca, İYE'ler her iki cinsiyeti de etkilemektedir ancak kadınların enfekte olma olasılığı erkeklerden daha yüksektir. Yaş ve cinsiyet ayırt etmeksizin hemen hemen herkes yaşamı boyunca en az bir kez İYE enfeksiyonu geçirmiştir (Stamm *et al.*, 2001).

1.1. Amaç

1. *S. aureus* ve İYE arasındaki ilişkinin belirlenmesi
2. İYE hastalarından alınan *S. aureus* izolatlarında *spa* ve *tst-1* genlerinin moleküler tespiti.
3. *S. aureus*'un *spa* ve *tst-1* gen bölgelerinde bazı genetik mutasyonların belirlenmesi
4. Bazı antibiyotiklere karşı direnç testleri yoluyla terapötik amaçlar için.

1.2. Önem

Irak'ta var olan suşları ve komşu ülkeler ile dünya arasındaki mevcut suşlardan farkını bulmak.

2. LİTERATÜR İNCELEMESİ

2.1. *Staphylococcus aureus* 'un Tarihsel Arka Planı

Stafilokoklar ilk olarak Koch (1878) ve Pasteur tarafından (1880) tanımlanmış, ancak ilk detaylı çalışmaları Rosenbach ve Ogston adlı iki araştırmacı yapmıştır. İskoç cerrah Sir Alexander Ogston, bir tedavi sırasında cerrahi apseden bakteri kümelerini tespit ettikten sonra, 1881'de *Staphylococcus*'un yara enfeksiyonlarına neden olabileceğini keşfetmiştir. Mikroskop altında kümelenmiş görünümünden sonra ona *Staphylococcus* adı verilmiştir (Licitra G *et al.*, 2013).

Alman bilim adamı Friedrich Julius Rosenbach 1884 yılında, *Staphylococcus aureus*'u tespit etmesinin ardından bu bakteriyi yakından ilişkili olan *Staphylococcus albus* türünden ayırmıştır. Hekimler, 1930'ların başlarında bir *S. aureus* enfeksiyonunun varlığını tespit etmek için bakteri tarafından üretilen bir enzimin belirlenmesini sağlayan koagülaz testini kullanmaya başlamışlardır. 1940' lı yıllardan önce, *S. aureus* enfeksiyonlarında görülen ölüm vakalarının sayısı daha fazla idi ve penisilinin *S. aureus* enfeksiyonlarının tedavisinde etkili olduğu keşfedilmişti. 1940'ların sonunda bu bakteri popülasyonunda penisilin direnci yaygınlaştı ve dirençli suş salgınları meydana gelmeye başladı (Orent W, 2006).

1948' de İngiltere'de bir hastanesinde iyileşen hastalardan izole edilen stafilokok suşlarının % 50' den fazlasının penisiline dirençli olduğu tespit edilmiştir (Barber ve Rozwadowska-Dowzenko, 1948). 1959' da metisilin olarak kullanılan penisilinaz dirençli bir penisilin *S. aureus* 'un tedavisi için sunulmasından bir yıl sonra *S. aureus* izolatının metisiline dirençli olduğu ortaya çıkmıştır (Kim, 2009).

2.2. *Staphylococcus aureus* 'un Sınıflandırılması

Stafilokoklar, Bacteria krallığına, Firmicutes filumuna, Bacilli sınıfına, Bacillales takımına, Staphylococcaceae familyasına ve *Staphylococcus* cinsine ait bakterilerdir (Moroni *et al.*, 2011).

Alan	Bakteriler
Phylum	Firmicutes
Sınıf	Basiller
Sipariş	Basil
Aile	Staphylococcaceae
Cins	<i>Staphylococcus</i>
Türler	<i>S. aureus</i>

2.3. Morfoloji, Genel Kültür ve Biyokimyasal Özellikler

Laboratuvar tanımlaması, kültür ve biyokimyasal incelemelere, koagülaz reaksiyonuna ve tipik morfolojiye, ısıya dayanıklı nükleaz oluşumuna (*S. aureus* için termonükleaz) ve trehaloz ve mannitolün fermentasyonuna bağlıdır. Koagülazın plazmayı pıhtılaştırma yeteneği, *S. aureus*'u *S. epidermidis*'den ayırt etmek ve onu tanımlamak için en yaygın yöntemdir (Brooks *et al.*, 2013). *S. aureus* Gram-pozitif bakteri olup çapı 0.5-1.0 µm'dir. Çiftler halinde, tek tek, kısa zincirli tetradlar, üç veya dört hücreden oluşabilir ve tipik olarak asimetrik üzüm benzeri hücre kümeleri oluşturmak için birden fazla düzlemde bölünerek çoğalabilirler (Götz *et al.*, 2006). Taramalı elektron mikroskobuna göre hücreler yaklaşık olarak küre şeklindedir ve pürüzsüz bir yüzeye sahiptir. Stafilokokların hücre zarına etkili olduğu bilinen dört sitotoksini vardır. Bunlardan alfa, beta, delta ve gama toksinleri hemolizin özelliğindedir. Beta hemolitik streptokoklar, kanlı agar plaklarında üretildikleri zaman kolonilerinin etrafında eritrositlerin tam olarak eritilmesine bağlı olarak şeffaf zonlar oluştururken alfa hemolitik streptokoklar, kanlı agar plaklarında kolonilerin etrafında eritrositlerin tam olarak eritilmemesi sonucu yeşilimsi bir bölge oluştururlar. Bu tür hemolize alfa hemoliz denmektedir. Gama hemolitik (non hemolitik) streptokoklar ise kanlı agarda koloni etrafında herhangi bir hemoliz oluşturmeyen streptokoklardır (Martin *et al.*, 2000).

Hemen hemen tüm *S. aureus* suşları, bakteriyel tanımlamaya da yardımcı olan bir virülans faktörü olan koagülaz enzimi üretmektedir. Organizma tuza toleranslıdır ve %7.5 sodyum klorür içeren mannitol tuzlu agar ortamında büyüebilir (Brown *et al.*, 2005). Voges proskauer, katalaz, nitrat indirgeme, üreaz, metil kırmızısı, jelatin hidrolizi, proteaz, sitrat ve lipaz aktiviteleri için pozitif, oksidaz testi negatiftir (Karmakar *et al.*, 2016).

2.4. *Staphylococcus aureus* Epidemiyolojisi

Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl, hastanelerde yaklaşık 400.000 hasta *S. aureus* ile enfekte olmakta ve bunların yaklaşık 100.000'i enfeksiyonların neden olduğu komplikasyonlardan dolayı hayatlarını kaybetmektedir (Haque *et al.*, 2018). *S. aureus*, tanımlanmasından üzerinden bir asırdan fazla bir süre geçmiş olmasına rağmen halen insanlar için ölümcül bir patojen olmaya devam etmektedir. *S. aureus* enfeksiyonları, hasta bakımındaki sürekli gelişmelere rağmen, hem hastanelerde hem de toplumda yüksek morbidite ve ölümle ilişkilendirilmeye devam etmektedir. Toplumla ilişkili metisiline dirençli *S. aureus* son yirmi yılda daha yaygın hale geldiğinden, *S. aureus* enfeksiyonlarının klinik ve genetik epidemiyolojisi önemli ölçüde değişmiştir (Boucher ve Corey, 2008). 1998 yılından 2005 yılına kadar Amerika Birleşik Devletleri'nde laboratuvar temelli izlemeye, kökeni ne olursa olsun yatarak tedavi gören hastalardan alınan izolatlarda *S. aureus*, tanımlanan en yaygın tür olurken (tüm bakteri izolatlarının %18.7'si) ayakta tedavi edilen hastalardan alınan izolatlarda ise ikinci en yaygın (%14.7) tür olarak bulunmuştur.

2.5. Patogenez

Patogenez, bir mikroorganizmanın hastalığa neden olma yeteneğini ifade etmektedir. Bu, mikroorganizmanın konakçıya girişi, kolonizasyonu ve büyümesini içermektedir (Schjørring *et al.*, 2002). Stafilokoklar her yerde bulunan mikroorganizmalardır ve yetişkinlerin büyük bir bölümünün cildinde de bulunmaktadır. Bununla birlikte, bazı popülasyon grupları, patojenik stafilokok enfeksiyonları açısından daha yüksek risk altındadır (Perez-Roth *et al.*, 2001). Ayrıca stafilokok enfeksiyonları hastanelerde hastane kaynaklı bakteriyeminin ikinci en yaygın nedenidir (Wisplinghoff *et al.*, 2004).

En virülan stafilokok türü *Staphylococcus aureus*'tur ve önemli bir halk sağlığı tehdidi oluşturur (Peacock *et al.*, 2001). *S. aureus*, sağlıklı insanların boğaz ve burun florasında yer almakla birlikte boğaz, burun, göz, deri, kıl kökü, gastrointestinal sistem enfeksiyonlarına, sepsis, osteomyelit ve menenjitte neden olabilmektedir (Taylor ve Unakal, 2018). Burun yolu bakteriyi diğer vücut yüzeylerine ve konakçılara etkili bir şekilde yayabildiğinden, *S. aureus* enfeksiyonlarının yayılımında burun taşıyıcılığı önemli bir yer tutmaktadır (Wertheim *et al.*, 2006). *S. aureus*'un diğer bulaşma yolları ise doğrudan temas, kolonize veya enfekte olmuş bir kişiyle ten tene temas ve kontamine nesneler ve yüzeylerle temastır (Miller ve Diep, 2008; Kazakova *et al.*, 2005).

Spesifik olarak, *S. aureus* ile kolonizasyon veya enfeksiyon riski, yeni doğanlarda, yaşlılarda, genel olarak bağışıklığı baskılanmış kişilerde, diyabetli hastalarda, intravenöz ilaç kullananlarda ve hemodiyaliz uygulanan hastanede yatan hastalarda, sık kateter ve enjeksiyon uygulanan hastalarda, postoperatif cerrahi yaralarda, kronik bronkopulmoner bozukluğu olan hastalarda, edinilmiş immün yetmezlik sendromu olan hastalarda, oldukça yüksektir (Lindsay ve Holden, 2004). Bunların dışında hastane kaynaklı enfeksiyonların önde gelen nedeni olarak belirlenmiştir (Al-Ruaily ve Khalil, 2011). Bakteri, üç türe ayrılabilen geniş bir enfeksiyon yelpazesine neden olabilir: Kutanöz (yara enfeksiyonu), toksinozlar (toksik şok sendromu, gıda zehirlenmesi ve haşlanmış cilt sendromu), pnömoni, bakteriyemi, osteomyelit, beyin iltihabı, endokardit örnekleridir (Al-Ugaili, D, 2013). Stafilokok hastalığının ortaya çıkmasında virülans faktörlerinin aracılık ettiği çeşitli bakteriyel aktiviteler, adezyon, kolonizasyon, hücre-hücre etkileşimleri, immün kaçış ve doku hasarını şeklinde patolojik durumlar açığa çıkmaktadır. İnsanlarda *S. aureus* enfeksiyonları yaygındır, ancak normal konak savunması genellikle onları vücuda giriş noktasında lokalize tutar.

Yapışma hücre dışı peptidoglikan tabakasına “Adhesiv Matriks Molekülleri” olarak bilinen “Mikrobiyal Yüzey Komponentleri” (MSCRAMM)’nin kovalent olarak bağlanması ile epitel hücreleri istila eder (Erdem, 2011). Hayatta kalmanın ardından, büyüme ve enfeksiyon oluşumu, bakterinin konak savunmasından kaçma yeteneğine bağlıdır. Polimorfonükleer lökositler, birincil

konak yanıtına aracılık eden yapışma moleküllerinin ekspresyonu ile endotel hücrelerine çekilir (Verdrengh ve Tarkowski, 1997). Hücre duvarının bileşenleri olan peptidoglikan ve teikoik asitler, sitokinlerin salınmasıyla sonuçlanan sinyal yollarını aktive eder (Fournier *et al.*, 2005). Lokal olarak hareket eden bakteriyel toksinler, lökositleri ve diğer konakçı hücrel faktörleri yok edebilir. *S. aureus* tarafından üretilen toksinler, insan beyaz ve kırmızı kan hücrelerine doğrudan zarar verir. Virulent türler ciddi hastalıklara, hatta ölüme neden olabilir.

2.6. *Staphylococcus aureus*'un Virülans Faktörleri

S. aureus, işlevlerine göre kategorize edilen yapışma, penetrasyon, yüzey proteinleri, enzimler ve toksinler gib çeşitli virülans faktörleri üretir. Bunlardan konakçı doku yapışmasına ve kolonizasyonuna yardımcı olan yüzey proteinleri, kümelenme faktörleri, fibronektin bağlayıcı proteinler ve fibrinojen bağlama özelliklerine sahiptir. Bakteri konak hücreye bağlandıktan sonra konakçı dokularda yayılmasına yardımcı olan hiyalüronidaz, lökositinler ve kinaz gibi enzimler görev alır (Foster *et al.*, 2014). Bakteriye ait karotenoidler ve katalaz gibi çeşitli biyokimyasal özellikler ise konak hücre içinde hayatta kalma şansını artıran virülans faktörlerindendir. Protein A ve koagülaz immünolojik kamuflajda rol alırken, lökositin, hemolizinler ve lökotoxin gibi enzimleri konak hücreler zarlarını parçalama yeteneğine sahip virülans faktörleridir. Bunların dışında konakçı dokulara zarar veren ve hastalık semptomlarının artmasına sebep olan zehir özelliğine sahip çeşitli salgılara sahiptirler (eksfolyatif toksin, enterotoksinler ve "Toksik Şok Sendromu Toksini" (*TSST-1* gen bölgesi) (Jenkins *et al.*, 2015). Antimikrobiyal direnç hem doğuştan hem de sonradan kazanılmış olabilir (Davis *et al.*, 2004). *TSST-1*, *PVL*, *enterotoksin A* ve eksfoliyatif toksinler gibi toksinler bakteriyofaj mobile genetic elements (MGEs) lerinde kodlanmıştır, bu nedenle sadece birkaç tanesinde bulunurlar (Novick *et al.*, 1993).

S. aureus çevresini algılayabilir ve kolonizasyon, yayılma ve enfeksiyon için uygun virülans bileşenlerinin üretimini değiştirebilir (Gravet *et al.*, 2001). Suş tarafından salınan virülans faktörleri, bir suşun belirli bir konakçıya başarılı bir şekilde iletilmesinde rol oynar. *S. aureus*'taki virülans faktörleri çoktur. Bu özellikler organizmanın insanlarda ve hayvanlarda çok çeşitli rahatsızlıklara neden olabilecek bir patojen olarak hayatta kalmasını sağlar.

Virülans faktörleri, patojenlerin konakçı hücrelere yapışmasına, konakçı bağışıklık sisteminin bozulmasına, doku istilasına, sepsis ve toksin aracılı sendromların ortaya çıkmasına yardımcı olur. Bu, önemli bir konakçı immün yanıtının yokluğunda devam eden stafilokok enfeksiyonlarının temelidir (Kim *et al.*, 2016). *Staphylococcus* tarafından üretilen enterotoksinler, düşük moleküler ağırlıklı bakteri protein ailesine ait pirojenik eksotoksinlerdir. Bu proteinler süperantijenler gibi davranarak T lenfositlerinin aktive olmasına ve inflamatuvar sitokinlerin üretilmesine yol açar (Krakauer, 2016).

2.6.1. Kapsül

S. aureus'taki kapsüller polisakkaritler (CP), bakteriyi kompleman bağlanmasından ve müteakip nötrofil fagositik ölümden koruyan virülans faktörleridir, kapsül ayrıca patojeni konağın bağışıklık savunma mekanizmalarından koruyabilir, ayrıca konakçı tarafından üretilen anti-kapsüller antikorlar patojeni opsonize edebildiğinden patojeni riske sokar ve nötrofillerin onu alıp yok etmesini kolaylaştırır (Nanra *et al.*, 2013).

2.6.2. Yüzey Proteini (Protein A)

Bakteri hücre duvar yapısında bulunan Protein A koagülaz pozitif suşlarının bir parçasıdır. Bu protein, *S. aureus* hücre duvarının %7'sini oluşturup, tüm patojenik suşların %95'inden fazlasında bulunur (Greenberg *et al.*, 1990; Pastrana *et al.*, 2018). İmmünoglobulin G (IgG) antikorlarının Fc kısmına bağlanan Protein A, bakterinin insan bağışıklık sisteminden kaçınmasına yardımcı olan önemli bir patojenite faktörüdür. Antikorlar, bu tür bir bağlanma sonucunda fagositik hücrelerle etkileşim için yanlış yöne yönlendirilecek ve koruyucu bir kaplama oluşturulabilecektir (Nair *et al.*, 2000).

2.6.3. Toksinler

Stafilokoklar, çalışma mekanizmalarına göre çeşitli toksinler üretmektedir. Bunlar şunlardır:

2.6.3.1. Hemolizinler

Bakteriyel toksin a-hemolizin, ökaryotik hücrelerin plazma zarında delikler oluşturan ilk keşfedilen toksindir (Oliveira *et al.*, 2018). Alfa toksin (33-kd), çok çeşitli ökaryotik hücre zarları ile etkileşime giren çok işlevli bir proteindir. Bu toksin, güçlü bir hemolizindir ve bakteriyel patojenitede önemli bir faktöre sahiptir. Bu toksin, bir çok hücreye ait plazma membranı ile doğrudan etkileşime girerek, lipid tabakası içine kendini gomer ve iyonların hücre içine ve dışına akmasına izin veren gözenekler oluşturur. Özellikle, potasyum iyonlarının hücre dışına çıkması, sodyum ve kalsiyum iyonlarının ise hücre içine girmesi ozmotik lizise sebep olur. (Bhakdi ve Tranum Jensen, 1991; Swallows, 2014).

Beta toksin insan kırmızı kan hücreleri de dahil olmak üzere çeşitli hücreler için toksiktir. Bu toksinin toksisite derecesi, çift katlı plazma membranının özellikle dış tabakası içinde bulunan, hücre lipidlerinin konsantrasyonlarına bağlı olduğu görülmektedir. Delta toksini biyolojik membranları bozan ve bir çok hücreye sitotoksik etki gösteren küçük bir proteindir. Deterjanlar gibi, çift katmanlı hücre membranı hasarı ile sitolizle sonuçlanan, bir etki gösterir. *S. aureus* ishal hastalığında rol oynayabilir, gama toksini katyonu artırarak beyaz kan hücrelerini parçalama gücüne sahiptir (Brooks *et al.*, 2013). Diğer bir hemolitik etki gösteren toksin Gama toksinidir. Yine aynı şekilde gama toksinler bir çok *S. aureus* suşları tarafından üretilmekte ve metisiline

dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), enfeksiyonu ile ilişkili bulunmuştur (Al-Mebairik *et al.*, 2016).

2.6.3.2. Lökosidin

Bu toksin, insan beyaz kan hücrelerine zarar verebilecek iki bileşen içerir. Beyaz kan hücrelerinde, iki bileşen sinerjik bir şekilde birlikte çalışır. Bu toksin [(Panton-Valentine lökosidin (PVL)] toplumdan edinilen metisiline dirençli *S. aureus*'ta, önemli virülans bileşeni olarak kabul edilir (Wannet *et al.*, 2005).

2.6.4. Enzimler

S. aureus, patojeniteye veya dirençli antibakteriyel ajanlara katkıda bulunan çeşitli enzimler üretir (Harley ve Prescott, 2007). Bu enzimler şunları içerir:

2.6.4.1. Proteazlar

S. aureus, bakteriyel patogenezele ilişkili bir dizi hücre dışı protein üretir (Karlsson ve Arvidson, 2002). Büyümenin üst fazında, hızla hücre dışı proteinlerin çoğu sentezlenir ve daha sonra salgılanır (Murray *et al.*, 2009). Stafilokok proteazların, elastin, insan immünoglobulin sınıflarının ağır zincirleri ve plazma proteinaz inhibitörü gibi çeşitli temel konak proteinlerini in vitro olarak kesip yok ettiği gösterilmiştir. Bu enzimler bakterilerin protein moleküllerini tüketmesini ve metabolizmalarında kullanmak üzere kazeinin (sütteki ana protein) sindirmesini sağlar. (Karlsson ve Arvidson, 2002).

2.6.4.2. Hiyalüronidaz

Bu enzim, bağ dokularının hücresel matrisinde bulunan hyaluronik asidi hidrolize ederek konakçının dokularını yok eder. Bu enzim yayılma faktörü olarak da adlandırılır (Girish *et al.*, 2004).

2.6.4.3. Diğer Enzimler

Stafilokoklar, viskoz DNA'yı hidrolize eden nükleazlar gibi çeşitli enzimler üretir. Bu enzimler termostabildir ve patojenik stafilokok türlerini patojenik olmayanlardan ayıran önemli bir virülans faktörüdür. Tüm *S. aureus* suşları tarafından üretilen stafilokinaz veya fibrinolisin, fibrin pıhtılarını çözme yeteneğine sahiptir (Bokarewa *et al.*, 2006). Ayrıca *S. aureus* izolatları, laktam halkasını hidrolize ederek beta-laktam antibiyotikleri inaktive eden beta laktamazlar üretir. Böylece bakteriler bu tür antibiyotiklere dirençli hale gelir (Brooks *et al.*, 2013).

2.7. Antibiyotik Direnci

İlk antibiyotikler klinik kullanıma sunulduğundan beri, antibiyotiklere karşı bakteriyel direnç bilinmektedir (Chinedum, 2005). Bir mikroorganizmanın ilaçların veya diğer tedavilerin etkilerine

dayanma kabiliyeti direnç olarak adlandırılır. Bakterilerde doğal olarak meydana gelen genetik mutasyon ve doğal seleksiyon sonucunda direnç gelişir. Organizma, antibiyotiği yok etme veya onun varlığında büyüme yeteneğini geliştirebilir. Hastane kaynaklı enfeksiyonlara bağlı antibiyotik direnci, 1940'ların sonlarından beri dünya çapında büyük bir sorun olmuştur. Bu bağlamda hastanelerde elde edilen bakteri suşları ile toplumda edinilen bakteri suşları arasında ayırım yapmak hayati önem taşımaktadır (Zhang *et al.*, 2006). Penisilin direncinin ana mekanizması, beta laktam halkasını hidrolize eden blaZ kodlu-laktamazlar aracılığıyla olmaktadır (Peacock ve Paterson, 2015). Antimikrobiyal direnç aynı zamanda, patojenik bir mikroorganizmanın klinik uygulamada kullanılan bir veya daha fazla kemoterapötik ilaca duyarlılığındaki azalma olarak tanımlanabilir (Elufisan *et al.*, 2012). Stafilokok türlerine karşı kullanılan antibiyotikler, hücre duvarı sentezini, nükleik asit sentezini, protein sentezini ve diğer metabolik süreçleri hedef almaktadır (Allen *et al.*, 2010).

2.7.1. *Staphylococcus aureus*'ün Antibiyotik Direnci

Patojenik *S. aureus*'ün antibiyotiğe dirençli suşları, klinik tıpta küresel bir endişe kaynağı olarak ortaya çıkmıştır (Holden *et al.*, 2013). Penisilin direnci klinik *S. aureus* izolatlarında yaklaşık %100 oranında yaygındır ve özellikle hastanelerde yaygındır. Sonuç olarak, yeni penisilin nesilleri oluşturuldu ve 1960' larda metisilin'in gelişini metisiline dirençli izolatların ortaya çıkması izledi. (Mohammadi *et al.*, 2014).

Kloramfenikol, streptomisin, tetrasiklin ve eritromisin gibi beta-laktam olmayan antibiyotikler de 1960' larda geliştirildi. *S. aureus* direnci başlangıçta etkili olmamasına rağmen hızla gelişti ve birçok yerde hastane salgınları için çok dirençli *S. aureus* suşları gelişti (Suleyman *et al.*, 2018). Çoklu ilaca dirençli *S. aureus* enfeksiyonları, dünya genelinde hastanelerin karşılaştığı en güçlü hastane patojenlerinden biri olarak bilinir (Tiemersma *et al.*, 2004; Khan *et al.*, 2019).

Son on beş yıldır, vankomisin ve teikoplanin gibi glikopeptid grubu antibiyotikler, önemli nozokomiyal MRSA enfeksiyonları için ilk tedavi yöntemi olmuştur. Vankomisine dirençli enterokokların gelişmesinden bu yana, tamamen Vankomisine Dirençli *S. aureus* (VRSA) bekleniyordu. 1996' da Japonya, ilk Vancomycin-Intermediate *S. aureus* (VISA), Mu50.'nin Vankomisin için Minimum İnhibitör Konsantrasyonunun (MIC) 8 µg / ml olduğunu bildirdi (Appelbaum, 2006). Bunu takiben, 1997'de Amerika Birleşik Devletleri'nde VISA'nın izole edildiği ve yayınlandığı klinik vakalar Glycopeptides Intermediate *S. aureus* (GISA) yayınlandı (Cui *et al.*, 2006).

2.7.2. Metisilin Dirençli *S. aureus* (MRSA)

MRSA, çok çeşitli antibiyotiklere karşı direnç geliştirmiş bir bakteridir. Metisilin, yarı sentetik bir penisilindir ve klinik uygulamada ilk kez 1959' da kullanılmıştır. Metisilinın uygulanmasından sadece iki yıl sonra ilk MRSA ortaya çıkmıştır (Livermore *et al.*, 2001). MRSA, yakın zamanda hastaneye yatırılmamış veya invaziv operasyon geçirmemiş hastalarda bir sorun haline gelmiştir. Bu enfeksiyonlara neden olan suşlar toplum kökenli veya toplumla ilişkili suşlar olarak bilinir (Otter ve French, 2010). MRSA, idrar dahil hemen hemen her kaynaktan izole edilebilir ve halen klinik olarak anlamlı bir izolat olarak kabul edilir. MRSA iki tipte sınıflandırılır; toplumla ilişkili MRSA (CA-MRSA) ve sağlıkla ilişkili MRSA (HA-MRSA). HA-MRSA suşları, genetik olarak CA-MRSA suşlarından farklıdır.

Başlangıçta, bu sınıflandırmalar epidemiyolojik ve mikrobiyolojik kriterlere dayanıyordu. Spesifik toksin genlerinin varlığından ayrı olarak, moleküler tiplendirme, metisilin direncinin keşfi ve antimikrobiyal duyarlılık testi için önemli bir özellik haline gelmiştir (Nathwani *et al.*, 2008). MRSA suşlarının çoğunluğunda bulunan PBP2a, β -laktamlar için düşük afiniteye sahip penisilin bağlayıcı bir proteindir (Moellering, 2011). Bu nedenle, PBP2a genellikle dirençli suşlarda ifade edilirken duyarlı suşlarda ifade edilmez. Bu nedenle PBP2a protein, beta laktam direncinin belirlenmesinde kullanılabilecek iyi bir moleküler belirteçtir (Anand *et al.*, 2009).

MRSA suşlarında bulunan *mec A* geni indüklenebilir bir gendir ve büyük moleküler ağırlıklı bir polipeptidi (78-kD) kodlar (Katayama *et al.*, 2004). Bir kromozomal mobil genetik elementin (SCC *mec*) varlığı metisilin direnci ile bağlantılıdır (Saber *et al.*, 2017). 12 ana SCC*mec* çeşidi vardır. Hastane kaynaklı enfeksiyonlar (HA-MRSA) Tip I, II, III, VI ve VIII ile ilişkilidir. Çeşitli antimikrobiyallere karşı direnci kodlayan genler de bulunabilir. *mec A* geni, tip I SCC*mec*' deki tek direnç elemanıdır, ancak *mec A*, tip II ve III elemanlarda da mevcuttur. Beta laktam olmayan antibiyotiklere direncin çok sayıda belirleyicisi vardır. Sonuç olarak, hastane kaynaklı MRSA enfeksiyonlarında çoklu ilaç direnci tip II ve III SCC*mec* bileşenlerinden kaynaklanır. Tip IV SCC *mec* elemanları, tip I gibi direnç genlerine sahip değildir ve tip II ve III'ten çok daha küçüktür. Bu mobil genetik bileşenlerin bakteri popülasyonları arasında daha kolay yayılmasını sağlayan evrimsel bir avantaj olabilir, SCC *mec* tip IV, öncelikle CA-MRSA suşlarında tespit edilmiştir. Daha bulaşıcıdır, daha az dirençlidir ve son on yılda Amerika Birleşik Devletleri ve bazı Avrupa ülkelerindeki salgınlardan sorumlu olmuştur. Tür IX ve X (hayvancılık) ile bağlantılıdır. Diğer türler dünyadaki belirli coğrafi alanlarla sınırlandırılmıştır (Goudarzi *et al.*, 2018).

2.8. *Staphylococcus aureus*'a T Hücre Yanıtı

S. aureus, oldukça büyük bir virülans ajan bulundurması gerektiren fakültatif bir patojendir ve birçok türü bağışıklık sistemi baskılamaktadır (Foster *et al.*, 2005; Foster *et al.*, 2014). Fagositleri

içeren doğuştan gelen bağışıklık sistemi, başta nötrofiller olmak üzere bu bakteriye karşı korumaktan birincil olarak sorumludur ve işlevlerini yerine getirmek için kompleman sistemi ile etkileşime girer (Spaan *et al.*, 2013; van Kessel *et al.*, 2014). T hücrelerinin opsonofagositoz sürecinde iki işlevi vardır; ilk olarak, opsonize edici immünoglobulinlerin üretimi için gereklidirler, çünkü immünoglobulin afinite gelişimi için yardımcı T hücreleri gereklidir (McHeyzer-Williams *et al.*, 2012). İkincisinde, T hücreleri, nötrofiller oluşturarak ve kemik iliğinden enfeksiyon lokalizasyonuna gelerek fagositozu artırır, mikroplar makrofaj fagozomları içinde kaldığı sürece, en belirgin şekilde IFN- γ yoluyla olmak üzere T hücresinin sitokinleri tarafından bakteri eradikasyonuna yardım edilir (Broeker *et al.*, 2014). Ancak, *S. aureus* fagozomdan kaçır ve sitoplazmaya girer, T yardımcı hücrelerinden uzaktırlar. Doğal katil hücreler (NK) hücreleri veya sitotoksik T hücreleri, enfekte olmuş hücreyi parçalamalı ve öldürmelidir (Bröker *et al.*, 2016). *S. aureus*'u serbest bırakmak ve onları yeni bir fagositoz ve ölüm yolculuğu için erişilebilir kılmak için son olarak, T hücreleri, inflamatuvar süreçleri inhibe ederek bağışıklık homeostazını teşvik etmek için önemlidir (Broeker *et al.*, 2014).

Yapılan bazı çalışmalarda, T hücresinden türetilen IL-17 ve IFN- γ 'nın uygunluğuna dair kanıtlar sağlamıştır. Varyant hücre tipleri, IL-17 ailesinin yeni nesil sitokinleri olabilir (Chien *et al.*, 2013; Dong, 2008). IL-17A esas olarak CD4⁺ T yardımcı hücresi 17 (TH17) hücreleri tarafından üretilirken, daha geniş bir hücre yelpazesi IL-17F serbest bırakıldı. Hem antikorlar hem de TH17 hücreleri uyarılmış ve bir dereceye kadar savunma sağlamıştır. (Montgomery *et al.*, 2014).

Doğuştan gelen bağışıklık hücreleri yoluyla IL-22 ve IL-17'nin oluşumunda, *S. aureus*'un nazal taşıyıcılığında kritik olarak hayati öneme sahiptir (Mulcahy *et al.*, 2016; Archer *et al.*, 2013; Archer *et al.*, 2016). Bu nedenle bu sonuçlar, konağın *S. aureus*'a karşı savunmasının, tek başına humoral yanıtlardan ziyade birçok bağışıklık faktörünün müdahalesine ihtiyaç duyabildiğini göstermektedir. HIV hastalarında MRSA yumuşak doku enfeksiyonu (SSTI) oluşumunun artmasının nedeni, *S. aureus*'un azalmış spesifik Th1 bağışıklık sisteminden kaynaklanıyor olabilir (Uday *et al.*, 2016).

2.9. İdrar Yolu Enfeksiyonları

İYE, hem erkeklerde hem de kadınlarda idrar yolunun çeşitli bölümlerini etkileyen yaygın bir bakteriyel hastalıktır. İYE'ler asemptomatik veya semptomatik olabilir ve semptomlar minör boşluk tahrişinden sepsis, bakteriyemi ve ölüme kadar değişebilir (Ranjbar *et al.*, 2016). Hem erkeklerin hem de kadınların enfeksiyona karşı duyarlı olmalarına rağmen, kadınlar anatomileri ve üreme sistemleri nedeniyle erkeklere göre daha duyarlıdır. Alt ve üst idrar yolunu içeren idrar yolu bakteri istilası, enfeksiyonun en yaygın nedenidir.

Sistit, mesane enfeksiyonu anlamına gelen bir terimdir. Bu iltihabi süreç genellikle bakteri kaynaklı bir idrar yolu enfeksiyonu nedeniyle tetiklenir. Sistit enfeksiyonunun böbreklere ilerlemesi halinde piyelonefrit denilen bir idrar yolu enfeksiyonu meydana gelir.

(Lane ve Takhar, 2011). *Escherichia coli*, enfeksiyonların %80-85'ini oluşturan en yaygın bakteri türüdür ve bunu %10-15'ini oluşturan *Staphylococcus* türleri izlemektedir. Ayrıca, bakteri türleri *Proteus*, *Enterococcus*, *Klebsiella* ve *Pseudomonas*, hastalığın bulaşmasında sınırlı bir role sahiptir. İYE, yaş, yerçekimi, parite, hamilelik ve diğer bozuklukların varlığı gibi bir dizi faktörden etkilenir. Üst idrar yolu enfeksiyonları, sık idrara çıkma (poliüri), idrarda kan görülmesi (hematüri), idrarda lökosit görülmesi (piyüri) ve idrar yaparken ağrı (dizüri) ile karakterizedir. *E. coli* enfeksiyonu bu belirti veya semptomların hiçbirine neden olmaz (Davidson, 2006).

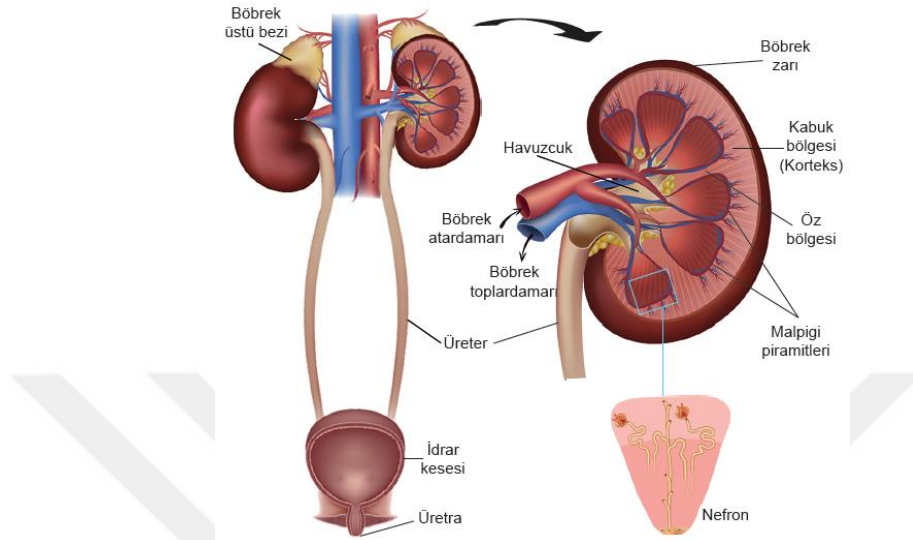
2.9.1. İdrar Yolunun Biyolojisi

Üriner sistem enfeksiyonu, alt ve üst idrar yolları dahil olmak üzere idrar yolunun tüm kısımlarını etkiler ve üreme yapıları nedeniyle kadınlarda daha sık görülür. Enfeksiyon idrar yolunun herhangi bir bölümünü etkileyebileceğinden, idrar yolunun parçaları da dahil olmak üzere tüm idrar sistemi tehlikededir. Üriner sistem, böbrekler, renal arter, ven, mesane, üreter ve üretra gibi idrar yolunun çok sayıda elemanından oluşur.

Böbrekler, kritik düzenleyici faaliyetler sağladığı bilinen son derece önemli organlardır. Bunlar doğal filtreler olarak işlev görür, suda çözünmeyen istenmeyen atıkları kan dolaşımından uzaklaştırır, ayrıca amino asitler, su ve glikoz gibi önemli elementlerin yeniden emilmesini sağlar. İdrar, böbrekler tarafından üretilir ve dar tübüler bir yapı olan üreter yoluyla idrar kesesine gönderilir. Kan renal artere girer ve renal ven yoluyla salınır. Bir renal arter, yiyecekleri böbreklere ve böbrek atılımlarına taşır, böylece yiyecekler, hücrelerinin hayatta kalması için kullanılır ve atıkları bertaraf edilir (Jarrell *et al.*, 2015).

Mesane, idrarı atmadan önce böbreklerden toplayan esnek, kaslı bir yapıdır (Drake *et al.*, 2017). İdrar kesesi ve cinsel organları birleştiren üretra, toplanan suda çözünür atıkları idrar şeklinde cinsel organlardan dışarı atar. İdrarın üretilmesi ve atılması sistematik bir süreçtir ve idrar yolu enfeksiyonunun üzerinde önemli bir etkisi vardır ve bu da hastanın hastalık sırasında yaşayabileceği çeşitli semptomlara neden olur. Basitçe söylemek gerekirse, idrar yolu enfeksiyonu, idrar yolunu işgal eden ve mesane enfeksiyonuna neden olan enfeksiyöz organizmalardan kaynaklanır, ancak kontrol edilmezse böbrek anormallikleri böbrek hasarına neden olabilir. Alt ve üst idrar yolları, üriner sistemin yapılandırılmış çalışmasından sorumludur

ve idrar oluşumundan atılmasına kadar çeşitli düzenleyici faaliyetleri yürütmektedirler. Enfeksiyona sebep olacak bir patojen genellikle üretra yoluyla idrar yoluna girdiğinde ortaya çıkar. Kadınların üretraları erkeklerinkinden (8 inç) daha kısa olduğundan, kadınlarda idrar yolu enfeksiyonu görülme oranı daha yüksektir ve idrar yolu enfeksiyonlarına karşı daha savunmasızdır (Zozaya *et al.*, 2016).



Şekil 2.1. Üriner sistemin şematik görünüşü

2.9.2. İYE nedir?

İdrar steril ve mikropsuz olarak kabul edilir. Üretra, akla gelebilecek herhangi bir enfeksiyonun giriş noktasıdır. Viral veya fungal ajanların neden olduğu enfeksiyon oldukça nadir bir olaydır. *E. coli*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus* ve *Pseudomonas* İYE ile bağlantılı bakteriler arasındadır. Mikroorganizmalar üretra yoluyla mesaneye girer ve enfeksiyon kan ve lenfatik sistem yoluyla da yayılabilir.

E.coli ve *S. saprophyticus* gibi organizmalar, genel popülasyonda enfeksiyonla ilişkilendirilmiştir. *Klebsiella*, *Proteus* ve *Enterococcus*'tan farklı olarak *Enterobacter*'in sporadik sistit ve piyelonefrite neden olduğu bilinmektedir. İYE'lere neden olan bakteriler, dayanıklılıkları ve antibiyotik dirençleri ile tanınır. Ayrıca fenotipik ve genotipik özellikleriyle de tanınırlar, bu da onları enfeksiyon bulaşması için güçlü rakipler yapmaktadır. Yaş, diyabet, uzun süre hastanede yatan hastalar ve kullanılan kateter, idrar sondası gibi tıbbi ekipmanlar dikkate alınması gereken faktörlerdir. Bakterinin konak hücreye girişinden itibaren, bağışıklık tepkisine direnen ve bakteriyel enfeksiyonun birincil nedeni olan bir biyofilm oluşur. *S. aureus*'un neden olduğu İYE'lerin genellikle kan yoluyla bulaşan hastalıkları takiben ikincil bir enfeksiyon olduğu düşünülür (Lane ve Takhar, 2011).

Semptomatik ve asemptomatik İYE'ler semptomların varlığı veya yokluğu ile ayırt edilir. Semptomatik, hastanın semptomlar yaşadığı bir durumu ifade ederken, asemptomatik, hastanın semptom yaşamadığı bir durumu ifade eder. Her iki durumda da idrarda önemli miktarda bakteri olacaktır. Hamilelik sırasında, semptomatik veya asemptomatik bakteriürinin varlığını göstermek için 10^5 ila 10^6 arasında bir sayının yeterli olduğu kabul edilmektedir (Harding *et al.*, 2002). Uzmanlara göre gerçek bakteriüri, iki ardışık temiz idrar örneğinde 100.000 bakteri/ml veya tek bir orta akım idrar örneğinde aynı değer olarak tanımlanmaktadır (Smill *et al.*, 2007).

2.9.3. İYE'lerin Sınıflandırması

Enfeksiyonun idrar yolunun birden fazla bölgesini hedef aldığı ve bunun sonucunda hem alt hem de üst idrar yollarında enfeksiyona neden olduğu düşünülmektedir. Enfeksiyon bölgesine bağlı olarak enfeksiyona bir ad verilir. Üretrit ve ureterit, sırasıyla üretra ve ureter enfeksiyonlarının terimleridir. Sistit ve pilonefrit ise sırasıyla mesane ve böbrek enfeksiyonlarıdır.

Sistit sık görülen bir enfeksiyondur, ancak böbrek yetmezliğine bağlı enfeksiyon ciddi bir endişe kaynağıdır. Sonuç olarak, mesane ve üretra enfeksiyonuna alt idrar yolu enfeksiyonu, böbrek ve ureter enfeksiyonuna ise üst idrar yolu enfeksiyonu denmektedir. İYE'ler genel olarak enfeksiyona neden olan nedenlere ve oluşma sıklıklarına göre sınıflandırılır. Tüm bu faktörler dikkate alındığında, İYE'ler aşağıdaki gibi kategorize edilebilir:

I. Komplike veya komplike olmayan (enfeksiyonun kaynağına bağlı olarak).

II. Birincil veya tekrarlayan (olayın doğasına göre).

Komplike ve komplike olmayan idrar yolu enfeksiyonu: Bunların bir sonucu olarak, kadınların bakteriyel enfeksiyona yakalanma olasılığı erkeklerden daha fazladır. Alt ve üst idrar yollarını etkileyen mesane ve böbrek enfeksiyonlarına neden olan sistit ve piyelonefrit gibi hastalıkları içermektedir. Komplike idrar yolu enfeksiyonu ise her yaşta kadın ve erkeği etkileyebilir ve ilerleyen durumlarda ölümcül olabilir. Ayrıca bu enfeksiyonlar karmaşıktır, tedavisi zordur ve uzun sürebilir. Komplike idrar yolu enfeksiyonları, üriner sistemin idrarı dışarı atma yeteneğini bozan yapısal anormalliklerle sonuçlanabilir. Bu durum bakterilerin daha kolay çoğalmasına izin verir, çünkü idrar bakteriler için iyi bir büyüme ortamıdır. İdrar yolu enfeksiyonu olan kişiler, sık sık enfeksiyon kaynağı olan idrar sondası gibi tıbbi ekipmanlara sıklıkla maruz kalmaktadır. Komplike idrar yolu enfeksiyonunun diğer nedenleri arasında mesane ve böbrek fonksiyon bozukluğu ile böbrek nakli yer alır. Böbrek naklini takip eden ilk üç ay kritiktir ve hastada enfeksiyon gelişme riski oldukça yüksektir (Ranjbar *et al.*, 2016).

2.9.4. Tekrarlayan İdrar Yolu Enfeksiyonu

Tekrarlayan İYE, daha önce İYE enfeksiyonu geçiren kadınlar arasında görülen bir durumdur (Griebing, 2007). Yeniden enfeksiyonlar, en ciddi İYE türleridir ve hasta birkaç hafta antibiyotik kullandıktan sonra ortaya çıkar. Nüks, tedavi başarısızlığının bir sonucu olarak ortaya çıkan ve hastayı önceki enfeksiyondan sonraki iki hafta içinde etkileyen daha az yaygın tekrarlayan İYE türüdür. İYE nüksüne genellikle hem erkeklerde hem de kadınlarda böbrek yetmezliğine, böbrek taşlarına ve morfolojik anomalilere yol açabilen piyelonefrit eşlik eder (Vahlensieck *et al.*, 2016).

2.9.5. İYE'lerin Klinik Belirtileri

2.9.5.1. Sistit

Dizüri, abdominal rahatsızlık, idrar sıklığı ve idrara çıkma aciliyeti semptomlarının varlığı, düşük İYE sistiti olarak kategorize edilmektedir. Bakteriyel enfeksiyonun bir sonucu olabilen mesane iltihabıdır (Mansour *et al.*, 2009). Tipik semptomlar; sıklıkla idrara çıkma, idrara çıkma sırasında ağrı, ateş, alt karın ağrısı ve idrarda kan bulunmasıdır. İdrarın bulanıklaşması veya kötü kokması da mümkündür. Genç kadınların akut komplike olmayan sistit geçirme olasılığı daha yüksek olup erkeklerde ve çocuklarda da görülebilmektedir. Aniden ortaya çıkar ve genellikle bakteriüri ve piyüri ile bağlantılı ciddi semptomlara neden olur (Latif, 2004).

2.9.5.2. Üretrit

İdrarı mesaneden vücudun dışına taşıyan tüp olan üretranın iltihaplanmasıdır. Her iki cinsiyette, erkek ve kadın hastalarda sık görülür ve genellikle İYE veya bakteriyel prostatit ile bağlantılıdır. Erkeklerde üretrit en yaygın nedeni cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlardır ve üretral akıntı ile ilişkilidir (Naber *et al.*, 2009).

2.9.5.3. Prostatit

Prostatit, bazıları enfeksiyon içeren çeşitli biçimler alabilen prostat bezinin iltihaplanmasıdır. Artan üretral enfeksiyon, enfekte idrarın arka üretraya boşalan prostat kanallarına geri akışı ve hematojen yayılım, doğrudan yayılma veya lenfatik yollarla rektal bakterilerin istilasını prostatı enfekte etmenin çeşitli yollarıdır (Khan *et al.*, 2017). Ateş, dizüri, perine ağrısı, bel ağrısı, titreme, zayıf idrar akışı ve idrar yapma güçlüğü, akut bakteriyel prostatitin semptomlarıdır. Prostat büyümüşür ve muayenede ağrılıdır. Tekrarlayan İYE geçiren erkeklerde kronik bakteriyel prostatitten şüphelenilmelidir. Tekrarlayan İYE antibiyotik tedavisine rağmen prostat salgılarında canlı kalan mikroorganizmaların gelişmesi sonucu oluşmaktadır (Latif, 2004).

2.9.5.4. Akut ve Kronik Piyelonefrit

Akut komplike olmayan piyelonefrit, böbrek ve komşu dokuların iltihaplanma sürecidir. Karın ağrısı, ateş, titreme, baş ağrısı, bulantı, kusma, halsizlik durumlarında piyelonefritten

şüphelenilmelidir (Johnson ve Russo, 2018). Erişkinlerde akut sistit ve akut piyelonefrit basit İYE örnekleridir. Bu İYE'ler çoğunlukla kadınlarda görülür. Kronik piyelonefrit sıklıkla idrar yolu tıkanıklığı, bağışıklık sisteminin baskılanması ve diyabet ile bağlantılı olabilmektedir (Bodro *et al.*, 2018). Tedavi edilmeyen İYE, geçici böbrek yetmezliği, hematolojik anormallikler ve orta düzeyde solunum yolu hastalıkları gibi ciddi sonuçlara yol açabilen piyelonefrit riskini artırmaktadır (Quaia *et al.*, 2018).

2.9.5.5. Böbrek İltihabı

Böbrek iltihabı, böbrek naklinden sonraki ilk üç ayda en sık görülen hastalıklardan biridir ve sıklığı %10-98 arasında değişmektedir. Asemptomatik bakteriüri, allogreft iltihabı ve septik şok olası komplikasyonlardır. Vakaların %75'inden fazlasında Gram negatif bakteriler sebep olmaktadır ve en yaygın olanı *E. coli*'dir (Assimakopoulos *et al.*, 2018).

2.9.6. Bakteriüri

İdrarda bakteri bulunması durumudur. Bir İYE mikroorganizmaların varlığından gelen belirti ve semptomların yanı sıra inflamatuvar bir yanıt ile karakterizedir. Özellikle yaşlılarda asemptomatik olabilmektedir (Nicolle *et al.* 2019). Bakteriüri prevalansı, genitoüriner sistemde anatomik veya fonksiyonel sorunları olan popülasyonlarda son derece yüksek olabilir, ancak sağlıklı insanlarda bile sıklıkla idrar kültürü pozitif olabilmektedir (Naber *et al.*, 2009). Pirüri olarak bilinen idrarda beyaz kan hücreleri bulunabilir. Bakteriyel enfeksiyon kaynaklı inflamasyonun bir göstergesidir (Griebing, 2007).

2.9.7. Risk Faktörleri

Kadınlarda görülen bakteriüri hastalığı asemptomatik olabileceğinden, İYE komplikasyon riski daha yüksektir (Al-Badr ve AlShaikh, 2013). Gebelik, diyabet, ileri yaş, fonksiyonel yetersizlik, multipl skleroz, omurilik yaralanması, edinilmiş immün yetmezlik sendromu olan hastalar, kateter kullanımı olan ve ürojinekolojik cerrahi öyküsü olan hastalar tekrarlayan İYE için risk faktörleridir. İYE (Foxman, 2002).

2.9.8. İYE Prevalansı ve Epidemiyolojisi

İYE'ler, yıllık küresel olarak tahmini 250 milyon vaka insidansı ile az gelişmiş ülkelerdeki klinisyenlerin karşılaştığı en yaygın bulaşıcı enfeksiyonlardan biridir (John *et al.*, 2016). İYE hastalığının prevalans ortalaması ve epidemiyolojisi hastanın yaşı, cinsiyeti, ırkı ve sünnet olma durumuna göre sınıflandırılmaktadır (Zorc *et al.*, 2005). Epidemiyolojik çalışmalar, İYE'lerin prevalansının ve sonuçlarının ırka göre değiştiğini öne sürse de, İYE tüm ırklardan insanları etkiler. İYE, beyaz insanlarda diğer ırklardan daha yaygındır. Ayrıca cinsiyet İYE'de önemli bir

rol oynar. Yaşamın ilk yılında erkeklerin kızlardan daha yüksek bir İYE oranı vardır, ancak daha sonraki yıllarda kızların İYE oranı daha yüksektir.

İYE'ler doğası gereği iki modludur, yaşamın ilk yılında yükselir ve daha sonra ergenlik döneminde azalır. Genç erkeklerde sabit kalırken, ergenlik döneminde genç kadınlarda İYE insidansı çarpıcı biçimde artar. Kızlarda İYE oranları altı yaşından sonra düşer, ancak daha sonra cinsel aktivite arttıkça ergenlik döneminde çarpıcı bir şekilde yükselir (Sawalha, 2009).

2.9.9. İYE'lerin Önlenmesi ve Tedavileri

İnsanları İYE'nin risk faktörleri ve patojenleri hakkında bilinçlendirme konusunda eğitmek, hastalığın önlenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. İdrarın seyreltilmesi için yeterli sıvı alımı, uygun kişisel hijyenin sağlanması, mesanenin tamamen boşaltılması gibi uygulanabilecek basit yöntemler ile kolonizasyonun İYE'ye ilerlemesi önenebilir (Andersen, 2019).

Doğal uygulamalar arasında narenciye suyu, idrar asitleştirici olarak kullanılabilir, kızılçık ve yaban mersini gibi meyveler ve bunların özleri, tekrarlayan İYE enfeksiyonları ve bakteriüri olan kadınların semptomlarının azaltılmasına yardımcı olabilmektedir. Bu meyvelerde bulunan bileşenlerin, bakterinin üroepitelyal hücrelerine bağlanmasını önlediği ve enfeksiyonun ilerlemesini engellediği görülmüştür (Jepson *et al.*, 2013).

Dünya çapında artan dirençli üropatojen sorunu, İYE'lerin hem tedavisi hem de önlenmesi için diğer antimikrobiyal olmayan tekniklerin geliştirilmesini gerektirmektedir. İYE'leri önlemek için tanınan antibakteriyel ilaçlarla ilgili ön kanıtlar mevcuttur. Tekrarlayan İYE'si olan kadınlarda, üropatojenlerin üroepitelyal hücrelere yapışmasını önleyip engelleyemeyeceğini görmek için bir anti-*E.coli* aşısı test edilmiştir (Sihra *et al.*, 2018). *Lactobacillus* içeren vajinal probiyotiklerin normal vajinal florayı düzeltmeye ve tekrarlayan İYE'leri azaltmaya yardımcı olduğu gösterilmiştir (Reid ve Bruce, 2006). Probiyotik açısından zengin fermente süt ürünlerinin tüketimi daha düşük idrar yolu enfeksiyonu riskiyle ilişkilendirilmiştir (Kontiokari *et al.*, 2004). Tam doz tedavi yöntemi ile bakteriüri eradikasyonunu takiben profilaksi başlanmalıdır. Kadınlarda semptomatik enfeksiyon ataklarını önlemek için cinsel ilişkiden sonra profilaktik tedavi uygulanmalıdır (Matulay *et al.*, 2016).

Sağlıklı erişkin gebe olmayan kadınlarda akut komplike olmayan bakteriyel sistit için önerilen birinci basamak ampirik antibiyotik tedavisi 5 günlük nitrofurantoin, 3 g tek doz fosfomisin trometamin veya 5 günlük pivmecillinam tedavisidir. Trimetoprim-sülfametoksazol ve siprofloksasine karşı yüksek direnç oranları, özellikle bunlara yakın zamanda maruz kalmış veya geniş spektrumlu β -laktamaz (ESBL'ler) enfeksiyon riski taşıyan hastalarda, çeşitli topluluklarda İYE'lerin ampirik tedavisi olarak kullanılmalarını engellemektedir Enterobacterales üretir. İkinci

basamak seçenekler arasında sefaleksim veya sefiksim gibi oral sefalosporinler, florokinolonlar ve amoksisilin-klavulanat gibi β -laktamlar bulunur. Amp C- β -laktamaz üreten Enterobakterilere bağlı İYE'ler için mevcut tedavi seçenekleri nitrofurantoin, fosfomisin, pivmesilinam, florokinolonlar, sefepim, piperasilin-tazobaktam ve karbapenemleri içerir (Bader *et al.*, 2020).



3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1. Malzemeler

3.1.1. Aletler ve Ekipmanlar

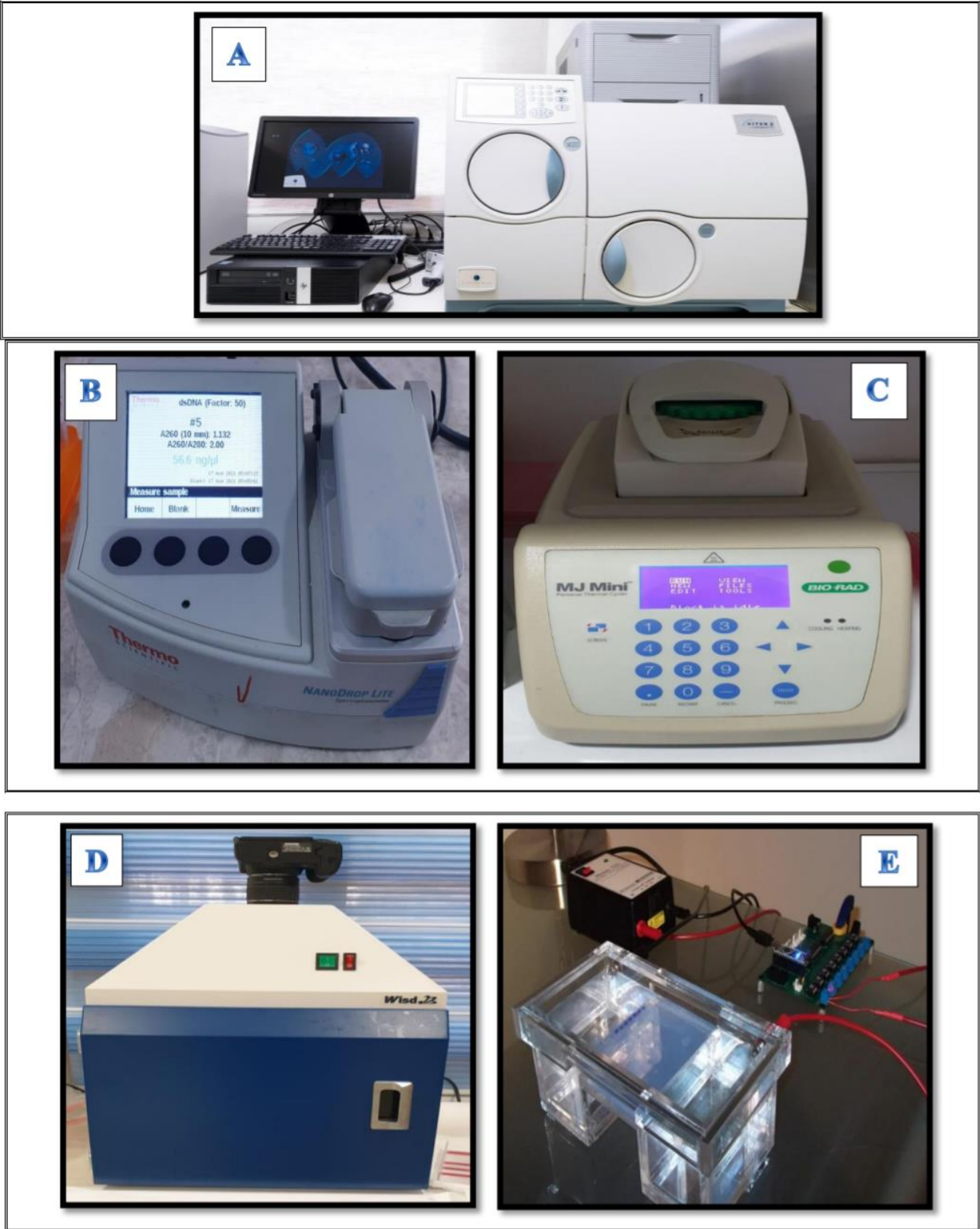
Çalışmamızda kullanılan cihazlar ve ekipmanların listesi Tablo 3.1’de ve bazı cihazların görüntüleri Şekil 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmamızda kullanılan laboratuvar cihaz ve ekipmanlar

Numara	Cihazlar ve ekipmanlar	Şirket / Menşei
1	Otoklav	Rayapa / İspanya
2	Otomatik Mikropipetler (1-10 µl, 1-20 µl, 10-100 µl, 100-1000µl)	Gibson/ Fransa
3	Benzen brülörü	Naugra / Hindistan
4	Vorteks karıştırıcı	Bilimsel Endüstriler/ ABD
5	Pamuklu çubuklar	Unolok / İngiltere
6	Dijital kamera	Sony / Japonya
7	Elektrikli davlumbaz odası	Laboratuvar Ağı /ABD
8	Elektroforez	Bioneer / Kore
9	Eppendorf tüpleri	BioBasic/ Kanada
10	Yüz maskesi	ESG /Çin
11	Filtre kağıdı	Çin
12	Cam gözlük	Pyrex / İngiltere
13	Eldivenler	Çin
14	Yüksek hızlı soğuk santrifüj	LabNet / ABD
15	Sıcak plaka manyetik karıştırıcı	Takashima / Japonya
16	Kuluçka makinesi	Karbolit / ABD
17	Işık mikroskobu	Olimpos / Japonya
18	Mikroplaka	Afco / Ürdün
19	Mikroskop slaytları	Japonya
20	Milipor filter	ABD
21	Nano damla	Termo / ABD
22	Nicrome döngü tutucu	KD /Hindistan
23	Fırın	Ecocell / Almanya
24	Petri kapları	steril / Ürdün
25	pH ölçer	Jenway / Almanya
26	Plastik kap	Çin
27	Pipet Ucu Rafı	Afco / Ürdün
28	Buzdolabı	Profilo / Türkiye
29	Makas	Kore
30	Hassas elektrik dengesi	Ohaus / Çin
31	Şırınga (5, 10) ml	Çin
32	Plastik test tüpleri (10 ml)	Afco/ Ürdün
33	Termocycler T100	BioRad / ABD
34	Tüp sporu, PCR Santrifüjü	P-ABC/ ABD
35	UV transillüminatör	bilge/Kore
36	Vorteks	Talboys/ ABD

37	Vitek 2 kompakt	BioMerieux / Fransa
38	Su banyosu	Polisbilim / ABD
39	Su damıtma cihazı	GFL / Almanya
40	Tel döngü	Himedia / Hindistan





Şekil 3.1. Çalışmamızda kullanılan bazı cihazlar A:Vitek2 compact, B:Nano drop, C: PCR Thermo cycler, D: UV transilluminator, E: Elektroforez

3.1.2. Kùltür Medyası

Çalışmamızda bakterilerin üretilmesinde kullanılan kùltür ortamları Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2. Kùltür ortamları ve kökenleri

	Kùltür ortamları	Şirket / Menşei
1	Kanlı agar tabanı	Oksoid / İngiltere
2	Beyin kalp infüzyon agar	Oksoid / İngiltere
3	Beyin kalp infüzyon suyu	Rashmi Kazı./ Hindistan
4	CLED ağarı	CDH / Yeni Delhi
5	Muller-hinton ağarı	Biomark / Hindistan
6	mannitol tuzlu agar	Biomark / Hindistan
7	MacConkey ağarı	Himedia / Hindistan
8	Besin ağarı	LAB / İNGİLTERE
9	Staph.medium No.110	Oksoit / İngiltere

3.1.3. Kimyasallar ve Tepkimeler

Çalışmamızda kullanılan kimyasal bileşikler, reaktifler ve üreticileri firmaları Tablo 3.3’de verilmiştir.

Tablo 3.3. Çalışmamızda kullanılan biyolojik ve kimyasal bileşikler

	Kimyasallar	Şirket / Menşei
1	Saf etanol	CHEM-LAB/ Belçika
2	Ağar agar	Oksoit / İngiltere
3	Agaroz jel	Merck / Almanya
4	Elma şarabı yağı	Sirbio / İsviçre
5	DNA Ladder (100-2000 bp)	Bioneer / Kore
6	10X TBE (Tris- Borik asit- EDTA)	Bioneer / Kore
7	Etanol (%96)	Fluke / Almanya
8	Etidyum bromür	BioBasic/ Kanada
9	Serbest nükleaz suyu	BioLabs/ İngiltere
10	Hidrojen peroksit	Fluka / İngiltere
11	Lizozim	Bio Basic / ABD
12	Gliserol	Fluka / İngiltere
13	Novobiyosin	Biyoanaliz / Türkiye
14	Tuzlu su (0.9)	S.D.I/ Irak
15	Oksidaz	Himedia / Hindistan
16	Potasyum hidroksit (KOH)	Oksoit / İngiltere
17	Fosfat tamponlu tuzlu su	Jourilabs / Addis Ababa
18	VP1 ve VP2	Fluke / Almanya
19	NIT 1 ve NIT 2	BioMerieux / Fransa
20	ZYM A ve ZYM B	BioMerieux / Fransa

3.1.4. Kitler

Çalışmamızda kullanılan ticari kitlerin listesi Tablo 3.4’de verilmiştir.

Tablo 3.4. Çalışmamızda kullanılan ticari kitler

Numara	Kit Tipi	Açıklama ve bileşenler	Şirket / Menşei
1	DNA saflaştırma kiti (Presto™ Mini gDNA Bakteri Kiti)	1. GT liziz tamponu 30 ml 2. GB bağlama tamponu 40 ml 3. W1 Tampon 45 ml 4. Yıkama tamponu 5. Elüsyon tamponu 30 ml 6. GD sütunu 7. Koleksiyon tüpü 2ml 8. Proteinaz k (20 µl)	Geneaid / Tayvan
2	PCR ana karışım kiti (GoTaq® Yeşil PCR ana Karışımı)	Taq DNA polimeraz dNTP'ler (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) Tris-HCl pH 9.0, KCl ve MgCl ₂ Stabilizatör ve takip boyası	Promega / ABD
3	Gram boyama kiti	1. Kristal viyole 2. Safranin 3. Lugol iyodin çözeltisi 4. Alkol aseton çözeltisi	Sirbo /İsviçre
4	API tanımlama sistemi (API 20 Staph)	1. API <i>Staphylococcus</i> besiyeri ampulü 2. API <i>Staphylococcus</i> analitik profil indeksi 3. API <i>Staphylococcus</i> şeritleri 4. Kuluçka kutusu 5. Mineral yağ damlalıkları 6. Paket eki 7. Sonuç sayfaları 8. Kimyasal reaktifler: a. Asetil-metil-karbinol üretimi için Voges Proskauer (VP1 + VP2) b- Nitrat üretimi için NIT 1+ NIT 2 c- Alkalın fosfataz ZYM A + ZYM B	Bio Merieux / Fransa
5	Koagülaz plazma	–	Pro-Lab teşhisi / ABD
6	Staphaurex Artı	1. Test lateks (Sarı kapak) 2. Kontrol lateks (Gri kapak) 3. Tek kullanımlık reaksiyon kartları (RT64/R30369001) 4. Tek kullanımlık karıştırma çubukları	Remel / İngiltere

3.1.5. Antimikrobiyal Diskler

Çalışmamızda kullanılan antibiyotik disklerinin listesi Tablo 3.5’de verilmiştir.

Tablo 3.5. Antibiyotik diskler, konsantrasyonları ve menşei

Numara	Antibiyotik	Sembol	Konsantrasyon (µg , U)	Şirket / Menşe
1	Vankomisin	VA	30	Biyoanaliz / Türkiye
2	Trimetoprim	TMP	5	Biyoanaliz / Türkiye
3	Tetrasiklin	TE	30	Himedia / Hindistan
4	Sefoksitin	FOX	30	Biyoanaliz / Türkiye
5	Netilimisin	NET	30	Himedia / Hindistan
6	Ampisilin	AMP	10	Merseyside / İngiltere
7	Klindamisin	CD	2	Merseyside / İngiltere
8	Eritromisin	E	15	Biyoanaliz / Türkiye
9	Doksisiklin	DO	30	Himedia / Hindistan
10	Nitrofuransiyon	NIT	300	Biyoanaliz / Türkiye
11	Kotrimoksasin	COT	25	Merseyside / İngiltere
12	Siprofloksasin	CIP	5	Biyoanaliz / Türkiye
13	Novobiyosin	NV	30	Himedia / Hindistan

3.1.6. Primerler

Bu çalışmada, *Staphylococcus aureus* protein A (*spa*) ve toksik şok sendromu toksin-1 (*tst-1*) genlerinin tespiti için PCR primerleri geliştirmek için NCBI-Genbank veri tabanı ve primer3 plus kullanılmıştır. Çalışmamızda kullanılan primerler ve Genbank numaraları Tablo 3.6’da verilmiştir.

Tablo 3.6. Nükleotid dizileri ve ürün boyutları ile PCR primerleri

Astar	Sıra (5'-3')		Ürün boyutu	Genbank
<i>Staphylococcus aureus</i> protein A (<i>spa</i>)	F	TATAGTTCGCGACGACGTCC	705bç	JQ066313.1
	R	AGCACCAAAAGCTGACAACA		
Toksik şok sendromu toksin-1 (<i>tst-1</i>) geni	F	CCCTTTGTTGCTTGCGACAAA	538bç	MH920616.1
	R	ACCACCCGTTTTATCGCTTG		

3.2. Yöntemler

3.2.1. Kültür Ortamlarının Hazırlanması

3.2.1.1. Kanlı Agar

Çalışmamızda hemolizin üreten bakteri izolatlarının ilk izolasyonu ve kültürü için kanlı agar besiyeri hazırlandı. Besiyerinin hazırlanması için öncelikle, 40 gr kanlı agar tozu 1 litre distile suda iyice çözündürüldü. Çözündürme işleminde besiyeri çalkalanarak kaynama noktasına kadar ısıtılmış ve ardından 121°C'de 15 dakika sterilize edildi. Ortamın sıcaklığı 50 °C'ye düştüğünde %5 v/v steril insan kanı ilave edilmiş, homojen hale gelinceye kadar iyice karıştırıldı. Steril petri kaplarında oda sıcaklığında katılaştıran kanlı agar besiyeri sterilizasyonu sağlamak için 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda besiyerler kullanıma kadar 4 °C'de saklandı (Multari et al., 2013).

3.2.1.2. Beyin Kalp İnfüzyon Agar

Çalışmamızda kullanmak üzere beyin kalp infüzyon agar üretici firmanın talimatlarına göre hazırlandı. Sık çalkalanarak kaynama noktasına kadar ısıtılan besiyeri 121°C'de 15 dakika otoklavlandı, steril tüplere dağıtıldı ve tüpler 50°C'ye kadar soğutuldu. Sterilizasyondan sonra tüp eğik bir konuma yerleştirildi ve oda sıcaklığında katılaştırmaya kadar bırakıldı. Tüpler 37°C'de 24 saat inkübe edildi ve inkübasyon sonunda 4 °C'de saklandı, bu nedenle çeşitli müşkülpesent organizmaları kültürlemek için kullanılabilir. Özellikle, büyümesi zor olabilen streptokok, pnömokok ve meningokok kültürü için kullanılmıştır (Multari *et al.*, 2013).

3.2.1.3. Mannitol Tuzlu Agar (MSA)

Mannitol Tuzlu Agar besiyerinin hazırlanması için 111 g MSA 1 litre distile su içinde çözündürüldü ve 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildi. Steril petri plaklarına dökmeden önce 50 °C'ye kadar soğutuldu. Sonraki işlemler yukarıda belirtilen besiyerleri hazırlanma şekli ile aynıdır, patojenik Stafilokokların izolasyonu için seçici bir besiyeri olarak kullanılır.

3.2.1.4. MacConkey Agar

Gram-negatif bakterilerin geliştirilmesi amacı ile 51 gram besiyeri 1 litre distile su içinde çözündürüldükten sonra otoklavda sterilize edildi. Besiyeri petri plakalarına dökülmeden önce 50°C'ye soğutuldu ve oda ısısında katılaşması beklendi. Sonraki işlemler yukarıda belirtilen besiyerleri hazırlanma şekli ile aynıdır. Bu ortamdaki kristal viyole, Gram-negatif bakterilerin gelişmesine izin verirken, gram-pozitif bakterilerin büyümesini engeller.

3.2.1.5. Muller –Hinton Agarı (MHA)

Antibiyotik duyarlılık testi çalışmasında kullanılmak üzere MHA hazırlanmıştır. Besiyeri hazırlanırken 38 gram MHA tozu 1 litre distile su içinde çözündürülmüş ve sık çalkalanarak

kaynama noktasına kadar ısıtılmıştır. Kültür ortamı daha sonra 121°C'de 15 dakika süreyle sterilize edilmiş ve petri plaklarına dökmeden önce 50°C'ye kadar soğutulmuştur. Sonraki işlemler yukarıda belirtilen besiyerleri hazırlanma şekli ile aynıdır.

3.2.1.6. Sistein Laktoz Elektrolit Eksik Agar (CLED Agar)

CLED agar, üriner bakteriyoloji teşhisi için önerilen bir diferansiyel besiyeri türüdür. Ortam, tüm potansiyel üriner patojenlerin büyümesini destekler ve koloninin farklı morfolojisini sağlar. İdrar örneklerindeki patojen mikroorganizmaların tespiti için 36 gram besiyeri tozu 1 litre distile su çözündürülmüştür. 121°C, 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra 50°C'ye kadar soğutulmuştur. Sonraki işlemler yukarıda belirtilen besiyerleri hazırlanma şekli ile aynıdır.

3.2.1.7. Staphylococcus Medium No. 110 i

Staphylococcus Medium No. 110 I patojenik Stafilokokların izolasyonunda kullanılan seçici bir besiyeridir. Stafilokokların izolasyonu için 150 gr toz besiyerinin 1000 ml distile su içinde çözülmesiyle hazırlanmıştır. Tamamen çözünmesi için kaynama noktasına getirildikten sonra 121°C, 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra 50°C'ye kadar soğutulmuştur. Sonraki işlemler yukarıda belirtilen besiyerleri hazırlanma şekli ile aynıdır.

3.2.2. Reaktiflerin, Solüsyonların ve Tamponların Hazırlanması

3.2.2.1. Katalaz Reaktifi

1 ml %30 H₂O₂ ile 9 ml distile su karıştırılarak %3 nihai konsantrasyon elde edilerek hazırlandıktan sonra koyu renkli bir şişede 4°C'de saklanmıştır. Katalaz reaktifi bakterilerin katalaz enzimi üretme yeteneğini belirlemek için kullanılmıştır (Aryal, 2018).

3.2.2.2. Oksidaz Reaktifi

Oksidaz reaktifi, 100 ml distile suya bir gram oksidaz tozu (N-N-N-N tetrametil-pfenilendiamin dihidroklorür) eklenerek hazırlanmıştır. Bakterilerin oksidaz üretimine duyarlılığını tespit etmek için kullanılmıştır (Aryal, 2018).

3.2.2.3. Bulanıklık Standardı (McFarland)

Standart McFarland çözeltisi (No.0.5), 0.5 ml % 1.175 (ağırlık/hacim) baryum klorür dehidrat çözeltisi (BaCl₂.2H₂O) ile 99.5 ml %1 (hacim/hacim) sülfürik asit karıştırılarak standart kılavuzlar olarak hazırlanmıştır 0.5 McFarland standart tüpleri, buharlaşmayı önlemek için parafilm ile kapatıldı ve karanlıkta oda sıcaklığında (22-25°C) 6 aya kadar saklanmıştır. No. 0.5 McFarland standardı, steril salin veya bakteri besleyici et suyu süspansiyonu ile görsel olarak karşılaştırılabilir (Aryal, 2018).

3.2.2.4. Tris- Borat -EDTA (TBE)

Çalışma tamponu (1X), TBE tamponundan (10X) 900 ml distile suya 100 ml eklenerek hazırlanmıştır (Aryal, 2018).

3.2.2.5. Jel Elektroforez Çözeltisi

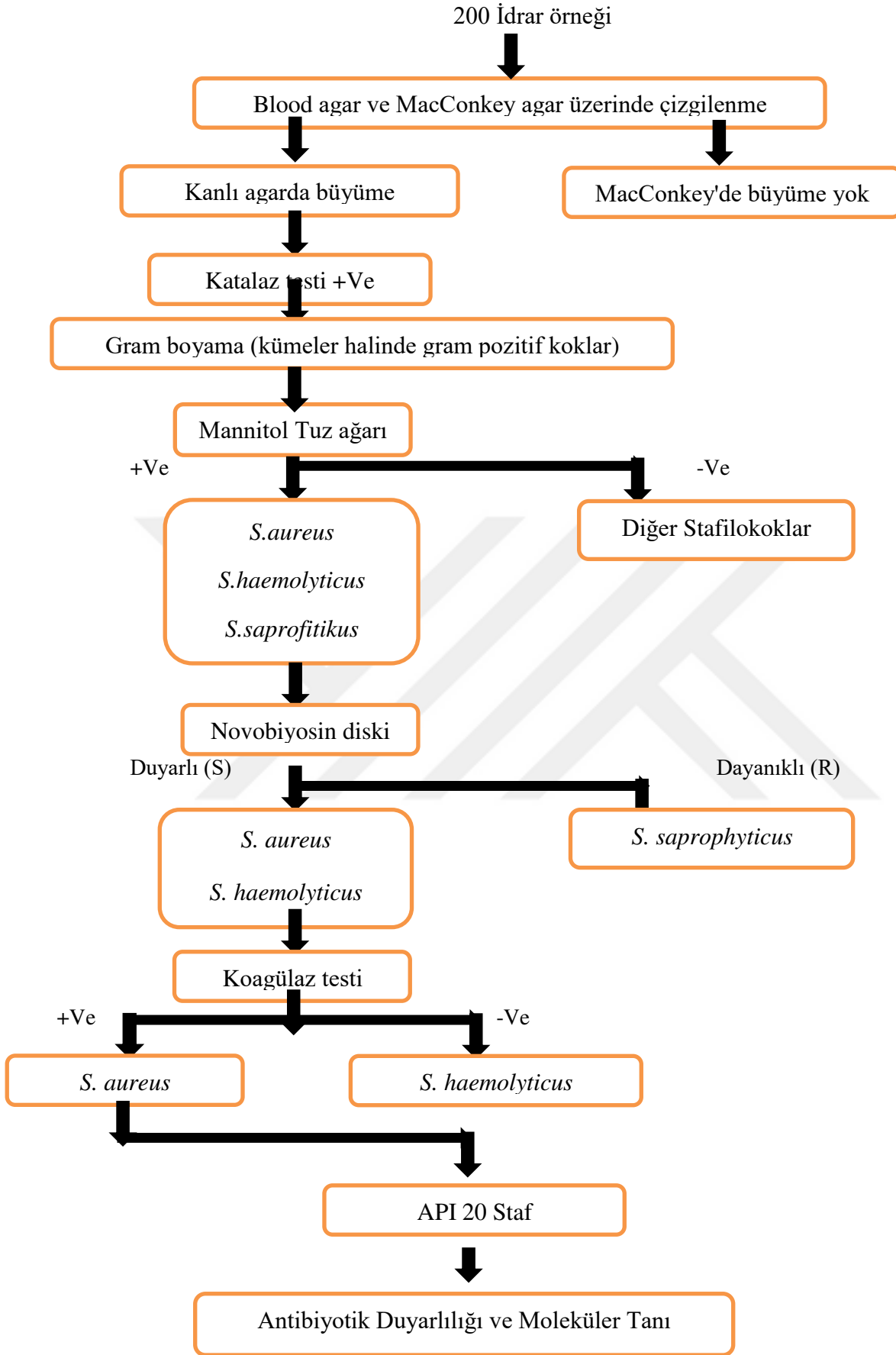
Agaroz tozu (DNA ekstraksiyonu durumunda 1 gr ve PCR ürünü tespiti için 2 gr) 100 ml 1X TBE tamponu içinde karıştırıldıktan kısa süreli kaynatılarak agarın erimesi sağlanmıştır. 50°C'ye kadar soğuduktan sonra 2-3 µL etidyum bromür (nükleik asit boyama solüsyonu) eklenmiştir. (Lee *et al.*, 2012).

3.2.2.6. Hidroklorik Asit (HCL)

DNaz testinde reaktif olarak hidroklorik asit kullanılmıştır. HCL, 8.98 ml ile 91.02 ml distile su karıştırılarak hazırlanmıştır.

3.2.3. Numunelerin Toplanması

Çalışmamızda kullanılan suşlar, Şubat-Haziran 2021 tarihleri arasında Güney Irak'ın AL-Nasiriyah şehrindeki AL-Hussein Eğitim Hastanesi'ne İYE şikayeti ile başvuru yapan 200 hastadan alınan idrar örneklerinden izole edilmiştir. İYE belirtileri gösteren hastalar hekim tarafından muayene edildikten sonra hastalara olur belgesi imzalatılmış ve hastalardan steril bir kabın içine orta akım idrarlarını yapmaları istenmiştir. Örnekler toplama noktasında uygun şekilde etiketlenmiş ve mikroskopik inceleme, kültür ve duyarlılık analizi için hızlı bir şekilde mikrobiyoloji laboratuvarına iletilmiştir. Örneklerin toplanması sırasında tüm hastalara yaş ve özgeçmiş bilgilerini içeren bir anket uygulanmıştır. Örneklerin toplanmasından sonra gerçekleştirilen çalışma planı Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. İdrar örneklerinin toplanmasının ardından gerçekleştirilen çalışma planı

3.2.4. Bakteriyeel İdentifikasyon

3.2.4.1. Stafilokokların Tanımlanması

Toplanan bütün idrar örnekleri kanlı agar, MSA, MacConkey agar ve Staph.110 agar besiyerlerine ekilmiştir. 37°C'de 24 saat inkübasyonun ardından saf olarak izole edilen koloniler, identifikasyonu doğrulamak için beyin kalp infüzyon agara pasajlanmıştır. İnkübasyonun sonunda Stafilokoklar, kültür ortamında kolonilerin boyutu, saydamlığı, rengi, şekli, kenar yapısı, hemoliz durumu ve yüksekliğine göre tanımlanmıştır (MacFaddin, 2000).

3.2.4.2. Mikroskopik İnceleme

Stafilokok suşlarının mikroskopik incelemesi için gram boyama yapılmıştır. Steril bir öze ile alınan saf stafilokok kolonisi, bir damla su damlatılmış lam üzerine yayılmıştır. Ardından oda ısısında kurutulan lamların gram boyamaları yapılmıştır. Kuruyan lamlar imversiyon yağı damlatılarak ışık mikroskobu altında (100x) incelenmiştir.

3.2.5. Biyokimyasal Testler

Bu çalışmada kullanılan tüm biyokimyasal testler Atlas, (2010) ve Markey *et al.*, (2014)'e göre hazırlanmıştır.

3.2.5.1. Katalaz Testi

Mikroskop lamı üzerine tahta bir çubuk kullanılarak saf bir koloninin yayılmasıyla gerçekleştirilen bu testte hidrojen peroksit çözeltisi kullanılmıştır. Lam üzerinde % 3hidrojen peroksit damlaları döküldüğünde O₂ kabarcıklarının gözlenmesi katalaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Markey *et al.*, 2014).

3.2.5.2. Oksidaz Testi

Sitokrom C oksidaz enziminin varlığının araştırıldığı bu testte, bir petri kabındaki %1 sulu tetra metil-p-fenilendiamin dihidroklorür (oksidaz reaktifi) çözeltisine bir parça filtre kağıdı batırılarak gerçekleştirilmiştir. Islatılan filitre kağıdının üzerine test bakterisinden yayılır ve 10 saniye içinde gözlenen renk değişimi (açık mordan koyu mora) oksidaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Markey *et al.*, 2014).

3.2.5.3. Koagülaz Testi

Koagülaz testi, özellikle stafilokoklarda bulunan ve kan plazmasını pıhtılaştıran koagulase enzimini (stafilokoagulase) ortaya koyma, patojenik olanlarla nonpatojenik olanları ayırmak amacı ile yapılmıştır. Temiz bir tüpe 0.5 ml kadar plasma konduktan sonar üzerine aynı miktar *S. aureus* kültürlerinden damlatılır ve homojenize edilir. Tüpler 37 °C de su banyosunda 4 saat inkübe edilir ve her saat gözle kontrol edilirler. Tüpler çok hafifçe eğilerek koagülasyon durumu belirlenir. Pıhtılaşmanın görünümü, kontrole kıyasla olumlu bir sonuç göstermektedir (Atlas, 2010).

3.2.5.4. Deoksiribonükleaz (DNaz) Testi

Bu test, mikroorganizmaların ısıya dayanıklı olan DNase enzimini sentezleyebilme yeteneklerini ölçmek için kullanılmıştır. Enzim, hücre çekirdeklerinde bulunan deoksiribonukleik asidi (DNA) depolimerize ederek ayrıştırır. Ayrıca, *S. aureus* 'ların DNase'lerinin ısı karşısında termonuklease stabilitesini ölçmede de yararlanır. DNase aktivitesi, özellikle, koagülaz negatif reaksiyon veren *S. aureus* 'ların patojenitelerini belirlemede de kullanılmaktadır.

İncelenecek mikroorganizma kültürleri DNA agar üzerine ekim yapılır. Petri kutusu 37 °C'de 18-24 gün inkübe edilir. Bu sürenin sonunda, kültüre birkaç damla HCl (1N) eklendi ve DNA'nın bakteriyel DNaz enzimi tarafından hidrolizi için 15-30 dakika izlenmiştir. Pozitif durumlarda üreme etrafında açık bir alan meydana gelirken, negatif kültürlerde, üreme etrafında opak bir renk oluşmaktadır (Markey *et al.*, 2014).

3.2.5.5. Novobiyosin Testi

Novobiyosin testi, koagülaz-negatif stafilokokları ayırt etmek ve dirençli (R) *S. saprophyticus*'u belirlemek için kullanılmıştır. Testin gerçekleştirilmesinde disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Diyagnostik Duyarlılık Testi agar plakası kurutulduktan sonra, steril swab 24 saatlik besleyici et suyu kültürüne batırılıp besiyeri yüzeyi boyunca eşit şekilde aşılama için kullanılmıştır. Ardından plakanın kurumasına izin verilmiştir. Novobiocin "5µg" diski steril forseps ile orta yüzeye yerleştirilip hafifçe bastırılarak 15 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılıp inhibisyon bölgesindeki zon çapı milimetre cinsinden ölçülerek izolatların duyarlı veya dirençli olduğu bildirilmiştir (Atlas, 2010).

3.2.5.6. Üreaz Testi

Üreaz testinde, üre agara ekilen saf bakteri kolonisi 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda ortamın renginin sarıdan pembeye değişmesi pozitif olarak değiştirilmiştir (Markey *et al.*, 2014).

3.2.5.7. Hemoliz Testi

Bakteriyel izolatların hemoliz testi için kanlı agar plaklarına ekilmiş ve 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Bakteri kolonilerinin etrafındaki şeffaf bölgelerin gelişmesi, bakterilerin hemolizin salgılanmasına duyarlılığını göstermektedir.

3.2.5.8. Staph için Analitik Profil İndeksi (Api - 20 Staph)

API Staph, standartlaştırılmış bir *Staphylococcus* ve *Micrococcus* cins tanımlama sistemidir. Bu test, şirketin yönergelerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. *Staphylococcus spp.* gibi izole edilen bakterileri tanımlamak için API-20 Staph sistemi kullanılmıştır.

Bu system, tekli mikro tüplerde 20 biyokimyasal reaksiyondan oluşmaktadır. İzole edilmiş bakteri kolonisi daha sonra 5 ml'lik bir tuzlu su çözeltisi üzerinde süspanse edilir, iyice karıştırılır ve McFarland tüpü 0.5 ile karşılaştırılır. Bazı kuyucuklarda sadece bakteri süspansiyonu eklenirken bazı kuyucuklara anaerobik koşulları sağlamak için yağ eklenir. Api testi 37°C'de 24 saat inkübasyonun ardından spesifik reaktifler eklenmiş ve sonuçlar yorumlanmıştır.

3.2.5.9. VITEK®2 Compact Sistem ile İzolatların Tanımlanması

Otomatik VITEK2 Compact sistemi (Biomerieux, Fransa) daha önce manuel olarak tanımlama yapılmış olan tanımlamayı doğrulamak için kullanılmıştır. VITEK2 compact sistemi (Biomerieux, Fransa) üreticisinin talimatlarına uygundur ve aşağıdaki adımları içermektedir.

Prosedür:

- 1- MSA ortamı üzerinde 24 saat boyunca 1-2 koloniyi 3 mL salin solüsyonu içeren steril test tüpüne bir öze ile aktarılmıştır.
- 2- Bakteri süspansiyonunu 0.5 konsantrasyondaki Macfarland çözeltisi ile karşılaştırmak için test tüpü (Dens makinesi) içine yerleştirilmiştir.
- 3- Bakteri süspansiyonu cihazın inkübatöründeki kasete yerleştirilmiştir.
- 4- Numune, kart programlama, inkübasyon sıcaklığı, kartların görsel olarak okunması gibi birçok aşamadan geçmiştir. Bilgiler sürekli olarak bilgisayara aktarılmıştır. Döngü bittiğinde, kartlar aygıt tarafından otomatik olarak atılır ve çıktıyla birlikte bir rapor yazdırır.

3.2.6. Bakteriyel İzolatlarının Depolanması

3.2.6.1. Kısa Süreli Depolama

Bakteri izolatları, Brain-Heart Infusion agarda (BHI) saflaştırıldıktan sonra 4°C'de birkaç hafta saklanmıştır.

3.2.6.2. Uzun Süreli Depolama

Bakteri izolatlarının uzun süre saklanması için saf bakteri kültürleri %15 gliserol içeren besiyerinde aşılınmış ve 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra (-20)°C'de uzun süre saklanmıştır.

3.2.7. Antibiyotik Duyarlılık Testi

Disk difüzyon yönteminde tarif edildiği gibi tüm *Staphylococcus aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır (Bauer *et.al*, 1966). Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI), antibiyotik disklerin seçilmesinde kriter olarak kullanılmıştır (CLSI, 2018). 3 veya 5 saf izole koloni, 5 ml beyin-kalp suyu içinde süspanse edildikten sonra ve 37°C'de 24 saat inkübe

edilmiştir. Büyüme kültüründen üretilen süspansiyonun yoğunluğu, 0.5 McFarland standardına bağlı olarak steril normal salin eklenerek ayarlanmıştır. McFarlandı ayarlanan kültürler MHA plaklarına steril swap yardımı ile ekilmiştir. Daha sonra plaklara antibiyotik diskleri yerleştirildikten sonra 37°C'de 18-24 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra inhibisyon zon çapları (disk çapı dahil) incelendi ve milimetre (mm) cinsinden ölçüldü. Her bir antimikrobiyal ilaç için inhibisyon bölgesinin çapını standartla karşılaştırarak, çap (CLSI, 2018) tarafından sağlanan hassas (S), orta (I) veya dirençli (R) olarak sınıflandırılmıştır.

3.2.8. *Staphylococcus aureus*'un Moleküler Tayini

İYE enfeksiyon şikayeti olan hastalardan alınan idrar örneklerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarında, *S. aureus* protein A (*spa*) ve toksik şok sendromu toksin-1 (*tst-1*) genlerini tespit etmek için PCR testi kullanılmıştır. Bu teknikte kullanılan tüm PCR primerleri bu çalışmada tasarlanmıştır.

3.2.8.1. Bakteriyel DNA Ekstraksiyonu

S. aureus izolatlarından DNA ekstaksiyonu için Bakteriyel genomik DNA, (Presto™ Mini gDNA Bacteria Kit) kiti kullanılmıştır. Kitin kullanımı, üretici firmanın talimatlarına göre yapılmıştır. Kit prosedürü aşağıdaki gibidir.

1- 18 saat inkübe edilen 1 ml bakteri kültür hücresi (1×10^9 'a kadar) 1.5 ml mikro santrifüj tüpüne aktarıldı, 10000 rpm'de bir dakika santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.

2- Hücre peleti vorteks ile süspanse edildikten sonra üzerine 180 µl GT (Guanidium Thiocyanate) tamponu ilave edildikten sonra 20 ul Proteinaz K ilave edildi ve karışımlar 60°C'de 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyon süresi boyunca karışım tüpleri her üç dakikada bir alt üst edildi.

3 Her tüpe 200 µl GB (Guanidine Hydrochloride Buffer) tampon eklendi ve 10 saniye boyunca vortekslendi. Tüpler daha sonra 10 dakika süreyle 60°C'de inkübe edildi ve inkübasyon süresi boyunca tüpler her üç dakikada bir ters çevrildi.

4- Tüplerin üzerine 200 µl etanol (%100) eklendi ve vortekslendi.

5- 2 ml'lik toplama tüpüne bir GD kolonu yerleştirildi ve tüm kompozisyonlar (herhangi bir çökelti dahil) GD kolonuna taşındı. Daha sonra 10.000 rpm'de bir dakika santrifüj edildi. Akış, 2 ml'lik toplama tüplerinden çıkarıldı ve GD kolonu, 2 ml'lik yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.

6- GD kolonu 400 ul W1 tamponu ile dolduruldu ve 10000 rpm'de bir dakika santrifüjlendi. Akış atıldı ve GD kolonu 2 ml'lik toplama tüpüne yeniden yerleştirildi.

7- GD kolonu 600 µl yıkama tamponu ile dolduruldu. Daha sonra 10000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Akış çıkarıldı ve GD kolonu 2 ml'lik toplama tüpüne yeniden yerleştirildi. Kolon matrisini kurutmak için tüpler 12000 rpm'de iki dakika santrifüj edildi.

8- Kurutulmuş GD kolonu 1.5 ml mikro santrifüj tüpüne taşındı ve kolon matrisinin merkezine 100µl önceden ısıtılmış elüsyon tamponu eklendi.

9-Elüsyon tamponunun matris tarafından emildiğini doğrulamak için tüpler en az üç dakika bekletildi. Saf DNA daha sonra 10000 rpm'de bir dakika santrifüj edilerek ayrıştırıldı.

3.2.8.2. İzole Edilen Toplam DNA'nın Ölçümü

Nanodrop, absorbansta (260/280 nm) RNA saflığını değerlendiren ve DNA konsantrasyonunu (ng/L) aşağıdaki gibi kaydeden, ekstrakte edilen toplam DNA'nın (Thermo Scientific NanoDrop Lite UV Görünür Spektrofotometre. ABD) saflığını ve konsantrasyonunu incelemek belirlemek için kullanılmıştır.

1. Nanodrop yazılımını (Nükleik asit, DNA) başlattıktan sonra uygun uygulama belirlendi.
2. Kuru bir bez ile ölçüm yerleri birçok kez silindi. Daha sonra 2µl serbest nükleaz suyu uygun şekilde pipetlendi ve sistemi boşaltmak için alt ölçüm merkezine yerleştirildi.
3. Nanodrop'un numune alma kolu düşürüldü ve bir µl DNA numunesi ölçüldü.

3.2.8.3. PCR Karışımının Hazırlanması

PCR testi için (GoTaq Green PCR ana kiti) kullanılmıştır. Test Tablo 3.7'de belirtildiği gibi üretici firmanın talimatlarına göre gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.7. Standart PCR karışım protokolü

PCR karışımı	Miktar
Saf DNA 5-50ng	5µL
İleri primer (10pmol)	2µL
Geri primer (10pmol)	2µL
GoTaq Green	12.5µL
PCR suyu	3.5µL
Toplam	25 µL

PCR tüpleri daha sonra bir T100 PCR Thermocycler'a (BioRad-USA) yerleştirilmeden önce üç dakika boyunca 3000 rpm'de vortekslenmiştir.

3.2.8.4. PCR Termocycler Koşulları

Her gen için PCR termocycler koşulları metodolojisi, Optimase ProtocolWriter™ web programı kullanılarak hesaplanmıştır. *Spa* ve *tst-1* gen bölgeleri için uygulanan PCR şartları Tablo 3.8 ve Tablo 3.9'da verilmiştir.

Tablo 3.8. *Spa* geni için PCR termocycler koşulları

İleri primer (F) dizisi:	TATAGTTCGCGACGACGTCC ($T_m = 56.3^\circ\text{C}$)
Ters primer (R) dizisi:	AGCACCAAAAGCTGACAACA ($T_m = 52.2^\circ\text{C}$)
PCR ürün uzunluğu:	705 bp
Protokol türü:	Touchdown PCR protokolü

Aşama 1: 95°C, 2 dk.
Aşama 2: 95°C, 30 sn.
Aşama 3: 61.3°C, döngü başına 0.5°C azalma, 30 sn.
Aşama 4: 72°C, 80.0 sn.
Aşama 5: 2-4 arasındaki adımlar 14 kez daha tekrarlandı
Aşama 6: 95°C, 30 sn.
Aşama 7: 54.3°C, 30 sn.
Aşama 8: 72°C, 80.0 sn.
Aşama 9: 6-8 arasındaki adımlar 19 kez tekrarlandı
Aşama 10: 72°C, 5 dak.
Aşama 11: 4°C, sonsuz

Tablo 3.9. *tst-1* geni için PCR termocycler koşullar protokolü

İleri primer dizisi:	CCCTTTGTTGCTTGCGACAA ($T_m = 54.2^\circ\text{C}$)
Ters astar dizisi:	ACCACCCGTTTTATCGCTTG ($T_m = 54.2^\circ\text{C}$)
PCR ürün uzunluğu:	538 bp
Protokol türü:	Basit 3 adımlı PCR protokolü

Aşama 1: 95°C, 2 dk.
Aşama 2: 95°C, 30 sn.
Aşama 3: 57.2°C, 30 sn.
Aşama 4: 72°C, 60.0 sn.
Aşama 5: 2-4 arasındaki adımları 29 kez tekrarlandı
Aşama 6: 72°C, 5 dak.
Aşama 7: 4°C, sonsuz

3.2.8.5. PCR Ürün Analizi

PCR sonuçlarının incelemesinde kullanılan Agaroz jel elektroforez tekniğinde aşağıdaki aşamalar kullanılmıştır.

- 1-0.5X TBE ile %1.5 agaroz jel hazırlanmış ve 50°C'ye kadar soğuması için bekletildi.
- 2- Soğutulan agaroz jel karışımına 3 µl etidyum bromür boyası eklendi.
- 3- Agaroz jel elektroforezinde kullanılan taraklar yerleştirdikten sonra agaroz jel solüsyonu tepsiye döküldü ve jel katılaştıktan sonra tarak tepside nazikçe çıkarıldı.
- 4- Jel tepsi elektroforez tankına yerleştirildi ve 0.5X TBE tamponu eklendi.
- 5- Her kuyucuğa 10 µl PCR ürünü yüklendi, ilk kuyucuğa 5 µl DNA markır yüklendi. Ardından bir saat boyunca 100 volt ve 80 Hz'lik bir elektrik akımı uygulandı.
- 6- PCR sonuçlarını görmek için UV Transillüminatör kullanıldı.

3.2.9. DNA Dizileme Yöntemi

Yerel *S. aureus* izolatları tanımlamak, filogenetik ağaçlarını analiz etmek ve homoloji dizi benzerliklerini belirlemek için DNA dizileme yöntemi kullanılmıştır. Applied Biosystems (AB) DNA dizileme analizleri, Güney Kore'de bulunan Macrogen firmasından hizmet alımı yapıldı. Sonuçlar, Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi'nde (NCBI) bulunan Temel Yerel Hizalama Arama Aracına (BLAST) göre okundu. Çalışma genlerindeki genetik mutasyonların sayısı, türü ve daha sonra *S. aureus* izolatları ile standart izolatlar arasındaki genetik değişiklikleri göstermek için Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0 (MEGA version 6.0) programı kullanılarak genetik ağaç çizildi ve analiz edildi. Sonunda, izolatlar gen bankası sitesinde (NCBI Genbank Submission) kaydedildi.

3.2.10. İstatistiksel Analiz

Ki-kare istatistiği, tüm çalışma tanımlayıcı istatistik gruplarında istatistiksel analiz yapmak için kullanıldı (P-0.01)'in anlamlılığı belirlendi. Tüm analizleri gerçekleştirmek için Windows için Sosyal Bilimler İstatistik Paketi (SPSS) kullanıldı (sürüm23.0, SPSSInc, Chicago,III).

4. SONUÇLAR

4.1. Hasta Sonuçları

Şubat-Haziran 2021 döneminde bu çalışmaya dahil edilen farklı yaşlardaki İYE olan hem erkek hem de kadın hastalardan toplam 200 adet taze idrar örneği alınmıştır. Örneklenen hastalardan 133'ü (%66.5) pozitif büyüme göstermiştir. Geriye kalan 67 hastada (%33.5) ise önemli bir büyüme gözlenmemiştir. AL-Hussein Eğitim Hastanesi'ne İYE semptomları ile başvuran hastaların demografik bilgileri Tablo 4.1'de özetlenmiştir.

Tablo 4.1. Bu çalışmaya dahil edilen İYE hastalarının özellikleri

Parametre		Hasta Sayısı	Yüzde (%)
Örnek boyutu		200	100
Bakteriyel Büyüme	Büyüme	133	66.5
	Büyüme yok	67	33.5
Cinsiyet	Dişi	136	68
	Erkek	64	32
İkamet eden kişi	Kentsel	124	62
	Kırsal	76	38
Hastane durumu	Ayakta tedavi	118	59
	Yatan hasta	82	41

Önemli farklılıklar ($p \leq 0.01$)

4.1.1. Bakteri Büyümesine Göre Hastaların Dağılımı

Bu çalışmanın mevcut bulguları, 133 (%66.5) izolatın İYE hastalarından toplanan patojenin pozitif büyümesi olduğunu, 67 örneğin (%33.5) ise önemli bir büyüme göstermediğini göstermiştir. İstatistiksel olarak, bakteri üreme dağılımında önemli farklılıklar yoktur ($P \leq 0.01$). Hastaların cinsiyet ve bakteri üremesine göre dağılımı Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Hastaların cinsiyet ve bakteri üremesine göre dağılımı

Cinsiyet	Kültür		Toplam
	Büyüme %	Büyüme yok %	
Erkek	33	31	64
	%16.5	%15.5	%32
Dişi	100	36	136
	%50	%18	%68
Toplam	133	67	200
	%66.5	%33.5	%100.0

Cal.X2: 9.41

Tab.X2: 6.63

df: 1

P_value: 0.01

4.1.2. Hastaların Yaşa Göre Dağılımı

En yüksek İYE oranlarını 55 hasta (%27.5) ile (51-70) yaş grubu arasında görülmüştür. Diğer yandan, bu hastalık için en düşük enfeksiyon oranı Tablo 4.3'te gösterildiği gibi

25 olgu (%12.5) ile (11-20) yaş grubunda belirlenmiştir. İstatistiksel olarak yaş grubu dağılımında anlamlı farklılıklar yoktur ($P \leq 0.01$).

Tablo 4.3. İdrar yolu enfeksiyonu durumu yaş gruplarına göre değişir

Yaş grubu	Hasta vakası		Hayır. Test edildi %
	Pozitif Sayısı %	Negatif Sayısı %	
11-20	13	12	25
	%6.5	%6	%12.5
21-30	29	11	40
	%14.5	%5.5	%20
31-40	27	14	41
	%13.5	%7	%20.5
41-50	26	13	39
	%13	%6.5	%19.5
51-70	38	17	55
	%19	%8.5	%27.5
Toplam	133	67	200
	%66.5	%33.5	%100.0

Cal.X2: 3.

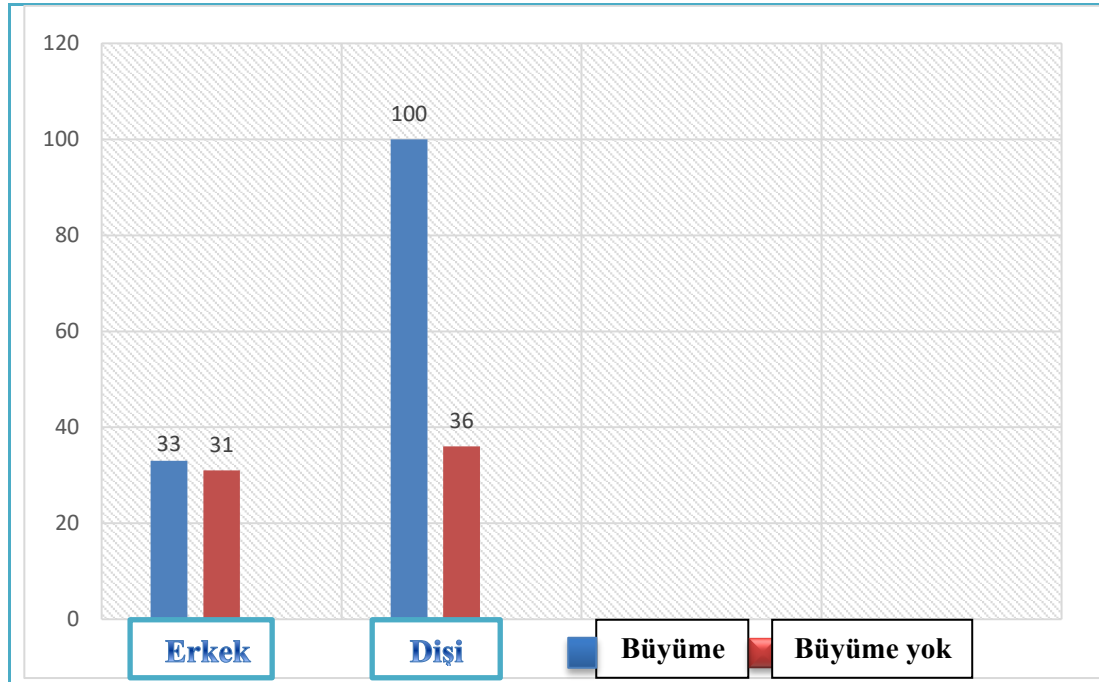
Tab.X2: 13.28

df: 4

p_değeri: 0.01

4.1.3. Hastaların Cinsiyete Göre Dağılımı

Bu çalışmaya dahil edilen toplam hasta sayısı (136) kadın (%68) ve (64) (%32) erkektir. Enfekte kadın sayısı 100 (%50), erkek sayısı 33 (%16.5) idi (Şekil 4.1.). İstatistiksel olarak cinsiyet dağılımında önemli farklılıklar vardı ($P \leq 0.01$).



Şekil 4.1. Hastaların cinsiyete göre dağılımı

4.1.4. Hastaların Yerleşim Bölgesine Göre Dağılımı

Bu çalışmada hastaların ikametgahı da araştırılmıştır. Kentsel alanların istatistiksel olarak en yüksek İYE enfeksiyonları oranlarını (124) kaydettiği yerlerde (%62), kırsal alanlara (76) kıyasla (%38) bir yüzde. Şekil 4.2'de ve tablo 4.4'te gösterildiği gibi hasta dağılımında ($P \geq 0.01$) kayda değer bir değişiklik olmamıştır.

Tablo 4.4. Yerleşim bölgelerine göre hastalık dağılımı

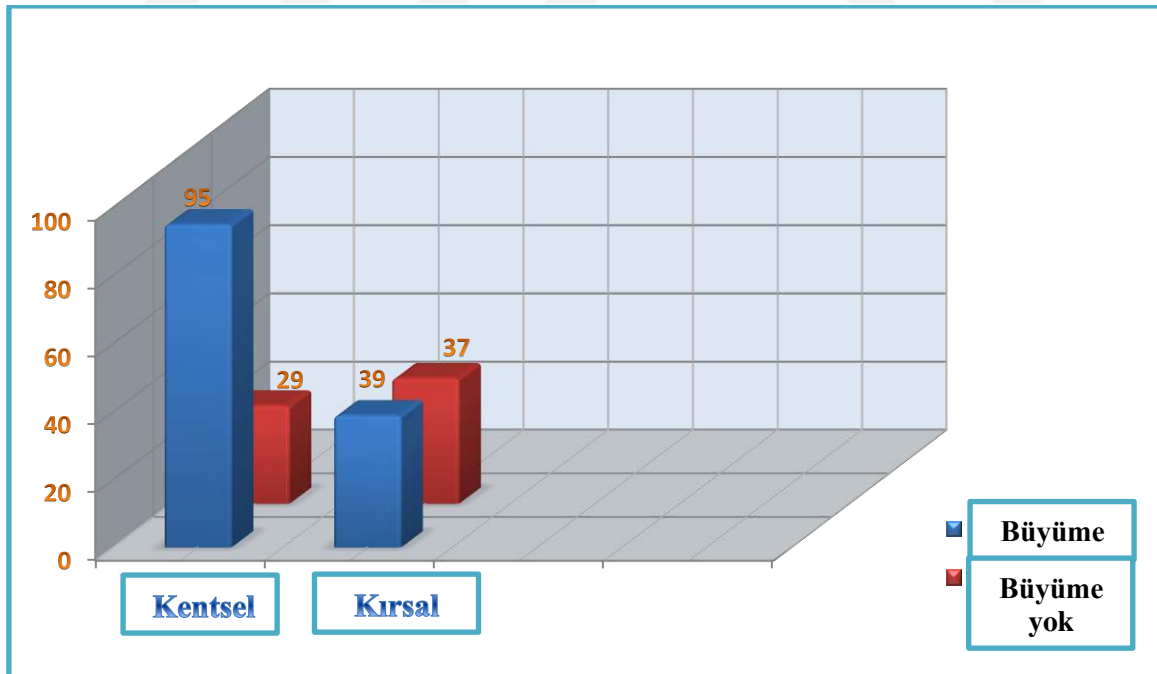
İkamet eden kişi	Kültür		Toplam
	Büyüme %	Büyüme yok %	
Kentsel	95	29	124
	%47.5	1%4.5	%62
Kırsal	39	37	76
	%19.5	%18.5	%38
Toplam	134	66	200
	%67	%33	%100.0

Cal.X2: 13.63

Tab.X2: 6,63

df: 1

p_değeri: 0.01



Şekil 4.2. Hastalığın yerleşim bölgelerine göre dağılımı

4.1.5. Hasta Durumuna Göre Enfeksiyonun Dağılımı

Örneklenen popülasyondaki hastane incelemesine göre, İYE hastalarının çoğunluğu ayaktan 118 (%59) hasta iken 82'si (%41) yatan hastaydı. Hastaların dağılımı, Şekil 4.3 ve Tablo 4.5'te gösterildiği gibi önemli bir değişiklik yoktur ($P \leq 0.01$).

Tablo 4.5. Hastalık durumuna göre enfeksiyonun dağılımı

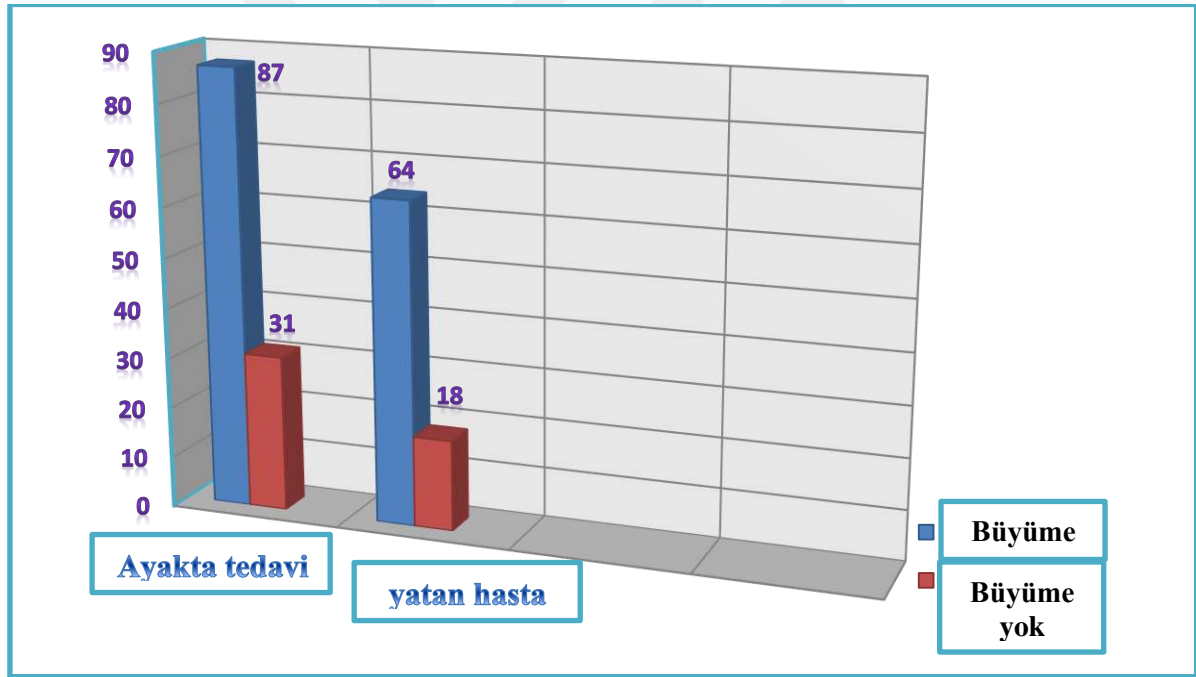
Hasta Durumu	Büyüme (%)	Büyüme yok (%)	Toplam (%)
Ayakta tedavi	87 (43.5%)	31 (15.5%)	118 (59%)
Yatan hasta	64 (32%)	18 (9%)	82 (41%)
Toplam	151 (75.5%)	49 (24.5%)	200 (100%)

Cal.X2: 0,47

Tab.X2: 6,63

df: 1

p_değeri: 0.01



Şekil 4.3. Hastalık durumuna göre enfeksiyonun dağılımı

4.2. *Staphylococcus aureus* 'un izolasyonu ve tanımlanması

İYE hastalarından toplam 200 klinik örnek geleneksel kültürel prosedürlere bağlı olarak, 133 örnek pozitif kültür gösterirken birçoğunun kanlı agar üzerinde beta hemolitik aktivite gösterdiği görülmüştür. İzolatların hemolizin üretmesi sonucunda izolatları çevreleyen net bir bölge

oluşturduğu gözlemlendi. Pozitif kültürlerin, ilk olarak gram boyama ve biyokimyasal testler ile tanımlaması yapıldı.

Staphylococcus aureus izolasyonu için klinik örnekler üzerinde bakteriyolojik inceleme, aşağıdaki prosedürler kullanılarak gerçekleştirilmiştir:

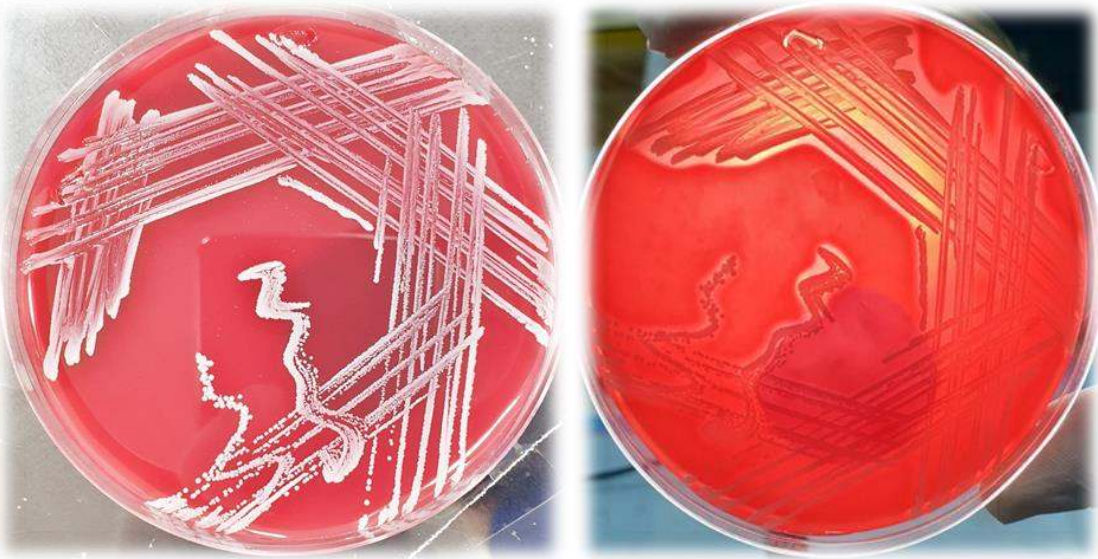
4.2.1. *Staphylococcus* kültürü

Mannitol Tuzlu Agar Besiyerindeki *Staphylococcus* kolonileri, ile bakteriyolojik kültüre göre farklı morfolojik şekil ve renklere sahipti. Şekil 4.4'te görüldüğü gibi *S. aureus* izolatları mannitolü fermente ederek kırmızı renkteki agarı sarıya dönüştürmüştür. Koloniler sarı renkte sarı zonlu yuvarlak ve pürüzsüz görünmektedir.



Şekil 4.4. Mannitol Salt Agar üzerinde *Staphylococcus aureus* 'un mannitol fermantasyonu

Kanlı agarda, *S. aureus* izolatları Şekil 4.5'te gösterildiği gibi büyük, yuvarlak, pürüzsüz, beyazdan sarıya renkli, parlak, opak ve berrak hemoliz zonlu olarak görülmektedir.



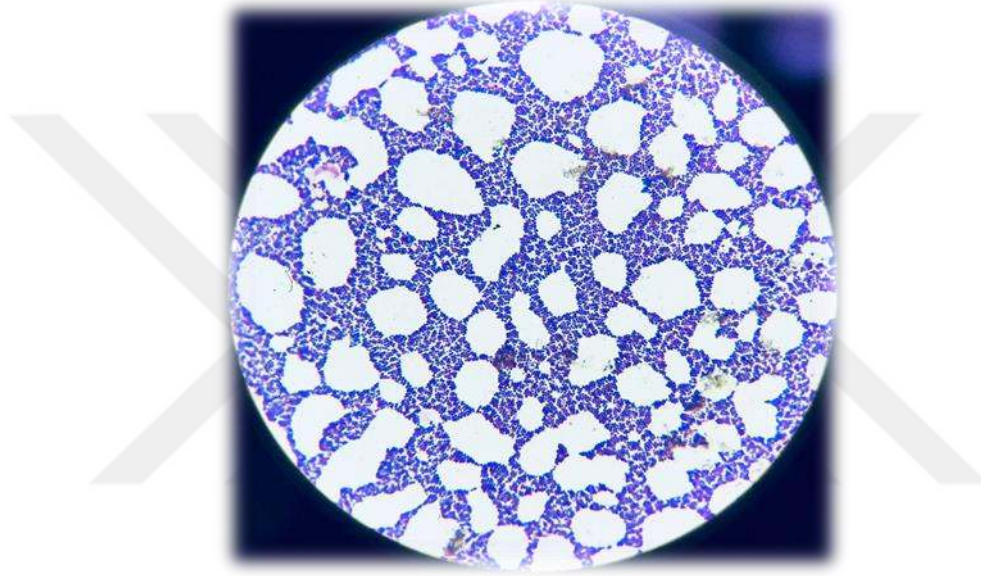
Şekil 4.5. Kanlı agarda *S. aureus* izolatlarının görünümü

4.2.2. Makroskopik İnceleme

Farklı besiyerlerinde gelişen *S. aureus*'un morfolojik görüntüleri incelendiğinde en hızlı 37°C'de gelişirken, en iyi pigment oluşumunun görüldüğü sıcaklık aralığı (20–25°C) arasındadır. Katı besiyerinde görülen koloniler küresel, pürüzsüz, kabarık ve parlak görünmektedir. *S. aureus* kolonileri genellikle gri ile koyu altın sarısı renkte olup değişen seviyelerde hemoliz göstermiştir.

4.2.3. Mikroskopik İnceleme

İzolatların kültürel ekiminden sonar saf kolonilerin gram boyamaları yapılmış ve mikroskop altında incelenmiştir. Mikroskop altında bakteri hücreleri Şekil 4.6'da görüldüğü gibi gram-pozitif koklar olarak ve üzüm salkımına benzer düzensiz kümeler halinde görülmüştür.



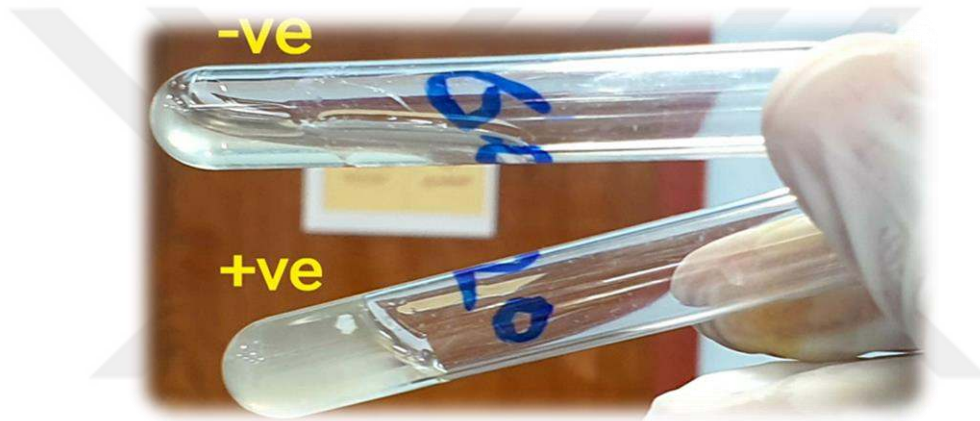
Şekil 4.6. Işık mikroskobu altında *Staphylococcus aureus*'un gram boyama görüntüsü

4.3. Biyokimyasal tanımlama

Staphylococcus aureus kültürleri üzerinde gerçekleştirilen biyokimyasal testler yapılmıştır. Yapılan testler arasından Şekil 4.6'da görüldüğü gibi katalaz, jelatinaz, DNaz, koagülaz testleri, hemoliz sırasıyla izolatlarda pozitif bulunmuştur. Şekil 4.7., 4.8., 4.9., 4.10'da oksidaz testi sonuçlarının görüntüleri verilmiştir.

Tablo 4.6. *Staphylococcus aureus* izolatlarının biyokimyasal testleri

Biyokimyasal test	Sonuç
Gram boyama	+
Katalaz	+
Novobiyosin	S
Oksidaz	-
DNAz	+
Koagülaz	+
Jelatin sıvılaştırma	+
Hemoliz	+
Mannitol fermantasyonu	+



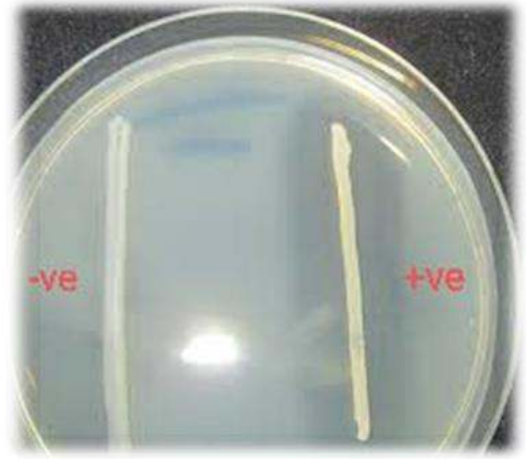
Şekil 4.7. Tüp koagülaz testi



Şekil 4.8. *Staphylococcus aureus* katalaz testi için pozitif sonuç



Şekil 4.9. *Staphylococcus aureus*
novobiyosin testi



Şekil 4.10. *Staphylococcus aureus*
DNase duyarlı

4.3.1. Api-20 Sistem Tanımlama

API 20 Staph, *Staphylococcus spp.* izolatlarının tanısını doğrulamak için kullanılan önemli biyokimyasal testtir. Şekil 4.11'de gösterildiği gibi *S. aureus* izolatları için kit indeksinden farklı olarak %86 ile %97 arasında değişen yüksek bir yüzde göstermiştir.



Şekil 4.11. Api-20 sistemine göre *S. aureus* sonuçları

4.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi

İYE olan hastalardan izole edilen tüm *S. aureus* numunelerinin antibiyotiğe karşı duyarlılık testinde disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Test edilen bakterilerin direnç oranlarında önemli farklılıklar olduğu gözlenmiştir. *S. aureus* izolatlarının en yüksek direnç oranı (%100) Ampisilin (Amp) ve (%97.7) Sefoksitin (FOX) için olup Tetrasiklin (TE), Klindamisin (CD) ve Trimetoprim-Sülfametoksazol (TMP) ve Eritromisin'e (E) karşı direnç oranları sırasıyla (%76.6), (%71.4), (%54.1) ve (%43.6) şeklindedir. İzolatların antibiyotiklere karşı en yüksek duyarlılığı Tablo 4.7'de

ve Şekil 4.12’de gösterildiği gibi Novobiocin (NV) ve Vankomisin (VA) antibiyotiklerine karşı (%88.7) ve (%83.4) oranlarındadır.

Tablo 4.7. *Staphylococcus aureus* izolatlarının antibiyogram sonuçları

Numara.	Antibiyotik	Sembol	Duyarlı	Orta düzey	Dirençli
1	Ampisilin	AMP	0	0	133 (%100)
2	Sefoksitin	FOX	2 (%1.5)	1 (%1.0)	130 (%97.7)
3	Tetrasiklin	TE	25 (%18.7)	6 (%4.5)	102 (%76.6)
4	Klindamisin	CD	30 (%22.5)	8 (%6.0)	95 (%71.4)
5	Trimetoprim	TMP	40 (%30)	21 (%15.8)	72 (%54.1)
6	Eritromisin	E	56 (%42.1)	19 (%14.2)	58 (%43.6)
7	Kotrimoksasin	COT	47 (%35.2)	29 (%21.7)	57 (%42.8)
8	Doksisiklin	DO	49 (%36.8)	30 (%22.5)	54 (%40.6)
9	Siprofloksasin	CIP	45 (%33.7)	35 (%26.2)	53 (%39.8)
10	Netilimisin	NET	66 (%49.5)	17 (%12.0)	50 (%37.6)
11	Nitrofuransiyon	NIT	95 (%71.4)	8 (%6.0)	30 (%22.5)
12	Vankomisin	VA	111 (%83.4)	10 (%7.5)	12 (%9.1)
13	Novobiyosin	NV	118 (%88.7)	3 (%2.2)	12 (%9.0)

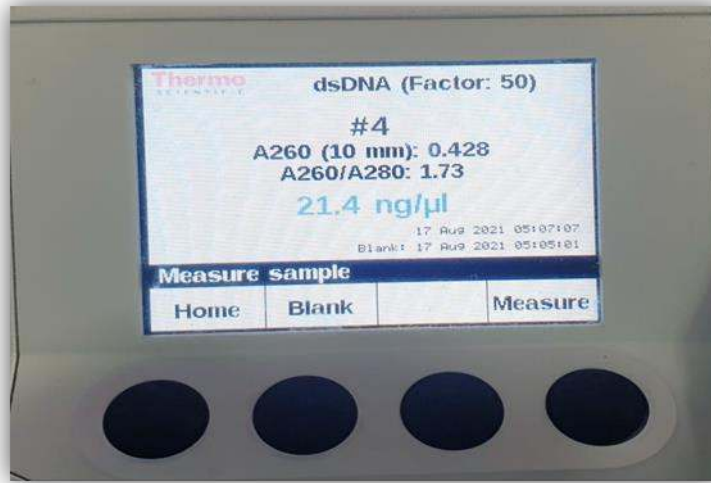


Şekil 4.12. *Staphylococcus aureus* izolatlarının agar disk difüzyon testi

4.5. *S. aureus*'a Özgü Genlerin Moleküler Tanımlanması

Morfolojik ve biyokimyasal özelliklere göre tanımlanmış *S. aureus* izolatları VITEK 2 Sisteminde de tanımlanması doğrulanmıştır. İdentifikasyonu yapılan izolatların DNA'ları ekstrakte edilmiş

(n=55) ve ekstrakte DNA'nın konsantrasyonu ve saflığı Nano drop cihazı kullanılarak ölçülmüştür, Şekil 4.13.



Şekil 4.13. Ekstrakte edilen DNA'nın Nano drop ile konsantrasyonunun ve saflığının belirlenmesi

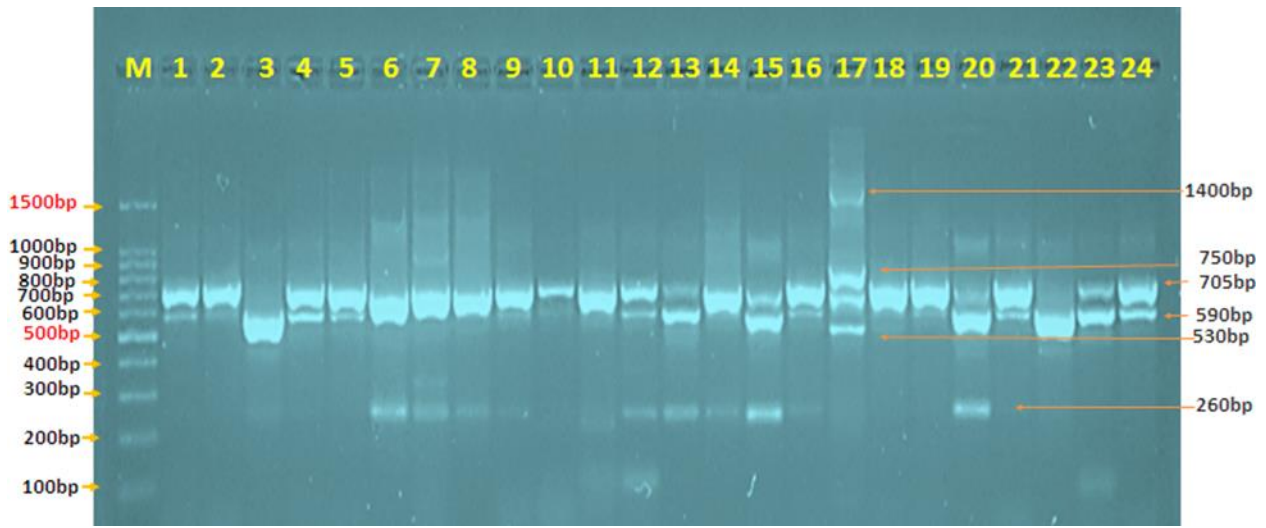
4.5.1. *S. aureus* İzolatlarında *spa* Geninin Belirlenmesi

Çalışmamızda İYE hastalarından alınan *S. aureus* izolatlarında (*spa*) geninin varlığı PCR tekniği kullanılarak tespit edilmiştir. Tüm *S. aureus* izolatlarının (n=55) hepsinde (%100) pozitif reaksiyonla (1400-260 bç) *spa* geni amplifiye edilmiştir. Spa genotipleme sonuçları Tablo 4.8'de olduğu gibi ve *S. aureus* protein A (*spa*) geninin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforez görüntüsü Şekil 4.14'te gösterilmiştir.

Tablo 4.8. *Spa* genotipleme sonuçları

<i>S. aureus</i> İYE izolatı No.	Tekrar polimorfizm sitesi sayısı	~bant boyutu (bç)	Genotip
İYE.1	2	705bç, 590bç	Tipi B1
İYE.2	2	705bç, 590bç	Tipi B1
İYE.3	1	530bç	Tipi A1
İYE.4	2	705bç, 590bç	Tipi B1
İYE.5	2	705bç, 590bç	Tipi B1
İYE.6	1	705bç	Tipi A2
İYE.7	1	705bç	Tipi A2
İYE.8	1	705bç	Tipi A2
İYE.9	1	705bç	Tipi A2
İYE.10	1	705bç	Tipi A2
İYE.11	1	705bç	Tipi A2
İYE.12	2	705bç, 590bç	Tipi B1
İYE.13	2	705bç, 590bç	Tipi B1

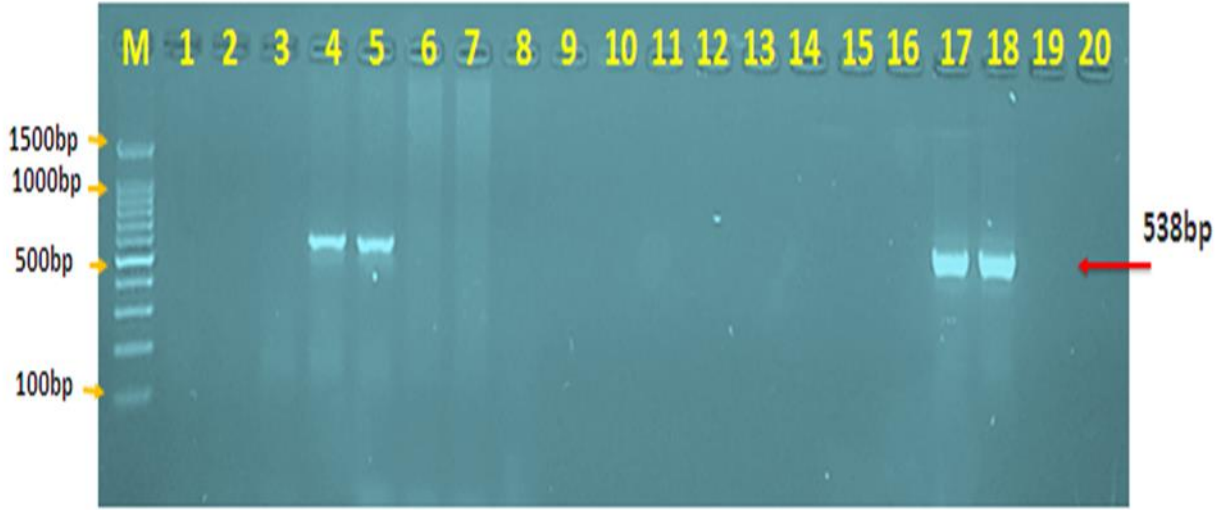
İYE.14	1	705bç	Tipi A2
İYE.15	2	705bç, 590bç	Tipi B1
İYE.16	2	705bç, 590bç	Tipi B1
İYE.17	4	1400bç, 750bç, 705bç, 590bç	Tipi D1
İYE.18	1	705bç	Tipi A2
İYE.19	1	705bç	Tipi A2
İYE.20	3	590bç, 530bç, 260bç	Tipi C1
İYE.21	2	705bç, 590bç	Tipi B1
İYE.22	1	530bç	Tipi A1
İYE.23	2	705bç, 590bç	Tipi B1
İYE.24	2	705bç, 590bç	Tipi B1



Şekil 4.14. İYE hastalarından izole edilen *S. aureus* izolatlarında *S. aureus* protein A (*spa*) geninin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforezi görüntüsü. Markır (100-1500 bç), şerit (1-24): (260-1400 bç) PCR ürün boyutunda pozitif *spa* geni görüntüsü.

4.5.2. *S. aureus*'ta *tst-1* Geninin Tespiti

Bu araştırmada, İYE hastalarından izole edilen *S. aureus*'ta (*tst-1*) geninin varlığı PCR tekniği kullanılarak tespit edildi. “Her bir gen, DNA merdiveninin karşılık gelen bölgesinde (1500-100bç) tek bir bant ile temsil edildi. Tüm *S. aureus* izolatları (n=55), Şekil 4.16'da gösterildiği gibi, 11 (%20) pozitif reaksiyonla (538bç) *tst-1* genine amplifiye edildi.



Şekil 4.15. İdrar yolu enfeksiyonu *Staphylococcus aureus* izolatlarında toksik şok sendromu toksin-1 (*tst-1*) geninin PCR ürün analizini gösteren agaroz jel elektroforezi görüntüsü. Markır (100-1500bç), PCR 4, 5, 17 ve 18 örneklerinde pozitif *tst-1* geni (538bç) görüntülenmektedir.

4.6. *S. aureus* Dizileme Analizi

İdrardan izole edilen üç *S. aureus* 'un PCR ürünleri, (*spa* ve *tst-1*) genleri için kısmi dizileme için Güney Kore'de bulunan Macrogen Firmasından hizmet alımı gerçekleştirilmiştir. NCBI-GenBank sitesindeki her bir gen sisteme yüklenmiş ve izolat erişim numarası elde edilmiştir.

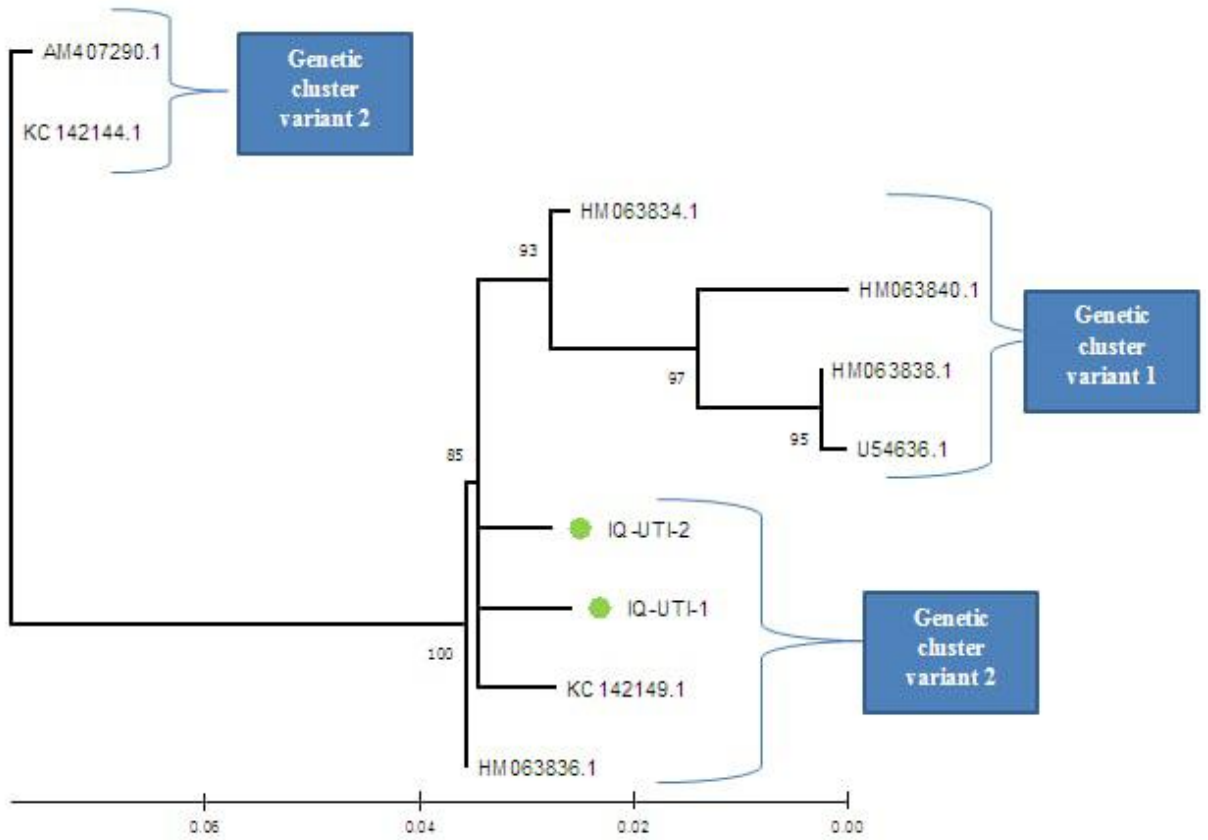
4.6.1. *Spa* geni için DNA Dizisi sonuçları

DNA dizileme yöntemi, yerel *S. aureus* izolatlarının (IQ-İYE.1-IQ-İYE.2) ve ilgili NCBI-Blast'ın immünoglobulin G bağlayıcı protein A (*spa*) genindeki genetik varyasyon (ikame Mutasyonları) analizini belirlemek için gerçekleştirilmiştir.

Filogenetik ağaç genetik ilişki analizi, yerel *S. aureus* izolatlarının (IQ-İYE.1 - IQ-İYE.2), toplam genetik değişimde (0.060) NCBI BLAST *S. aureus* genetik küme varyant 2 izolatı ile ilişkili görülmektedir (%0.020). Şekil 4.16'da gösterildiği gibi çalışmada izeol edilen *S. aureus* izolatları (IQ-İYE.1 - IQ-İYE.2) ve NCBI BLAST ile ilgili *S. aureus* Hindistan izolatı arasındaki homoloji dizisi özdeşliği, %98.95 - %99.16 arasında değişen genetik bir homoloji dizisi özdeşliği görülmüştür.

Lokal *S. aureus* izolatları (IQ-İYE.1 - IQ-İYE.2) ve NCBI-Blast ile ilgili *S. aureus* izolatı arasındaki v immünoglobulin G bağlayıcı protein A (*spa*) genindeki genetik varyasyon (ikame Mutasyonları) analizi bulundu 4 5 ikame mutasyonuna toplam genetik varyasyon yüzdesi (0.84-1.05) arasında değişmektedir Tablo 4.9 ve Şekil 4.17.

Son olarak, yerel *S. aureus* IQ-İYE.1 - IQ-İYE.2 izolatları IQ-UTI-1 ve IQ-UTI-2 olarak OL411975 ve OL411976 erişim numaraları ile NCBI Genbank'a gönderilmiştir.



Şekil 4.16. Filogenetik ağaç analizi, genetik ilişki analizi için kullanılan lokal *S. aureus* izolatlarında immünoglobulin G bağlayıcı protein A (*spa*) geni kısmi sekansına dayalıdır. Filogenetik ağaç, (MEGA 6.0 versiyonunda) Aritmetik Ortalama (UPGMA ağacı) ile Ağırlıksız Çift Grup yöntemi kullanılarak oluşturulmuştur. Yerel *S. aureus* izolatlarının (İYE-IQ.1 ve İYE-IQ.2), toplam genetik değişimde (%0.020-0.060) NCBI BLAST *S. aureus* genetik küme varyant 2 izolatı ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Tablo 4.9. Çalışmamızda elde edilen *S. aureus* izolatları arasındaki NCBI-BLAST genetik varyasyon analizi.

Bakteri No	Erişim numarası	Homoloji dizi analizi			
		Sayı Mutasyonları	Mutasyon Türü	Mutasyon	Benzerlik (%)
İYE.No.1	OL411975	5	A/C, A/C, A/T, A/T, A/T	%1.05	%98.95
İYE.No.2	OL411976	4	A/T, C/A, A/T, A/T	%0.84	%99.16

IQ-İYE-1

Puan	Expect	Benzerlik	Boşluk	Yalı
848 Bit (459)	0.0	469/474 (%99)	0/474 (%0)	Artı/Artı

Query	563	AACGCAATGGTTTATCCAAAGCCTTAAAGATGATCCAAGCCAAAGTGCTAACGTTTATAG	622
Sbjct	1		60
Query	623	GTGAAGCTAAAAAAGCTTAATGACTCTCAAGCTCCAAAAGCTGAAGCGCAACAAAATAACT	682
Sbjct	61		120
Query	683	TCAACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATTTTGAACATGCCTAACTTAAACGAAG	742
Sbjct	121		180
Query	743	CGCAACGCAATGGTTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGATCCAAGCCAAAGCACTAACGTTT	802
Sbjct	181		240
Query	803	TAGGTGAAGCTAAAAAATTAAACGAATCTCAAGCACCGAAAGCTGACAACAAATTCAACA	862
Sbjct	241	C*.....C*.....T*..T*.....	300
Query	863	AAGAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATCTTACATTTACCTAACTTAAACGAAGAACAAC	922
Sbjct	301	T*.....	360
Query	923	GCAATGGTTTCATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAGCCAAAGCGCTAACCTTTTAGCAG	982
Sbjct	361		420
Query	983	AAGCTAAAAAGCTAAATGATGCACAAGCACCAAAAGCTGACAACAAATTCAACA	1036
Sbjct	421		474

IQ-İYE-2

Puan	Ummak	Benzerlik	Boşluk	Yalı
863 Bits (467)	0.0	475/479 (%99)	0/479 (%0)	Artı/Artı

Query	563	AACGCAATGGTTTATCCAAAGCCTTAAAGATGATCCAAGCCAAAGTGCTAACGTTTATAG	622
Sbjct	1		60
Query	623	GTGAAGCTAAAAAAGCTTAATGACTCTCAAGCTCCAAAAGCTGAAGCGCAACAAAATAACT	682
Sbjct	61		120

Query	683	TCAACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATTTTGAACATGCCTAACTTAAACGAAG	742
Sbjct	121	T*.....	180
Query	743	CGCAACGCAATGGTTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGATCCAAGCCAAAGCACTAACGTTT	802
Sbjct	181	A*.....	240
Query	803	TAGGTGAAGCTAAAAAATTAAACGAATCTCAAGCACCGAAAGCTGACAACAAATTCAACA	862
Sbjct	241	T*.....	300
Query	863	AAGAACAACAAATGCTTTCTATGAAATCTTACATTTACCTAACTTAAACGAAGAACAAC	922
Sbjct	301	T*.....	360
Query	923	GCAATGGTTTCATCCAAAGCTTAAAAGATGACCCAAGCCAAAGCGCTAACCTTTTAGCAG	982
Sbjct	361		420
Query	983	AAGCTAAAAAGCTAAATGATGCACAAGCACCAAAAGCTGACAACAAATTCAACAAAGAA	1041
Sbjct	421		479

Şekil 4.17. Lokal *S. aureus* izolatlarında ve Genbankta bulunan *S. aureus* izolatları arasındaki immünoglobulin G bağlayıcı protein A (spa) geninin çoklu dizi analizi. Çoklu dizi analizinde, çevrimiçi ClustalW hizalama aracı kullanılmıştır. Bu hizalama analizi, izolatlar arasında (*) olarak nükleotit hizalama benzerliğini ve immünoglobulin G bağlayıcı protein A (spa) genindeki ikame mutasyonlarını göstermektedir.

4.6.2. tsst-1 geni için DNA Dizi sonuçları

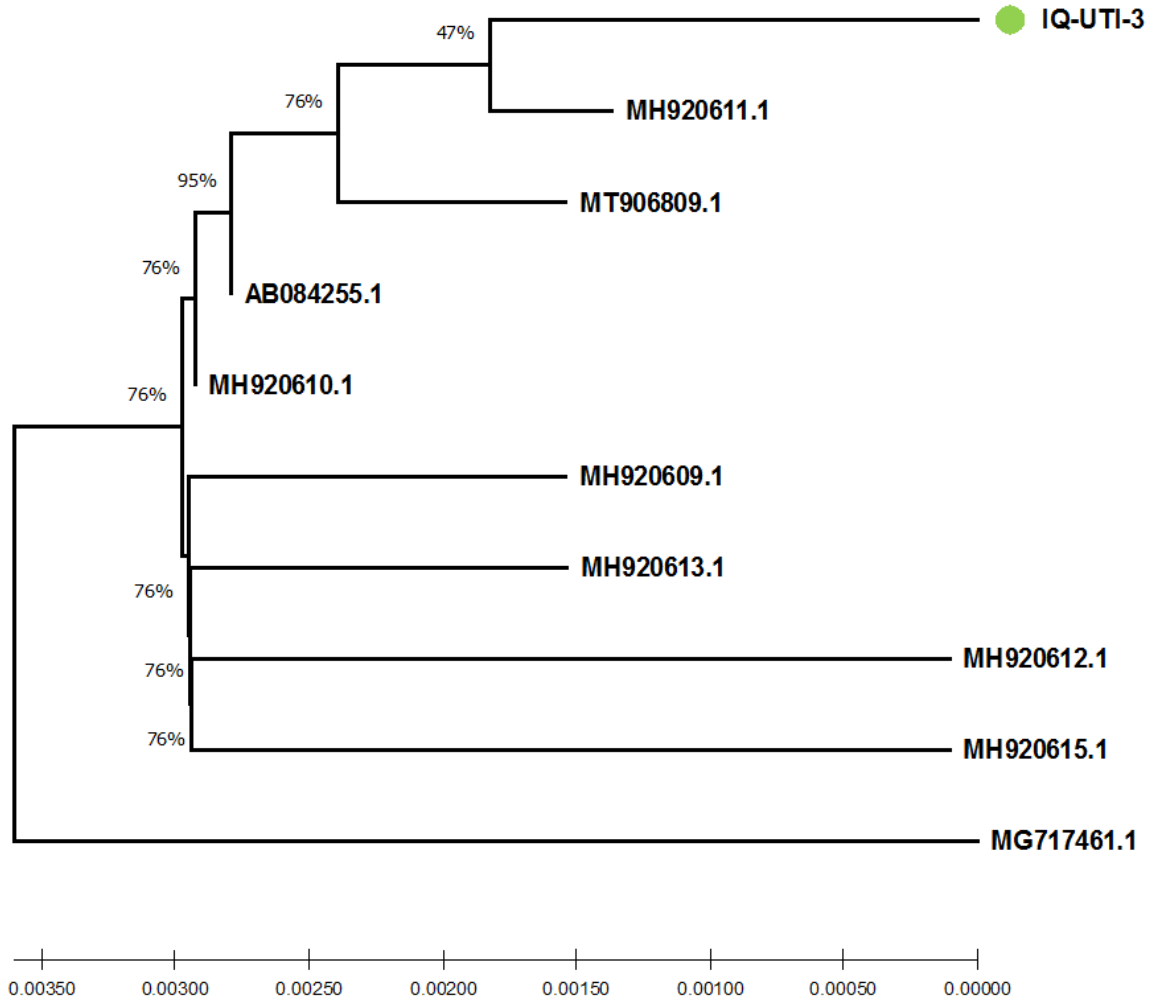
Yerel *S. aureus* izolatının (IQ-İYE.3) ile ilgili NCBI-Blast toksik şok toksininin toksik şok toksin-1 (*tst-1*) genindeki genetik varyasyon (trafo Mutasyonları) analizi için DNA dizileme yöntemi uygulanmıştır.

Filogenetik ağaç analizi sonucunda, en çok benzerliğin yerel *S. aureus* izolatının (IQ-İYE.3) MH920611.1 erişim numarasına sahip NCBI BLAST *S. aureus* *tst-1* geni ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Şekil 4.18'de gösterildiği gibi genetik değişim (%0.00050-0.00350) arasındadır.

Lokal *S. aureus* izolatı (IQ-İYE.3) ve NCBI BLAST ile ilgili *S. aureus* izolatı arasındaki homoloji dizi özdeşliği, (%99.77) arasında değişen genetik homoloji dizi özdeşliği göstermiştir.

Lokal *S. aureus* izolatları (IQ-İYE.3) ve NCBI-Blast ile ilgili *S. aureus* izolatı arasındaki *tst-1* genindeki genetik varyasyon (ikame Mutasyonları) analizi, toplam genetik varyasyonda bir ikame mutasyonu bulunmuştur. Tablo 4.10'da ve Şekil 4.19'da gösterildiği gibi genetik varyasyon %0.23 olarak bulunmuştur.

Son olarak, yerel *S. aureus* IQ-İYE-3 izolatu IQ-UTI-3 olarak, OL411977 erişim numaralarıyla NCBI Genbank'a gönderilmiştir.



Şekil 4.18. Genetik ilişki analizi için kullanılan lokal *S. aureus* izolatlarında filogenetik ağaç analizine dayalı toksik şok sendromu toksin-1 (tsst-1) geni kısmi dizisi. Filogenetik ağaç, (MEGA 6.0 versiyonunda) Aritmetik Ortalama (UPGMA ağacı) ile Ağırlıksız Çift Grup yöntemi kullanılarak oluşturulmuştur. Yerel *S. aureus* izolatları (İYE-IQ.3), toplam genetik değişimde (%0.00050-0.00350) NCBI BLAST *S. aureus* izolatu (MH920611.1) ile yakından ilişki göstermiştir.

Tablo 4.10. Yerli *S. aureus* izolatu *tsst1* geni ve GENBANK'ta yer alan *S. aureus* izolatları arasındaki genetik varyasyon analizi

Yerel izolat	Erişim numarası	Homoloji dizi analizi			
		Sayı Mutasyonlar	Mutasyon Türü	Mutasyon (%)	Özdeşlik (%)
İYE.No.3	OL411977	1	T/C	%0.23	%99.77

IQ-İYE-3

Puan	Ummak	Benzerlik	Boşluk	Yalı
806 Bits(436)	0.0	438/439 (%99)	0/439 % (0)	Artı/Artı

Query	80	TTCCCTTATCATCTAATCAAATAATCAAACTGCAAAAGCATCTACAAACGATAATATAA	139
Sbjct	1		60
Query	140	AGGATTTGCTAGACTGGTATAGTAGTGGGTCTGACACTTTTACAAATAGTGAAGTTTATAG	199
Sbjct	61		120
Query	200	ATAATTCCTTAGGATCTATGCGTATAAAAAACACAGATGGCAGCATCAGCCTTATAATTT	259
Sbjct	121		180
Query	260	TTCCGAGTCCTTATTATAGCCCTGCTTTTACAAAAGGGGAAAAAGTTGACTTAAACACAA	319
Sbjct	181		240
Query	320	AATGAATAAAAAAGCCAACATACTAGCGAAGGAACTTATATCCATTTCCAAATAAGTG	379
Sbjct	241	..C*.....	300
Query	380	GCGTTACAAATACTGAAAAATTACCTACTCCAATAGAACTACCTTTAAAAGTTAAGGTTC	439
Sbjct	301		360
Query	440	ATGGTAAAGATAGCCCCTTAAAGTATTGGCCAAAGTTCGATAAAAAACAATTAGCTATAT	499
Sbjct	361		420
Query	500	CAACTTTAGACTTTGAAAT	518
Sbjct	421		439

Şekil 4.19. Yerli *S. aureus* izolatu ve NCBI-Genbank *S. aureus* ile ilgili izolatlarda toksik şok sendromu toksin-1 (*tsst-1*) geninin çoklu dizi analizi. Çoklu hizalama analizi (ClustalW hizalama

aracı. Çevrimiçi) kullanılarak oluşturulmuştur. Bu hizalama analizi, izolatlar arasında *tsst-1* genindeki (*) nükleotid hizalama benzerliğini ve ikame mutasyonlarını göstermiştir.

5. TARTIŞMA

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE) yaygın bir hastalık olup, genellikle ayaktan ve hastanede yatan hastalarda sık görülen bir morbidite nedenidir. Tüm yaş gruplarından ve farklı coğrafi bölgelerden her insanı etkilemektedir (Wagenlehner ve Naber, 2006). İYE'de hastaların semptomatik veya asemptomatik belirtileri olabilir. İYE genetik farklılıktan dolayı, kadınlarda erkeklerden daha sık görülmektedir. Günümüzde insanlarda meydana gelen en yaygın bakteriyel enfeksiyon hastalıklarından biridir (Angami *et al.*, 2015).

Mevcut çalışma AL-Nasiriyah şehrindeki İYE hastalarından izole edilen *Staphylococcus aureus*'un morfolojik ve moleküler tespiti amacıyla yürütülmüştür. Bu çalışmanın bulguları 66.5% gibi oldukça yüksek düzeyde pozitiflik göstermiştir. Irak'da yapılan benzer bir çalışmada idrar kültüründen izole edilen kültürlerdeki pozitiflik oranı %57.9 şeklindedir. Bu oranlar bizim çalışmamız ile benzerlik göstermektedir (Hammoudi, 2013). Diğer yandan bir başka çalışmada ise pozitif kültür oranı %41.6 olarak bulunmuştur (Alsamarai *et al.*, 2016). Bu oran bizim pozitif oranımıza göre oldukça düşüktür. Irak dışında yapılan farklı çalışmalarda da, İYE pozitiflik oranları sırasıyla %39.7, % 26ve %30.69 olarak belirlenmiştir (Oladeinde *et al.*, 2011; Sohail *et al.*, 2015; Sujatha ve Pal, 2015). Patojen dağılımındaki bu farklılıklar, çalışmaların farklı alanları ile açıklanabileceği gibi, tedavide kullanılan ve patojenin dağılımında ve yayılmasında önemli rolü olan ilaçlardan da kaynaklanabilir. Bir mikrobiyal ajanın kaybolma riski, numune alma süresi boyunca hastaların kullandığı antibiyotiklere bağlı olabilir. İnsanlarda İYE'lerin çok yaygın olduğu ancak belirsiz veya ihmal edildiği, bu da ihmal veya yanlış teşhis nedeniyle istenmeyen komplikasyonlara neden olabilmektedir. İYE'nin erken teşhisi ve tedavisi, gelecekte yüksek tansiyon ve böbrek kanaması insidansını önemli ölçüde azaltmaya yardımcı olacaktır (Al-Rawi, 2010).

2007 yılında yapılan benzer bir çalışmada pozitiflik oranının 20-49 yaş grubunda daha sık görüldüğünün bildirilmesi (Akram *et al.*, 2007) İYE riskinin yaşla birlikte arttığını bildiren diğer çalışmalarla çelişkili görünmektedir (Anbumani ve Mallika, 2007). Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz veriler İYE'lerinde *S. aureus* görülme oranı yaş ile birlikte artmıştır. Yaş ilerlemesi ile İYE insidansının artması, kadında menopozdan sonra genitoüriner atrofi ve vajinal prolapsus nedeniyle olabilmekte, bu durum vajinal pH'ı artırarak vajinal *Lactobacillus* sayısının azalmasına ve bakteriüri riskinin artmasına sebep olmaktadır (Scholes *et al.*, 2000).

Çalışmamızda İYE semptomları olan hastaların çoğu, %68 oran ile kadınlar oluşturmaktaydı. Kadınlardaki enfeksiyon prevalansının yüksek olması, üretranın kısıklığı, patojenlerin üretraya

kolay ulaşmasını sağlaması ve dolayısıyla bakterilerin idrar yoluna çıkma mesafesinin daha kısa olması gibi anatomik ve patojenik faktörlere bağlıdır. Örneğin menopozla birlikte bir kadının östrojen seviyeleri azaldıkça, koruyucu vajinal floranın kaybı nedeniyle İYE riski daha da artmaktadır (Ismail *et al.*, 2018). Bunların dışında kontraseptif kullanımı, doğum ve menopoz da diğer etkenler olarak sayılabilir (Dielubanza ve Schaeffer, 2011).

Yaşlı kadınlar, hormonal değişiklikler ve vajinanın asitliğindeki farklılıklar nedeniyle, genç kadınlara göre İYE enfeksiyonuna karşı daha savunmasızdır (Rahman *et al.*, 2010). Bu nedenle, mevcut çalışmanın sonuçlarının, aynı alanda İYE'nin kadınlarda erkeklerden daha sık olduğunu kanıtlayan diğer çalışmalarla tutarlı olması beklenen bir sonuçtur (Fadhel *et al.*, 2013; Sohail *et al.*, 2015; Bartani *et al.*, 2018).

Çalışmamızda enfeksiyonların görülme oranı, kentsel alanlara kıyasla kırsal alanlara göre daha yüksek bulunmuştur. Benzer bir çalışmada yine sonuçlar benzerlik göstermiş olup, kentsel ve kırsal alanlar için sırasıyla (%62.9) ve (%37.1) bir oran görülmüştür (Seifu ve Gebissa, 2018). Bu oranların farklı olmasının nedenlerinden biride kentsel alanlarda kırsal alanlara kıyasla nüfus yoğunluğunun ve çevre kirliliğinin fazla olmasıdır. Yine bir başka çalışmada da, kentsel alanlarda görülen *S. aureus* enfeksiyon yüzdesini (%66.1) olarak belirlemişlerdir (Gessese *et al.*, 2017)

Çalışmamıza dahil edilen hasta gruplarında ayaktan hasta gruplarında İYE görülme oranının hastanede yatan gruba göre daha yüksek oranda bulunmuştur. Çalışmamızın sonuçları diğer çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur (Harsha *et al.*, 2013; Iregbu ve Nwajiobi, 2013). Ayakta tedavi gören hastalarda enfeksiyon oranlarının daha yüksek görülmesinin nedeni kirli tuvalet tesisleri ve yetersiz drenaj gibi hazırlayıcı faktörlere bağlanabilir (Hannah *et al.*, 2011).

S. aureus'un tüm izolatları farklı biyokimyasal testlere ek olarak mikroskopik inceleme, kültür ortamının morfoloji özelliği gibi sayısız özelliklerle tanımlanmıştır. Özellikle hastanelerde *S. aureus*'un identifikasyonunda biyokimyasal testlerin pahalı, yavaş ve yetersiz olması sebebi ile API-20 Staph testleri hızlı tanı için kullanılmaktadır.

Bu çalışmada izole edilen *S. aureus*'un koloni morfolojisi, gram boyaması ve biyokimyasal reaksiyonu, diğer çalışmalarda bildirilen sonuçlara benzerdir (Habib *et al.*, 2015; Markey *et al.*, 2014).

Bunun üzerine mikroskop altında, on mannitol tuz agarına göre esas olarak kümeler halinde gruplanmış kok şekli ile G (+) olarak görülen 85 şüpheli izolat, mannitolü fermente edebilmiş ve asit üretimi nedeniyle sarı renk üretmiştir. Onları *Streptococcus* spp.'den ayıran katalaz enzimi üretimi nedeniyle katalaz pozitif, protrombin ile reaksiyona giren ve fibrinojeni fibrine

dönüştürerek kanın pıhtılaşmasına neden olan stafilotrombini oluşturan koagülaz enzimi üretmeleri nedeniyle koagülaz pozitifiler. İzolatların koagülaz pozitifliği *S. aureus*'u diğer *Staphylococcus* spp. Bu nedenle, koagülaz üretimi olan tüpler, test edilen izolatların nükleaz enzimi üretme kabiliyetini tanımlayan *S. aureus*'un tanımlanması için "altın standart" olarak kabul edilir ve bu izolatların DNA'yı parçalama kabiliyetine sahip olduğunu düşündürür.

Ayrıca veri (kit) olarak verilen spesifik antibiyotiklere karşı izolatların antibiyotik duyarlılık paternini çıkarabilme özelliğinin yanı sıra şüpheli izolatların tür düzeyinde hızlı bir şekilde tanımlanmasını sağlayan bir sistem olan VITEK 2 kullanılarak doğrulayıcı identifikasyon yapılmıştır (Cartwright *et al.*, 2013).

Son yıllarda *S. aureus* hem yeni hem de geleneksel antibiyotiklere karşı dirençli hale gelmesi antibiyotiğe dirençli bakterilerin tedavisinde terapötik bir sorun teşkil etmektedir. Bu nedenle, duyarlılık paterninin araştırılması, etkili tedavinin gelecekteki zorluklarını belirlemede büyük önem arz etmektedir (Chambers *et al.*, 2009).

Antibiyotikler, tüm İYE'lerin ana tedavisidir. Çeşitli antibiyotikler mevcuttur ve seçenekler, enfeksiyonun komplike ya da komplike olmaması veya birincil ya da tekrarlayan olması gibi birçok faktöre bağlıdır (Zahera *et al.*, 2011). Dünya çapındaki verilerin, idrar yolu patojenleri arasında geleneksel ilaçlara karşı artan bir direnç gösterdiği görülmektedir (Khan *et al.*, 2019). Çalışmamızda izole edilen bütün izolatlar, ampisilin ve sefoksitine (metisilin direncinin bir ölçüsü) %100 dirençli bulunmuştur. Irak'da yapılan benzer çalışmalarda da ampisilin direnci uyumlu bulunmuştur (Saad ve Ahmed, 2019; Hussain *et al.*, 2018).

Dünya çapında yapılan çalışmalarda da, ampisiline (%100), sefoksitine (%97.7) ve ardından tetrasikline (%76.6) karşı yüksek direnç oranları görülmüştür (Onanuga *et al.*, 2012). Ampisilin direnci, enzimatik etkinin yapısal modifikasyonuna (β -laktam etkisi) veya dış membran geçirgenliğini değiştirerek hedefe erişimin engellenmesine bağlı olabilir ve antibiyotik hedef bölgesinin değişmesine bağlı olabilir (Chakraborty *et al.*, 2011).

Çalışmamızda vankomisin ve novobiyosin antibiyotiklerine karşı test edilen izolatların (%83.4) ve (%88.7) oran ile duyarlı oldukları görülmüştür. Elde edilen sonuçlar yapılan başka çalışmalar ile benzerlik göstermektedir (Moussa ve Shibl, 2009). Ayrıca Nitrofurantoin en etkili antibiyotiklerden biri olup (%71.4), bunu Netilmicin ve Ciprofloksacin takip etmiştir. Bu sonuçlarda diğer çalışma sonuçları ile uyumluluk göstermektedir (Barberis *et al.*, 2001).

S. aureus 'un hızlı ve doğrudan tanımlanması için kullanılan bir genetik belirteç olarak kabul edilen *spa* ve *tst-I* gen tespiti gibi fenotipik ve genotipik analiz dahil olmak üzere *S. aureus* 'un tanımlanması için çeşitli teknikler geliştirilmiştir (Ostojić ve Hukić, 2015).

Spa tiplemesi, protein A *spa*'sını kodlayan genin polimorfizm sitine dayanır. Protein A, beş IgG bağlanma bölgesinden (A, B, C, D, E) ve C-terminal hücre duvarı ek kısmından oluşan *S. aureus* 'un önemli bir virülans faktörüdür. Bu protein *spa* sını kodlayan gen, biri Fc-bağlanma alanını kodlayan ve diğeri X bölgesini kodlayan iki bölgeden oluşmaktadır (Harmsen *et al.*, 2003).

Spa tipleme yöntemi, tandem tekrarlarının sayısına ve protein A geninin X bölgesindeki dizi varyasyonuna dayanmaktadır. Çok sayıda çalışma, dünyanın farklı coğrafi bölgelerindeki hastalardan izole edilen *S. aureus* suşları arasında farklı *spa* gen kalıpları göstermiştir (Furuya *et al.* 2010).

Bu çalışmada, İYE örneklerinde *spa* geninin genotipik tanımlama oranı, özellikle İYE'de farklı sayıda tekrar polimorfizm bölgesi ile 24 (%100) idi. Elde edilen çalışma verileri diğer benzer çalışmalar ile uyum içinde görünmektedir (Goudarzi, Mehdi *et al.*, 2018). Ancak sonuçlar aynı araştırmacının farklı yıllarda yaptıkları çalışma ile benzerlik göstermemektedir. Bu çalışmada benzerlik yüzdesini (%25.3) olarak belirlemişlerdir (Goudarzi, Mehdi *et al.*, 2019). Bu farklılıklar kullanılan klinik örneklerin kaynak ve sayısından, kullanılan farklı tekniklerin duyarlılığından veya coğrafi bölgelerden kaynaklanabilir.

Isıya, asitlere, proteolize ve kurumaya karşı oldukça dirençli olan *S. aureus* süperantijenleri (SAG'ler), glikosile edilmemiş düşük moleküler ağırlıklı ekzoproteinlerin olağanüstü bir ailesidir (Spaulding *et al.*, 2013). Bu ailenin toksinleri, aşırı ve konvansiyonel olmayan T hücresi aktivasyonunu ve sitokin salınımını tetikleme ve sonuç olarak bağışıklık sistemi işlevine sistemik olarak müdahale etme kapasitesine sahiptir.

SAG'lerin biyolojik toksisitesi, onları yaşamı tehdit eden enfeksiyonlara neden olan kritik katkılar haline getirir. *tst-I* geni tarafından kodlanan toksik şok sendromu toksini-1 (*TSST-I*), SAG'lerin önemli bir üyesidir ve duyarlı bir konakçıda stafilokokal toksik şok sendromuna (TSS) yol açabilir (Spaulding *et al.*, 2013). Bu çalışmada, tüm *S. aureus* izolatları, 4 (%20) pozitif reaksiyonla *tst-I* genine (538 bp) amplifiye edildi. Bu sonuçlar başka çalışmalarda %22 ve %18 olarak belirtilmiştir (Alni *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2017). Diğer çalışmalarda *tst-I* gen oranı biraz daha yüksekti, yapılan bir çalışmada *tst-I* geni pozitiflik oranı %26.31 (Costa *et al.* 2018) olarak bulunurken başka bir çalışmada da %44.4 (Goudarzi, Mehdi *et al.*, 2018) olarak tespit edilmiştir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

6.1. SONUÇLAR

- 1- Moleküler teknik, hem cins hem de tür düzeyinde *S. aureus*'u tespit etmede en hassas ve doğru yöntem olarak bulunmuştur.
- 2- İYE hastalarından izole edilen *S. aureus* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık testinde en yüksek direnç Ampisilin ve Sefoksitin'e karşı oluşmuştur.
- 3- Yaş ve cinsiyet, İYE'lerde göze çarpan bir risk faktörü olarak görünmektedir.
- 4- İYE hastalarından izole edilen *S. aureus* 'un genotipik tanımlaması, izolatların (%100) *spa* geni taşıdığını göstermiştir.
- 5- Gen dizilemesi, İYE'lerin patogeneğinde ve evrimsel ilişkilerinde önemli bir araçtır.

6.2. ÖNERİLER

- 1- *S. aureus* 'un İYE hastalıklarındaki etkisini takip etmek için immünolojik ve histopatolojik çalışmalar gibi daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.
- 2- *S. aureus* suşlarının direnç profilini belirleyebilmek için diğer antibiyotik türlerini kullanmak gereklidir.
- 3- İYE patojenlerinin düzenli olarak taranması bu hastalığın prevalansını azaltacaktır.
- 4- Diğer bakteriyel virölans faktörlerinin tespiti ve polimorfizm a ve fragman harita çalışmaları yapılması gerekmektedir.

7. REFERANSLAR

Akram, M.; Shahid, M., and Khan, A. U. (2007). Etiology and antibiotic resistance patterns of community-acquired urinary tract infections in JNMC Hospital Aligarh, India. *Annals of Clin. Mic. Anti.*, 6(1): 4-9.

Al-Badr, A., and Al-Shaikh, G. (2013). Recurrent urinary tract infections management in women: a review. *SQUMJ.*, 13(3): 359-367.

Allen, H. K.; Donato, J.; Wang, H. H.; Cloud-Hansen, K. A.; Davies, J., and Handelsman, J. (2010). Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nature. Rev. Micro.*, 8(4): 251-259.

Al-Mebairik, N. F.; El-Kersh, T. A.; Al-Sheikh, Y. A., and Marie, M. A. M. (2016). A review of virulence factors, pathogenesis, and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *RMM.*, 27(2): 50-56.

Alni, R. H., Mohammadzadeh, A., Mahmoodi, P., & Alikhani, M. Y. (2018). Detection of toxic shock syndrome toxin (*TSST*) gene among *Staphylococcus aureus* isolated from patients and healthy carriers. *Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection*, 5(1), 14249-14249.

Al-Rawi, A. G. (2010). Ultrasound, excretory urography and urinary problems in Iraqi children. *Iraqi.J. Commu. Medi.*, 23(2): 105-109.

Al-Ruaily, M. A., & Khalil, O. M. (2011). Detection of (*mecA*) gene in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) at Prince a/Rhman Sidery hospital, al-Jouf, Saudi Arabia. *Journal of Medical Genetics and Genomics*, 3(3), 41-45.

Alsamarai, A. G. M., and Abdulaziz, M. M. (2016). Urinary tract infection in Iraq: Evaluation of early detection methods and etiology. *WJPPS.*, 5: 181-194.

Alsamarai, A. G. M.; Khorshed, S. A., and Ali, H. (2016). Urinary tract infection in female in Kirkuk, Iraq: impact of younger aged women compared to diabetic and pregnant women. *WJPPS.*, 5(11), 73-86.

Al-Ugaili, D. (2013). *Bacteriological and Genetic Studies on Oxacillin Resistant Staphylococcus aureus Isolated from Some Hospital in Baghdad City* (Doctoral dissertation, Ministry of Higher Education).

Anand, K. B.; Agrawal, P.; Kumar, S., and Kapila, K. (2009). Comparison of cefoxitin disc diffusion test, oxacillin screen agar, and PCR for *mecA* gene for detection of *MRSA*. *IJMM.*, 27(1): 27-29.

Anbumani, N., and Mallika, M. (2007). Antibiotic resistance pattern in uropathogens in a tertiary care hospital. *Indian J. Pract Doctor*, 4(1): 204-207.

- Andersen, B. M. (2019).** Urinary tract infections: Prevention. In prevention and control of infections in Hospitals. Cham: Springer, pp: 583-609.
- Angami, S.; Jamir, N.; Sarma, P. C., and Deka, A. C. (2015).** Urinary tract infection, its causative microorganism and antibiotic susceptibility in Nagaland. AMHS., 3(1): 40-43.
- Appelbaum, P. C. (2006).** The emergence of vancomycin-intermediate and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. CMI., 12: 16-23.
- Archer, N. K.; Adappa, N. D.; Palmer, J. N.; Cohen, N. A.; Harro, J. M.; Lee, S. K. and Shirliff, M. E. (2016).** Interleukin-17A (IL-17A) and IL-17F are critical for antimicrobial peptide production and clearance of *Staphylococcus aureus* nasal colonization. Infection and immunity, 84(12), 3575-3583.
- Archer, N. K.; Harro, J. M. and Shirliff, M. E. (2013).** Clearance of *Staphylococcus aureus* nasal carriage is T cell dependent and mediated through interleukin-17A expression and neutrophil influx. Infection and immunity, 81(6), 2070-2075.
- Aryal, S. (2018).** *Catalase Test-Principles, Uses, Procedure, Result Interpretation with precautions.* Available online at <https://microbiologyinfo.com/catalase-testprinciple-uses-procedure-result-interpretation-with-precautions>. Retrieved 17/05.
- Assimakopoulos, S. F.; Kraniotis, P.; Gogos, C., & Marangos, M. (2018).** Renal vein thrombosis complicating severe acute pyelonephritis with renal abscesses and associated bacteraemia caused by extended-spectrum betalactamase producing *Escherichia coli*. CEN case reports, 7(1): 90-93.
- Atlas, R. M. (2010).** Handbook of microbiological media. CRC press. 4th ed. United.
- Bader, M. S., Loeb, M., Leto, D., & Brooks, A. A. (2020).** Treatment of urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance and new antimicrobial agents. Postgraduate medicine, 132(3), 234-250.
- Barber, M. and Rozwadowska-Dowzenko, M. (1948).** Infection by Penicillin Resistant.
- Barberis, I. L.; Pajaro, M. C.; Godino, S. D.; Pascual, L., and Daniele, M. D. (2001).** Antimicrobial sensitivity and adherence study in strains of coagulase- negative *Staphylococcus spp.* Revista Latinoamericana De Microbiologia Mexico-, 43(3): 109-113.
- Bartani, Z.; Shokry, E., and Abdi, H. (2018).** The prevalence of bacterial sensitivity and resistance in non-complicated urinary tract infection in outpatient with urinary tract infection in Kermanshah city. Medical Science, 22(89): 78-84.
- Bassetti, M.; Trecarichi, E. M.; Mesini, A.; Spanu, T.; Giacobbe, D. R.; Rossi, M. and Viscoli, C. (2012).** Risk factors and mortality of healthcare-associated and community-Kreienbuehl, L.; Charbonney, E. and Eggimann, P. (2011). Community-acquired necrotizing *pneumonia* due to methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* secreting Pantan-Valentine leukocidin: a review of case reports. Annals of intensive care, 1(1), 52.
- Bauer, A. W.; Kirby, W. M.; and Turck, M. (1966).** Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. AJCP., 45(4): 493-496.

- Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. (2014).** Coagulase-negative staphylococci. *Clinical microbiology reviews*, 27(4), 870-926.
- Bhakdi, S., and Tranum-Jensen, J. (1991).** Alpha-toxin of *Staphylococcus aureus*. *MMBR.*, 55(4): 733-751.
- Bien, J., Sokolova, O., & Bozko, P. (2011).** Characterization of virulence factors of *Staphylococcus aureus*: novel function of known virulence factors that are implicated in activation of airway epithelial proinflammatory response. *Journal of pathogens*, 2011.
- Bodro, M.; Linares, L.; Chiang, D.; Moreno, A., and Cervera, C. (2018).** Managing recurrent urinary tract infections in kidney transplant patients. *Expert Rev. Anti-infective therapy*, 16(9): 723-732.
- Bokarewa, M. I.; Jin, T., and Tarkowski, A. (2006).** *Staphylococcus aureus*: staphylokinase. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 38(4): 504-509.
- Boucher, H. W., & Corey, G. R. (2008).** Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical infectious diseases*, 46(Supplement_5), S344-S349.
- Broeker, B. M.; Holtfreter, S. and Bekereditian-Ding, I. (2014).** Immune control of *Staphylococcus aureus* –regulation and counter-regulation of the adaptive immune response. *International journal of medical microbiology*, 304(2), 204- 214.
- Bröker, B.; Mrochen, D. and Péton, V. (2016).** The T cell response to *Staphylococcus aureus*. *Pathogens*, 5(1), 31.
- Brooks, G. F.; Butel, J. S.; Ornston, L. N.; Jawetz, E.; Adelberg, E. A. and Melnick, J. L. (1992).** Microbiología médica: de Jawetz, Melnick y Adelberg (No. 579.61). El Manual Moderno,.
- Brooks, G. F.; Carroll, K. C.; Butel, J. S.; Morse, S. A., and Mietzner, T.A (2013).** Medical Microbiology. Jawetz, Melnick and Adelbergs, (26th ed.). New York. USA: McGraw-Hill Education, p.880.
- Brown, D. F.; Edwards, D. I.; Hawkey, P. M.; Morrison, D.; Ridgway, G. L.; Towner, K. J. and Wren, M. W. (2005).** Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 56(6), 1000-1018.
- Burdette, S. D.; Watkins, R. R.; Wong, K. K.; Mathew, S. D.; Martin, D. J. and Markert, R. J. (2012).** *Staphylococcus aureus* pyomyositis compared with non *Staphylococcus aureus* pyomyositis. *Journal of Infection*, 64(5), 507-512.
- Cartwright, E. J., Paterson, G. K., Raven, K. E., Harrison, E. M., Gouliouris, T., Kearns, A., ... & Török, M. E. (2013).** Use of Vitek 2 antimicrobial susceptibility profile to identify *mecC* in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology*, 51(8), 2732-2734.

Chakraborty, S. P.; KarMahapatra, S.; Bal, M., and Roy, S. (2011). Isolation and identification of vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* from post operative pus sample. *Al Ameen J Med Sci.*, 4(2), 152-168.

Chambers, H. F., & DeLeo, F. R. (2009). Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nature Reviews Microbiology*, 7(9), 629-641.

Chien, Y. H.; Zeng, X. and Prinz, I. (2013). The natural and the inducible: interleukin (IL)-17-producing $\gamma\delta$ T cells. *Trends in immunology*, 34(4), 151- 154.

Chinedum, I. E. (2005). Microbial resistance to antibiotics. *African journal of Biotechnology*, 4(13).

Clinical and Laboratory Standards Institute (2018). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria: informational supplement. CLSI document M100, (28th ed.) Wayne, PA USA.: 258p.

Costa, A. R.; Batistão, D. W.; Ribas, R. M.; Sousa, A. M.; Pereira, M. O., and Botelho, C. M. (2013). *Staphylococcus aureus* virulence factors and disease. *Microbial pathogens and strategies for combating them: Science, Technology and Education*, 1: 702-710.

Costa, F. N., Belo, N. O., Costa, E. A., Andrade, G. I., Pereira, L. S., Carvalho, I. A., & Santos, R. L. (2018). Frequency of enterotoxins, toxic shock syndrome toxin-1, and biofilm formation genes in *Staphylococcus aureus* isolates from cows with mastitis in the Northeast of Brazil. *Tropical animal health and production*, 50(5), 1089-1097.

Cui, L.; Tominaga, E.; Neoh, H. M., and Hiramatsu, K. (2006). Correlation between reduced daptomycin susceptibility and vancomycin resistance in vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. *AAC.*, 50(3): 1079-1082.

Davidson S, (2006). Disease due to Infection, In: Nicholas B. Nicki, P.C, Brain, R.W eds. *Principles and Practice of Medicine*. 20th ed. New York: Churchill Livingstone., 467-470.

Davis, K. A., Stewart, J. J., Crouch, H. K., Florez, C. E., & Hospenthal, D. R. (2004). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nares colonization at hospital admission and its effect on subsequent MRSA infection. *Clinical Infectious Diseases*, 39(6), 776-782.

Dielubanza, E. J., and Schaeffer, A. J. (2011). Urinary tract infections in women. *Med. Clini.*, 95(1): 27-41.

Dong, C. (2008). T H 17 cells in development: an updated view of their molecular identity and genetic programming. *Nature Reviews Immunology*, 8(5), 337.

Doškař, J., Pantůček, R., Růžicková, V., & Sedláček, I. (2010). Molecular Diagnostics of *Staphylococcus aureus*. In *Detection of Bacteria, Viruses, Parasites and Fungi* (pp. 139-184). Springer, Dordrecht.

Drake, M. J.; Kanai, A.; Bijos, D. A.; Ikeda, Y.; Zabbarova, I.; Vahabi, B., and Fry, C. H. (2017). The potential role of unregulated autonomous bladder micromotions in

- urinary storage and voiding dysfunction; overactive bladder and detrusor underactivity. *BJU international*, 119(1): 22-29.
- Elufisan, T. O.; Oyedara, O. O., and Oyelade, B. (2012).** Updates on microbial resistance to drugs. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 6(23):4833-4844.
- Erdem Z.** Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* Suşlarının Moleküler Tiplendirmesi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 2011.
- Fadhel, A. N.; Abureesha, R. A., and Al-azzawi, R. H. (2013).** Prevalence of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* and their biofilm ability among Iraqi patients suffering from urinary tract infection. *IJS.*, 54(3): 547-552.
- Foster, T. J. (2005).** Immune evasion by staphylococci. *Nature reviews microbiology*, 3(12), 948.
- Foster, T. J.; Geoghegan, J. A.; Ganesh, V. K. and Höök, M. (2014).** Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. *Nature Reviews Microbiology*, 12(1), 49.
- Fournier, B., & Philpott, D. J. (2005).** Recognition of *Staphylococcus aureus* by the innate immune system. *Clinical microbiology reviews*, 18(3), 521-540.
- Foxman, B. (2002).** Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Am. J. Med.*, 113(1): 5-13.
- Furuya, D., Tsuji, N., Kuribayashi, K., Tanaka, M., Hosono, Y., Uehara, N., & Watanabe, N. (2010).** Evaluation of *spa* typing for the classification of clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates. *Japanese journal of infectious diseases*, 63(5), 364-367.
- Gessese, Y. A.; Damessa, D. L.; Amare, M. M.; Bahta, Y. H.; Shifera, A. D.; Tasew, F. S., and Gebremedhin, E. Z. (2017).** Urinary pathogenic bacterial profile, antibiogram of isolates and associated risk factors among pregnant women in Ambo town, Central Ethiopia: a cross-sectional study. *Anti. Resi. Infe. Cont.*, 6(1): 132-139.
- Giesbrecht, P.; Kersten, T.; Maidhof, H., and Wecke, J.(1998).** Staphylococcal cell wall: Morphogenesis and fatal variations in the presence of penicillin. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 62:1371-1414.
- Girish, K. S.; Shashidharamurthy, R.; Nagaraju, S.; Gowda, T. V., and Kemparaju, K. (2004).** Isolation and characterization of hyaluronidase a spreading factor from Indian cobra (*Naja naja*) venom. *Biochimie*, 86(3): 193-02.
- Götz, F., Bannerman, T., & Schleifer, K. H. (2006).** The genera *Staphylococcus* and *micrococcus*. *The prokaryotes*, 5.
- Goudarzi, M., Abiri, P., Nasirian, S., & Ghaderi Afshari, S. (2018).** SCCmec and *spa* typing of *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients with urinary tract infection: emergence of *spa* types t426 and t021 in Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 11(5).

Goudarzi, M., Mohammadi, A., Amirpour, A., Fazeli, M., Nasiri, M. J., Hashemi, A., & Goudarzi, H. (2019). Genetic diversity and biofilm formation analysis of *Staphylococcus aureus* causing urinary tract infections in Tehran, Iran. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 13(09), 777-785.

Gravet, A.; Couppie, P.; Meunier, O.; Clyti, E.; Moreau, B.; Pradinaud, R. and Prevost, G. (2001). *Staphylococcus aureus* isolated in cases of impetigo produces both epidermolysin A or B and LukE-LukD in 78% of 131 retrospective and prospective cases. *Journal of clinical microbiology*, 39(12), 4349-4356.

Greenberg, D. P.; Bayer, A. S.; Turner, D., and Ward, J. I. (1990). Antibody responses to protein A in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia and endocarditis. *JCM.*, 28(3): 458-462.

Griebing, T. L. (2007). Urinary tract infection in women. *Urologic diseases in America*, 7: 587-619.

Habib, F.; Rind, R.; Durani, N.; Bhutto, A. L.; Buriro, R. S.; Tunio, A. and Shoaib, M. (2015). Morphological and cultural characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from different animal species. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, 5(2), 15-26.

Hammoudi, A. A. (2013). Urinary tract infection of adults in Baghdad City. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, 2: 1-6.

Hannah K.I.; Gunturu R.; Joyce M., and Theresa O. (2011). The incidence of nosocomial Urinary Tract Infections in Kenyatta National Hospital. *Baraton Interdisciplinary Research Journal* 2: 12-21.

Haque, M.; Sartelli, M.; McKimm, J. and Bakar, M. A. (2018). Health care associated

Harding, G. K., Zhanel, G. G., Nicolle, L. E., & Cheang, M. (2002). Antimicrobial treatment in diabetic women with asymptomatic bacteriuria. *New England Journal of Medicine*, 347(20), 1576-1583.

Harley, JP. and Prescott, LM. (2007). *Laboratory Exercises in Microbiology*. 7 th ed. McGraw-Hill Higher Education. New York p. 630.

Harmsen, D., Claus, H., Witte, W., Rothganger, J., Claus, H., Turnwald, D., & Vogel, U. (2003). Typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a university hospital setting by using novel software for *spa* repeat determination and database management. *Journal of clinical microbiology*, 41(12), 5442-5448.

Harsha T R., Vijaya D and Nagarathnamma T (2013). Bacteriological profile and comparison of Antibiotic susceptibility pattern of uropathogens by conventional disk diffusion and Rapid mini API Method. *JPBS.*, May (Supplement 1); 30(30): S7-S12.

Holden, M. T.; Hsu, L. Y.; Kurt, K.; Harris, S. R., and Skov, R. (2013). A genomic portrait of the emergence, evolution, and global spread of a methicillin resistant *Staphylococcus aureus* pandemic. *Gen.Res.*, 23(4): 653-664.

- Hussain, N. R.; Daniel, S.; Salim, K., and Assafi, M. S. (2018).** Urinary Tract Infections and Antibiotic Sensitivity Patterns Among Women Referred to Azadi Teaching Hospital, Duhok, Iraq. *Avicenna J. clin. microbiol. Infect.*, 5(2): 27-30.
- Iregbu, K. C., and Nwajiobi-Princewill, P. I. (2013).** Urinary tract infections in a tertiary hospital in Abuja, Nigeria. *Afr. J. Clin Exp. Microbi.*,14(3):169-173.
- Ishigame, H. Kakuta, S.; Nagai, T.; Kadoki, M.; Nambu, A.; Komiyama, Y. and Sudo, K. (2009).** Differential roles of interleukin-17A and-17F in host defense against mucoepithelial bacterial infection and allergic responses. *Immunity*, 30(1), 108-119.
- Ismail, M. D.; Ali, I., Hatt, S.; Cronenwett, A. W.; Marrs, C. F., and Foxman, B. (2018).** Association of Escherichia coli ST131 lineage with risk of urinary tract infection recurrence among young women. *JGAR.*, 13: 81-84.
- Jarrell, A. S.; Wood, G. C.; Ponnappula, S.; Magnotti, L. J.; Croce, M. A., Swanson, J. M., and Fabian, T. C. (2015).** Short-duration treatment for catheter-associated urinary tract infections in critically ill trauma patients. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 79(4): 649-653.
- Jenkins, A., Diep, B. A., Mai, T. T., Vo, N. H., Warrenner, P., Suzich, J., ... & Sellman, B. R. (2015).** Differential expression and roles of Staphylococcus aureus virulence determinants during colonization and disease. *MBio*, 6(1), e02272-14.
- Jepson, R. G.; Williams, G., and Craig, J. C. (2013).** Cranberries for preventing urinary tract infections. *Sao Paulo Med.Jou.*, 131(5): 363-363.
- John, A. S.; Mboto, C. I., and Agbo, B. (2016).** A review on the prevalence and predisposing factors responsible for urinary tract infection among adults. *Eur. J. Exp. Biol.*, 6(4): 7-11.
- Johnson, J. R., and Russo, T. A. (2018).** Acute pyelonephritis in adults. *NEJM.*, 378(1): 48-59.
- Karlsson, A., and Arvidson, S. (2002).** Variation in extracellular protease production among clinical isolates of Staph. aureus due to different levels of expression of the protease repressor sarA. *Infect. Immun.*,70(8): 4239-4246.
- Karmakar, A., Dua, P., & Ghosh, C. (2016).** Biochemical and molecular analysis of *Staphylococcus aureus* clinical isolates from hospitalized patients. *Canadian journal of infectious diseases and medical microbiology*, 2016.
- Katayama, Y.; Zhang, H. Z., and Chambers, H. F. (2004).** PBP 2a mutations producing very-high-level resistance to beta-lactams. *AAC.*, 48(2): 453-459.
- Kazakova, S. V., Hageman, J. C., Matava, M., Srinivasan, A., Phelan, L., Garfinkel, B., ... & Jernigan, D. B. (2005).** A clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among professional football players. *N engl J med*, 352, 468-475.
- Kechrid, A.; Pérez-Vázquez, M.; Smaoui, H.; Hariga, D.; Rodríguez-Baños, M.; Vindel, A. and Del Campo, R. (2011).** Molecular analysis of community acquired

methicillin-susceptible and resistant *Staphylococcus aureus* isolates recovered from bacteremia and osteomyelitis infections in children from Tunisia. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(7), 1020-1026.

Khan, F. U.; Ihsan, A. U.; Wazir, J.; Khongorzul, P., and Zhou, X.(2017). Comprehensive overview of prostatitis. *Biomed. Pharm.*, 94: 1064-1076.

Khan, H. A.; Ahmad, A. and Mehboob, R. (2015). Nosocomial infections and their control strategies. *Asian pacific journal of tropical biomedicine*, 5(7), 509-514.

Khan, R. A.; Iqbal, M., and Nigar, H. (2019). Prevalence and antibiotic susceptibility of multi-drug resistant *Staphylococcus aureus* and *Acinetobacter baumannii* in clinical samples from intensive care unit patients in a tertiary care hospital at Peshawar (Pakistan). *Anaes. Pain and Inten. Care*, 231-236.

Kim, H. K.; Falugi, F.; Missiakas, D. M. and Schneewind, O. (2016). Peptidoglycan-linked protein A promotes T cell-dependent antibody expansion during *Staphylococcus aureus* infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(20), 5718-5723.

Kim, J. (2009). Understanding the evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Newsletter*, 31(3), 17-23.

Kontiokari, T.; Nuinen, M., and Uhari, M. (2004). Dietary factors affecting susceptibility to urinary tract infection. *Pedi. Nephrol.*, 19(4): 378-383.

Krakauer, T., Pradhan, K., & Stiles, B. G. (2016). Staphylococcal superantigens spark host-mediated danger signals. *Frontiers in immunology*, 7, 23.

Lane, DR; Takhar, SS (August 2011). "Diagnosis and management of urinary tract infection and pyelonephritis". *Emergency Medicine Clinics of North America*. 29(3): 539–52.

Latif, A. S. (2004). Urinogenital infections in the tropics. *ACTM.*, 7: 26-44.

Lee, P. Y., Costumbrado, J., Hsu, C. Y., & Kim, Y. H. (2012). Agarose gel electrophoresis for the separation of DNA fragments. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (62), e3923.

Licitra G. “Etymologia: *Staphylococcus*”. *Emerging Infectious Diseases* 19.9 (2013): 1553.

Lindsay, J. A., & Holden, M. T. (2004). *Staphylococcus aureus*: superbug, super genome?. *Trends in microbiology*, 12(8), 378-385.

Livermore, D. M.; Winstanley, T. G., and Shannon, K. P. (2001). Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. *J. Antimicrob. Chemother.*, 48(supplement-1): 87-102. *macroccus*. *The Prokaryotes*: Volume 4: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria, 5–75.

MacFaddin, J. F. (2000). Biochemical tests for identification of medical bacteria, (3rd ed.). USA: Lippincott Williams and Wilkins, p: 912.

- Maier, B. M.; Mulcahy, M. E.; Murphy, A. G.; Wilk, M.; O'Keeffe, K. M.; Geoghegan, J. A. and McLoughlin, R. M. (2013).** Nlrp-3-driven interleukin 17 production by $\gamma\delta$ T cells controls infection outcomes during *Staphylococcus aureus* surgical site infection. *Infection and immunity*, 81(12), 4478-4489.
- Malanovic, N., and Lohner, K. (2016).** Gram-positive bacterial cell envelopes: The impact on the activity of antimicrobial peptides. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1858(5): 936-946.
- Mansour, A.; Mahdinezhad, M., and Pourdangchi, Z. (2009).** Study of bacteria isolated from urinary tract infections and determination of their susceptibility to antibiotics. *JJM.*, 2(3): 118-123.
- Markey, B.K.; Leonard, F.C.; Archambault, M. Cullinane, A. and Maguire, D. (2014).** *Clinical Veterinary Microbiology*. 2nded. Mosby Elsevier. Pp. 105-120.
- Martin, M.; Paul, D.; Orwin, M. and Schlievert, P. (2000).** Exotoxins of *Staphylococcus aureus* *Clin Microbiol Rev.*
- Matulay, J. T.; Mlynarczyk, C. M., and Cooper, K. L. (2016).** Urinary tract infections in women: pathogenesis, diagnosis, and management. *Cur. Bladd. Dysf. Rep.*, 11(1): 53-60.
- McHeyzer-Williams, M.; Okitsu, S.; Wang, N. and McHeyzer-Williams, L. (2012).** Molecular programming of B cell memory. *Nature reviews Immunology*, 12(1), 24.
- Miller, L. G., & Diep, B. A. (2008).** Colonization, fomites, and virulence: rethinking the pathogenesis of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clinical infectious diseases*, 46(5), 752-760.
- Moellering Jr, R. C. (2011).** MRSA: The first half century. *J. Antimicrob. Chemother.*, 67(1): 4-11.
- Mohammadi, S.; Sekawi, Z.; Monjezi, A.; Maleki, M. H.; Soroush, S.; Sadeghifard, N., and Pourahmad, F. (2014).** Emergence of SCCmec type III with variable antimicrobial resistance profiles and *spa* types among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from healthcare-and community acquired infections in the west of Iran. *IJID.*, 25: 152-158.
- Montgomery, C. P.; Daniels, M.; Zhao, F.; Alegre, M. L.; Chong, A. S. and Daum, R. S. (2014).** Protective immunity against recurrent *Staphylococcus aureus* skin infection requires antibody and interleukin-17A. *Infection and immunity*, 82(5), 2125-2134.
- Moroni P.; Pisoni G.; Cremonesi P. and Castiglioni B. (2011).** *Staphylococcus* p.308-317 In: LIU Dongyou (ed), *Molecular Detection of Human Bacterial Pathogens*. Taylor and Francis Group, U.S. Government works.
- Moussa, I., & Shibl, A. M. (2009).** Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* recovered from outpatient clinics in Riyadh, Saudi Arabia. *Saudi Med J*, 30(5), 611-617.
- Mulcahy, M. E.; Leech, J. M.; Renauld, J. C.; Mills, K. H. and McLoughlin, R. M. (2016).** Interleukin-22 regulates antimicrobial peptide expression and keratinocyte

differentiation to control *Staphylococcus aureus* colonization of the nasal mucosa. *Mucosal immunology*, 9(6), 1429.

Multari, R. A., Cremers, D. A., Bostian, M. L., Dupre, J. M., & Gustafson, J. E. (2013). Proof of principle for a real-time pathogen isolation media diagnostic: the use of laser-induced breakdown spectroscopy to discriminate bacterial pathogens and antimicrobial-resistant *Staphylococcus aureus* strains grown on blood agar. *Journal of pathogens*, 2013.

Murray, P. R.; Rosenthal, K. S., and Pfaller, M. A. (2009). Medical microbiology (6th ed.), UK, Mosby Elsevier,p: 947.

Naber, K. G.; Cho, Y. H.; Matsumoto, T., and Schaeffer, A. J. (2009). Immunoactive prophylaxis of recurrent urinary tract infections: a meta-analysis. *IJAA.*, 33(2): 111-119.

Nair, S. P.; Williams, R. J., and Henderson, B. (2000). Advances in our understanding of the bone and joint pathology caused by *Staphylococcus aureus* infection. *Rheumatology*, 39(8): 821-834.

Nanra, J. S., Buitrago, S. M., Crawford, S., Ng, J., Fink, P. S., Hawkins, J., ... & Anderson, A. S. (2013). Capsular polysaccharides are an important immune evasion mechanism for *Staphylococcus aureus*. *Human vaccines & immunotherapeutics*, 9(3), 480-487.

Nathwani, D.; Morgan, M.; Dryden, M.; Cookson, B. D.; French, G., and Lewis, D. (2008). Guidelines for UK practice for the diagnosis and management of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections presenting in the community. *J. Antimicrob. Chemother.*, 61(5): 976-994.

Nicolle, L. E.; Gupta, K.; Bradley, S. F.; Colgan, R.; DeMuri, G. P.; Drekonja, D., and Juthani-Mehta, M. (2019). Clinical practice guideline for the management of asymptomatic bacteriuria: 2019 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.*, 68(10): e83-e110.

Novick, R. P.; Ross, H. F.; Projan, S. J.; Kornblum, J.; Kreiswirth, B. and Moghazeh, S. (1993). Synthesis of staphylococcal virulence factors is controlled by a regulatory RNA molecule. *The EMBO journal*, 12(10), 3967- 3975.

Oladeinde, B. H.; Omoregie, R.; Olley, M., and Anunibe, J. A. (2011). Urinary tract infection in a rural community of Nigeria. *NAJMS.*, 3(2): 75-77.

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

Onanuga, A., & Awhowho, G. O. (2012). Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* strains from patients with urinary tract infections in Yenagoa, Nigeria. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 4(3), 226.

Orent W (2006). "A Brief History of Staph". Proto Magazine.

- Ostojić, M. and Hukić, M. (2015).** Genotypic and phenotypic characteristics of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains, isolated on three different geography locations. *Bosnian journal of basic medical sciences*, 15(3), 48.
- Otter, J. A., and French, G. L. (2010).** Molecular epidemiology of community -associated meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Lanc. Infect. Dis.*, 10(4): 227-239.
- Parhizgari, N.; Khoramrooz, S. S.; Malek Hosseini, S. A. A.; Marashifard, M.; Emaneini, M., and Naraki, M. (2016).** High frequency of multidrug- resistant *Staphylococcus aureus* with SCC *mec* type III and *Spa* types t037 and t631 isolated from burn patients in southwest of Iran. *APMIS.*, 124(3):221-228.
- Pastrana, F. R.; Neef, J.; Koedijk, D. G.; Duipmans, J.; Jonkman, M. F., and Buist, G. (2018).** Human antibody responses against non-covalently cell wall-bound *Staphylococcus aureus* proteins. *Scientific reports*, 8(1): 1-11.
- Peacock, S. J., and Paterson, G. K. (2015).** Mechanisms of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annu. Rev. Biochem.*, 84:577-601.
- Peacock, S. J., de Silva, I., & Lowy, F. D. (2001).** What determines nasal carriage of *Staphylococcus aureus*?. *Trends in microbiology*, 9(12), 605-610.
- Perez-Roth, E., Claverie-Martin, F., Villar, J., & Mendez-Alvarez, S. (2001).** Multiplex PCR for simultaneous identification of *Staphylococcus aureus* and detection of methicillin and mupirocin resistance. *Journal of clinical microbiology*, 39(11), 4037-4041.
- Quaia, E.; Gennari, A. G., and Cova, M. A. (2018).** Ultrasound of Upper Urinary Tract Infections. In *Imaging and Intervention in Urinary Tract Infections and Urosepsis*. Cham ,Springer, pp. 57-71.
- Rahman, M.A., Talukder, S.I., Khatoon, M.R. and Arman, R.(2010).** Urinary Tract Infection in Pregnancy: a Clinical Problem. *DjMCJ.*, 3 (2): 59-62.
- Ranjbar, R.; Memariani, H.; Sorouri, R., and Memariani, M. (2016).** Distribution of virulence genes and genotyping of CTX-M-15-producing *Klebsiella Pneumoniae* isolated from patients with community-acquired urinary tract infection (CA-İYE). *Microbial pathogenesis*, 100: 244-249.
- Reid, G., and Bruce, A. W. (2006).** Probiotics to prevent urinary tract infections: the rationale and evidence. *World J. Urol.*, 24(1): 28-32.
- Saad, S., & Ahmed, A. R. (2019).** Serological and Molecular detection of *Staphylococcus aureus* isolated from İYE patients. *University of Thi-Qar Journal*, 14(4), 64-79.
- Saber, H.; Jasni, A. S.; Jamaluddin, T. Z. M. T., and Ibrahim, R. (2017).** A review of Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) types in Coagulase-Negative Staphylococci (CoNS) species. *MJMS.*, 24(5): 7–18.
- Sawalha, R. M. H. (2009).** Prevalence of urinary tract infection among children primary schools in Nablus. Doctoral dissertation, Faculty of Graduate Studies, An-Najah National University.

- Scholes, D.; Hooton, T. M.; Roberts, P. L.; Stapleton, A. E.; Gupta, K., and Stamm, W. E. (2000).** Risk factors for recurrent urinary tract infection in young women. *JID.*, 182(4): 1177-1182.
- Seifu, W. D., and Gebissa, A. D. (2018).** Prevalence and antibiotic susceptibility of Uropathogens from cases of urinary tract infections (İYE) in Shashemene referral hospital, Ethiopia. *BMC Infect. Dis.*, 18(1): 30-37.
- Sihra, N.; Goodman, A.; Zakri, R.; Sahai, A., and Malde, S. (2018).** Nonantibiotic prevention and management of recurrent urinary tract infection. *Nature Reviews Urology*, 15(12): 750–776.
- Smaill, F., & Vazquez, J. C. (2007).** Antibiotics for asymptomatic bacteriuria in pregnancy.[update of Cochrane Database Syst Rev. 2001;(2): CD000490; PMID: 11405965]. *Cochrane Database Syst Rev*: CD000490.
- Sohail, M.; Khurshid, M.; Saleem, H. G. M.; Javed, H., and Khan, A. A. (2015).** Characteristics and antibiotic resistance of urinary tract pathogens isolated from Punjab, Pakistan. *JJM.*, 8(7). e19272.
- Spaan, A. N.; Surewaard, B. G.; Nijland, R. and van Strijp, J. A. (2013).** Neutrophils versus *Staphylococcus aureus*: a biological tug of war. *Annual review of microbiology*, 67, 629-650.
- Spaulding, A. R., Salgado-Pabon, W., Kohler, P. L., Horswill, A. R., Leung, D. Y., and Schlievert, P. M. (2013).** Staphylococcal and streptococcal superantigen exotoxins. *Clin. Microbiol. Rev.* 26, 422–447.
- Stamm, W. E., & Norrby, S. R. (2001).** Urinary tract infections: disease panorama and challenges. *The Journal of infectious diseases*, 183(Supplement_1), S1-S4.
- Styers, D.; Sheehan, D. J.; Hogan, P., and Sahm, D. F. (2006).** Laboratory based surveillance of current antimicrobial resistance patterns and trends among *Staphylococcus aureus*: 2005 status in the United States. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 5(1): 2.
- Sujatha, R., and Pal, N. (2015).** Antibiotic Resistance Pattern Of The Hospital And Community Acquire Isolates Of Uropathogens In A Teritiary Care Centre at Kanpur” Rama Univ. J. Med. Sci., 1(1): 10-17.
- Suleyman, G.; Alangaden, G., and Bardossy, A. C. (2018).** The role of environmental contamination in the transmission of nosocomial pathogens and healthcare-associated infections. *Curr. Infect. Dis. Rep.*, 20(6): 1-12.
- Swallows Jr, J. L. (2014).** Improved growth and detection of Small Colony Variant *Staphylococcus aureus*. Doctoral dissertation, Tennessee Technological University.
- Taylor TA, Unakal CG. *Staphylococcus aureus*, in StatPearls. FL: Treasure Island; 2018.
- Tiemersma, E. W.; Bronzwaer, S. L.; Lyytikäinen, O.; Degener, J. E.; Schrijnemakers, P.; Bruinsma, N., and European Antimicrobial Resistance Surveillance System**

- Participants. (2004).** Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Europe, 1999–2002. *EID*, 10(9): 1627–1634.
- Tong, S. Y.; Davis, J. S.; Eichenberger, E.; Holland, T. L. and Fowler, V. G. (2015).** *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical microbiology reviews*, 28(3), 603- 661.
- Turlej, A. G.; Hryniewicz, W. A. L., and Empel, J. (2011).** Staphylococcal cassette chromosome mec (Sccmec) classification and typing methods: an overview. *PJM*, 60(2): 95-103.
- Turnidge, J., Chang, F. Y., Fowler, V. G., & Rao, N. (2008).** *Staphylococcus aureus*. Updated December. Guided Medline Search.
- Utay, N. S.; Roque, A.; Timmer, J. K.; Morcock, D. R.; DeLeage, C.; Somasunderam, A. and Douek, D. C. (2016).** MRSA infections in HIV infected people are associated with decreased MRSA-specific Th1 immunity. *PLoS pathogens*, 12(4), e1005580.
- Vahlensieck, W.; Perepanova, T.; Johansen, T. E. B.; Tenke, P.; Naber, K. G., and Wagenlehner, F. M. (2016).** Management of uncomplicated recurrent urinary tract infections. *Eur. Urol. Suppl.*, 15(4): 95-101.
- van Kessel, K. P.; Bestebroer, J. and van Strijp, J. A. (2014).** Neutrophil-mediated phagocytosis of *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in immunology*, 5, 467.
- Verdrengh, M., & Tarkowski, A. (1997).** Role of neutrophils in experimental septicemia and septic arthritis induced by *Staphylococcus aureus*. *Infection and immunity*, 65(7), 2517-2521.
- Wagenlehner, F. M. E., and Naber, K. G. (2006).** Current challenges in the treatment of complicated urinary tract infections and prostatitis. *CMI*, 12: 67-80.
- Wang, M., Zheng, Y., Mediavilla, J., Chen, L., Kreiswirth, B., Song, Y., ... & Du, H. (2017).** Hospital dissemination of *tst-I*-positive clonal complex 5 (CC5) methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 101.
- Wang, Y.; LeGolván, M.; Chapin, K., and Mainiero, M. (2018).** Cystic neutrophilic granulomatous mastitis with *corynebacterium* and *Staphylococcus* mimicking breast carcinoma. *CCRR*, 6(11): 2208–2210.
- Wannet, W. J. B.; Spalburg, E.; Heck, M. E. O.C.; Pluister, G. N.; Tiemersma, E.; Willems, R. J. L.; Huijsdens, X. W.; de-Neeling, A.J., and Etienne, J.(2005).** Emergence of virulent methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains carrying Panton- Valentine Leukocidin genes in the Netherlands. *JCM*. 43:3341-3345.
- Wertheim, H. F., Van Kleef, M., Vos, M. C., Ott, A., Verbrugh, H. A., & Fokkens, W. (2006).** Nose picking and nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 27(8), 863-867.
- Wisplinghoff, H., Bischoff, T., Tallent, S. M., Seifert, H., Wenzel, R. P., & Edmond, M. B. (2004).** Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases

from a prospective nationwide surveillance study. *Clinical infectious diseases*, 39(3), 309-317.

Yasomanee, J. P.; Visansirikul, S.; Pornsuriyasak, P.; Thompson, M.; Kolodziej, S. A., and Demchenko, A. V. (2016). Synthesis of the repeating unit of capsular polysaccharide *Staphylococcus aureus* type 5 to study chemical activation and conjugation of native CP5. *JOC*, 81(14): 5981-5987.

Zahera, M.; Rastogi, C.; Iram, S.; Khalid, S., and Kushwaha, A. (2011). Isolation, identification and characterization of *Escherichia coli* from urine samples and their antibiotic sensitivity pattern. *Eur. J. Exp. Biol.*, 1(2):118-124.

Zhang, R.; Eggleston, K.; Rotimi, V., and Zeckhauser, R. J. (2006). Antibiotic resistance as a global threat: evidence from China, Kuwait and the United States. *Glob. Health*, 2(1): 6-9.

Zorc, J. J.; Kiddoo, D. A., and Shaw, K. N. (2005). Diagnosis and management of pediatric urinary tract infections. *CMR*, 18(2): 417-422.

Zozaya, M.; Ferris, M. J.; Nsuami, M. J., and Martin, D. H. (2016). Bacterial communities in penile skin, male urethra, and vaginas of heterosexual couples with and without bacterial vaginosis. *Microbiome*, 4(1): 16-21.

8. EKLER

EKL-1

Thi-Qar Eyaletindeki İYE hastaları için bilgi formu

Hasta adı :	Numune Numarası:		
Cinsiyet:	Erkek	Kadın	Tarih / / 2021

Yaş:		
Hastanın varlığı:	Dışarı	İçeri
İkamet:	Kentsel	Kırsal
İzole bakteri:		
Bakterilerin antibiyotiklere duyarlılığı:		
Bakterilerin antibiyotiklere karşı direnci:		

EKL-2

G2 yeşil ana kit



EKL-3

Vitek2 compact kullanılarak sağlanan sonuçların formu

مستشفى الإمام الحسين التعليمي

bioMérieux Customer:
System #:

Laboratory Report

Printed Oct 20, 2018 12:43 CDT
Printed by: LabadminPatient Name: 7 سلمان محمد حسن
Isolate: 457-1 (Approved)

Patient ID: 457

Card Type: GP Bar Code: 2421091403273441 Testing Instrument: 0000144FD31A (VITEK2C)
Setup Technologist: Laboratory Administrator(Labadmin)Bionumber: 070003067761271
Organism Quantity:

Selected Organism: Staphylococcus aureus

Comments:	

Identification Information	Card: GP	Lot Number: 2421091403	Expires: Nov 21, 2020 12:00 CST
	Completed: Sep 24, 2018 18:01 CDT	Status: Final	Analysis Time: 4.82 hours
Organism Origin	VITEK 2		
Selected Organism	91% Probability Bionumber: 070003067761271	Staphylococcus aureus	Confidence: Good identification
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Analysis Messages:			
Contraindicating Typical Biopattern(s) Staphylococcus aureus AGAL(1),PHOS(99).			

Biochemical Details																	
2	AMY	-	4	PIPLC	-	5	dXYL	-	8	ADH1	+	9	BGAL	+	11	AGLU	+
13	APPA	-	14	CDEX	-	15	AspA	-	16	BGAR	-	17	AMAN	-	19	PHOS	-
20	LeuA	-	23	ProA	-	24	BGURr	-	25	AGAL	+	26	PyrA	+	27	BGUR	-
28	AlaA	-	29	TyrA	-	30	dSOR	-	31	URE	-	32	POLYB	+	37	dGAL	+
38	dRIB	+	39	ILATk	+	42	LAC	+	44	NAG	+	45	dMAL	+	46	BACI	+
47	NOVO	-	50	NC6.5	+	52	dMAN	+	53	dMNE	+	54	MBdG	-	56	PUL	-
57	dRAF	-	58	O129R	+	59	SAL	-	60	SAC	+	62	dTRE	+	63	ADH2s	+
64	OPTO	+															

Installed VITEK 2 Systems Version: 08.01

MIC Interpretation Guideline: Global CLSI-based

AES Parameter Set Name: Global CLSI-based+Natural Resistance

Therapeutic Interpretation Guideline: NATURAL RESISTANCE
AES Parameter Last Modified: Jun 25, 2016 10:27 CDT

Page 1 of 1

EKL-4

API-20 Sistemi okuma tablosu

API® Staph		READING TABLE		
TESTS	ACTIVE INGREDIENTS	REACTIONS / ENZYMES	RESULT	
			NEGATIVE	POSITIVE
0	No substrate	Negative control	Red	-
GLU	D-glucose	(Positive control) (D-GLUcose)	Red *	Yellow
FRU	D-fructose	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	acidification (D-ManNosE)		
MAL	D-maltose	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (bovine origin)	acidification (LACtose)		
TRE	D-trehalose	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	acidification (D-MANnitol)		
XLT	Xylitol	acidification (XyLiTol)		
MEL	D-melibiose	acidification (D-MELibiose)		
NIT	potassium nitrate	Reduction of NITrates to nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 10 min	
			Colorless-light pink	Red
PAL	β-naphthyl phosphate	ALkaline Phosphatase	ZYM A + ZYM B / 10 min	
			Yellow	Violet
VP	sodium pyruvate	Acetyl-methyl-carbinol production (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / 10 min	
			Colorless-light pink	Violet-pink
RAF	D-raffinose	acidification (RAFFinose)	Red	Yellow
XYL	D-xylose	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose (sucrose)	acidification (SACcharose)		
MDG	methyl-αDglucopyranoside	acidification (Methyl-αDGlucopyranoside)		
NAG	N-acetyl-glucosamine	acidification (N-Acetyl-Glucosamine)		
ADH	L-arginine	Arginine DiHydrolase	Yellow	Orange-red
URE	Urea	UREase	Yellow	Red-violet

The acidification tests should be compared to the negative (0) and positive (GLU) controls.

* When MNE and XLT are preceded or followed by positive tests, then an orange test should be considered negative.

* The quantities indicated may be adjusted depending on the titer of the raw materials used.

* Certain cupules contain products of animal origin, notably peptones.

EKL-5

Spa geni Dizi analizi ve BLAST sonucu

```
KC142149.1      AGCCAAAGTGCTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAACTTAATGACTCTCAAGCTCCAAAA
IQ-İYE-2       AGCCAAAGTGCTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAACTTAATGACTCTCAAGCTCCAAAA
HM063836.1     AGCCAAAGTGCTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAACTTAATGACTCTCAAGCTCCAAAA
IQ-İYE-1       AGCCAAAGTGCTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAACTTAATGACTCTCAAGCTCCAAAA
KC142144.1     AGCCAAAGTGCTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAACTTAATGACTCTCAAGCTCCAAAA
AM407290.1     AGCCAAAGTGCTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAACTTAATGACTCTCAAGCTCCAAAA
HM063840.1     AGCCAAAGTGCTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAACTTAATGACTCTCAAGCTCCAAAA
HM063834.1     AGCCAAAGTGCTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAACTTAATGACTCTCAAGCTCCAAAA
HM063838.1     AGCCAAAGTGCTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAACTTAATGACTCTCAAGCTCCAAAA
U54636.1       AGCCAAAGTGCTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAACTTAATGACTCTCAAGCTCCAAAA
*****

KC142149.1     GCTGAAGCGCAACAAAATAAAGTTCACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATTTTG
IQ-İYE-2       GCTGAAGCGCAACAAAATAAAGTTCACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATTTTG
HM063836.1     GCTGAAGCGCAACAAAATAAAGTTCACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATTTTG
IQ-İYE-1       GCTGAAGCGCAACAAAATAAAGTTCACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATTTTG
KC142144.1     GCTGAAGCGCAACAAAATAAAGTTCACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATTTTG
AM407290.1     GCTGAAGCGCAACAAAATAAAGTTCACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATTTTG
HM063840.1     GCTGATGCGCAACAAAATAAAGTTCACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATTTTG
HM063834.1     GCTGATGCGCAACAAAATAAAGTTCACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATTTTG
HM063838.1     GCTGATGCGCAACAAAATAAAGTTCACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATTTTG
U54636.1       GCTGATGCGCAACAAAATAAAGTTCACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATTTTG
*****

KC142149.1     AACATGCCTAACTTAAACGAAGCGCAACGCAATGGTTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGAT
IQ-İYE-2       AACATGCCTAACTTAAACGAAGCGCAACGCAATGGTTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGAT
HM063836.1     AACATGCCTAACTTAAACGAAGCGCAACGCAATGGTTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGAT
IQ-İYE-1       AACATGCCTAACTTAAACGAAGCGCAACGCAATGGTTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGAT
KC142144.1     AACATGCCTAACTTAAACGAAGCGCAACGCAATGGTTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGAT
AM407290.1     AACATGCCTAACTTAAACGAAGCGCAACGCAATGGTTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGAT
HM063840.1     AACATGCCTAACTTAAACGAAGCGCAACGCAATGGTTTCATTCAAAGTCTTAAAGATGAT
HM063834.1     AACATGCCTAACTTAAACGAAGCGCAACGCAATGGTTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGAT
HM063838.1     AACATGCCTAACTTAAACGAAGCGCAACGCAATGGTTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGAT
U54636.1       AACATGCCTAACTTAAACGAAGCGCAACGCAATGGTTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGAT
*****

KC142149.1     CCAAGCCAAAGCACTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAATTAACGAATCTCAAGCACCG
IQ-İYE-2       CCAAGCCAAAGCACTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAATTAACGAATCTCAAGCACCG
HM063836.1     CCAAGCCAAAGCACTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAATTAACGAATCTCAAGCACCG
IQ-İYE-1       CCAAGCCAAAGCACTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAATTAACGAATCTCAAGCACCG
KC142144.1     CCAAGCCAAAGCACTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAATTAACGAATCTCAAGCACCG
AM407290.1     CCAAGCCAAAGCACTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAATTAACGAATCTCAAGCACCG
HM063840.1     CCAAGCCAAAGCACTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAATTAACGAATCTCAAGCACCG
HM063834.1     CCAAGCCAAAGCACTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAATTAACGAATCTCAAGCACCG
HM063838.1     CCAAGCCAAAGCACTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAATTAACGAATCTCAAGCACCG
U54636.1       CCAAGCCAAAGCACTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAATTAACGAATCTCAAGCACCG
*****

KC142149.1     AAAGCTGACAACAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTCTATGAAATCTTACATTTA
IQ-İYE-2       AAAGCTGACAACAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTCTATGAAATCTTACATTTA
HM063836.1     AAAGCTGACAACAATTTCAACAAAGATCAACAAAATGCTTCTATGAAATCTTACATTTA
IQ-İYE-1       ACAGCTGACAACAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTCTATGAAATCTTACATTTA
KC142144.1     AAAGCTGACAACAATTTCAACAAAGATCAACAAAATGCTTCTATGAAATCTTGAACATG
AM407290.1     AAAGCTGACAACAATTTCAACAAAGATCAACAAAATGCTTCTATGAAATCTTGAACATG
HM063840.1     AAAGCTGACAACAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTCTATGAAATCTTGAACATG
HM063834.1     AAAGCTGACAACAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTCTATGAAATCTTACATTTA
HM063838.1     AAAGCTGACAACAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTCTATGAAATCTTGAACATG
U54636.1       AAAGCTGACAACAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTCTATGAAATCTTGAACATG
* ***** * *****

KC142149.1     CCTAACTTAAACGAAGAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAGC
IQ-İYE-2       CCTAACTTAAACGAAGAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAGC
HM063836.1     CCTAACTTAAACGAAGAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAGC
IQ-İYE-1       CCTAACTTAAACGAAGAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAGC
KC142144.1     CCTAACTTGAACGAAGAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAGT
AM407290.1     CCTAACTTGAACGAAGAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAGT
HM063840.1     CCTAACTTGAACGAAGAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAGC
```

HM063834.1 CCTAACTTAAACGAAGAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCCTAAAAGATGACCCAAGC
HM063838.1 CCTAACTTGAACGAAGAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCCTAAAAGATGACCCAAGC
U54636.1 CCTAACTTGAACGAAGAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCCTAAAAGATGACCCAAGC

KC142149.1 CAAAGCGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAAAAGCTAAATGATGCACAAGCACCAAAAGCT
IQ-İYE-2 CAAAGCGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAAAAGCTAAATGATGCACAAGCACCAAAAGCT
HM063836.1 CAAAGCGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAAAAGCTAAATGATGCACAAGCACCAAAAGCT
IQ-İYE-1 CAAAGCGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAAAAGCTAAATGATGCACAAGCACCAAAAGCT
KC142144.1 CAAAGTGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAAAAGTTAAATGAATCTCAAGCACCGAAAGCT
AM407290.1 CAAAGTGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAAAAGTTAAATGAATCTCAAGCACCGAAAGCT
HM063840.1 CAAAGCGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAAAAGTTAAATGAATCTCAAGCACCGAAAGCT
HM063834.1 CAAAGCGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAAAAGCTAAATGATGCACAAGCACCAAAAGCT
HM063838.1 CAAAGCGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAAAAGCTAAATGATGCACAAGCACCAAAAGCT
U54636.1 CAAAGCGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAAAAGCTAAATGATGCACAAGCACCAAAAGCT

KC142149.1 GACAACAAATTCAACAAAGAACAACAAATGCTTTCTATGAAATTTTACATTTACCTAAC
IQ-İYE-2 GACAACAAATTCAACAAAGAACAACAAATGCTTTCTATGAAATTTTACATTTACCTAAC
HM063836.1 GACAACAAATTCAACAAAGAACAACAAATGCTTTCTATGAAATTTTACATTTACCTAAC
IQ-İYE-1 GACAACAAATTCAACAAAGAACAACAAATGCTTTCTATGAAATTTTACATTTACCTAAC
KC142144.1 GATAACAAATTCAACAAAGAACAACAAATGCTTTCTATGAAATCTTACATTTACCTAAC
AM407290.1 GATAACAAATTCAACAAAGAACAACAAATGCTTTCTATGAAATCTTACATTTACCTAAC
HM063840.1 GATAACAAATTCAACAAAGAACAACAAATGCTTTCTATGAAATTTTACATTTACCTAAC
HM063834.1 GACAACAAATTCAACAAAGAACAACAAATGCTTTCTATGAAATTTTACATTTACCTAAC
HM063838.1 GACAACAAATTCAACAAAGAACAACAAATGCTTTCTATGAAATTTTACATTTACCTAAC
U54636.1 GACAACAAATTCAACAAAGAACAACAAATGCTTTCTATGAAATTTTACATTTACCTAAC
**

EKL-5

Spa geni Dizi analizi ve BLAST sonucu

MH920615.1 AATCAAATAATCAAAACTGCAAAGCATCTACAAACGATAATATAAAGGATTTGCTAGAC
MH920612.1 AATCAAATAATCAAAACTGCAAAGCATCTACAAACGATAATATAAAGGATTTGCTAGAC
MH920609.1 AATCAAATAATCAAAACTGCAAAGCATCTACAAACGATAATATAAAGGATTTGCTAGAC
MH920611.1 AATCAAATAATCAAAACTGCAAAGCATCTACAAACGATAATATAAAGGATTTGCTAGAC
IQ-İYE-3 AATCAAATAATCAAAACTGCAAAGCATCTACAAACGATAATATAAAGGATTTGCTAGAC
MT906809.1 AATCAAATAATCAAAACTGCAAAGCATCTACAAACGATAATATAAAGGATTTGCTAGAC
AB084255.1 AATCAAATAATCAAAACTGCAAAGCATCTACAAACGATAATATAAAGGATTTGCTAGAC
MH920613.1 AATCAAATAATCAAAACTGCAAAGCATCTACAAACGATAATATAAAGGATTTGCTAGAC
MH920610.1 AATCAAATAATCAAAACTGCAAAGCATCTACAAACGATAATATAAAGGATTTGCTAGAC
MG717461.1 AATCAAATAATCAAAACTGCAAAGCATCTACAAACGATAATATAAAGGATTTGCTAGAC

MH920615.1 TGGTATAGTAGTGGGTCTGACACTTTTACAAATAGTGAAGTTTGTAGATAATTCCTTAGGA
MH920612.1 TGGTATAGTAGTGGGTCTGACACTTTTACAAATAGTGAAGTTTGTAGATAATTCCTTAGGA
MH920609.1 TGGTATAGTAGTGGGTCTGACACTTTTACAAATAGTGAAGTTTGTAGATAATTCCTTAGGA
MH920611.1 TGGTATAGTAGTGGGTCTGACACTTTTACAAATAGTGAAGTTTGTAGATAATTCCTTAGGA
IQ-İYE-3 TGGTATAGTAGTGGGTCTGACACTTTTACAAATAGTGAAGTTTGTAGATAATTCCTTAGGA
MT906809.1 TGGTATAGTAGTGGGTCTGACACTTTTACAAATAGTGAAGTTTGTAGATAATTCCTTAGGA
AB084255.1 TGGTATAGTAGTGGGTCTGACACTTTTACAAATAGTGAAGTTTGTAGATAATTCCTTAGGA
MH920613.1 TGGTATAGTAGTGGGTCTGACACTTTTACAAATAGTGAAGTTTGTAGATAATTCCTTAGGA
MH920610.1 TGGTATAGTAGTGGGTCTGACACTTTTACAAATAGTGAAGTTTGTAGATAATTCCTTAGGA
MG717461.1 TGGTATAGTAGTGGGTCTGACACTTTTACAAATAGTGAAGTTTGTAGATAATTCCTTAGGA

MH920615.1 TCTATGCGTATAAAAAACACAGATGGCAGCATCAGCCTTATAATTTTCCGAGTCCTTAT
MH920612.1 TCTATGCGTATAAAAAACACAGATGGCAGCATCAGCCTTATAATTTTCCGAGTCCTTAT
MH920609.1 TCTATGCGTATAAAAAACACAGATGGCAGCATCAGCCTTATAATTTTCCGAGTCCTTAT
MH920611.1 TCTATGCGTATAAAAAACACAGATGGCAGCATCAGCCTTATAATTTTCCGAGTCCTTAT
IQ-İYE-3 TCTATGCGTATAAAAAACACAGATGGCAGCATCAGCCTTATAATTTTCCGAGTCCTTAT
MT906809.1 TCTATGCGTATAAAAAACACAGATGGCAGCATCAGCCTTATAATTTTCCGAGTCCTTAT
AB084255.1 TCTATGCGTATAAAAAACACAGATGGCAGCATCAGCCTTATAATTTTCCGAGTCCTTAT
MH920613.1 TCTATGCGTATAAAAAACACAGATGGCAGCATCAGCCTTATAATTTTCCGAGTCCTTAT
MH920610.1 TCTATGCGTATAAAAAACACAGATGGCAGCATCAGCCTTATAATTTTCCGAGTCCTTAT
MG717461.1 TCTATGCGTATAAAAAACACAGATGGCAGCATCAGCCTTATAATTTTCCGAGTCCTTAT

MH920615.1	TATAGCCCTGCTTTTACAAAAGGGGAAAAAGTTGACTTAAACACAAAAACAACATAAAAAA
MH920612.1	TATAGCCCTGCTTTTATAAAAGGGGAAAAAGTTGACTTAAACACAAAAAGAACATAAAAAA
MH920609.1	TATAGCCCTGCTTTTACAAAAGGGGAAAAAGTTGACTTAAACACAAAAAGAACATAAAAAA
MH920611.1	TATAGCCCTGCTTTTACAAAAGGGGAAAAAGTTGACTTAAACACAAAATGAACATAAAAAA
IQ-iyE-3	TATAGCCCTGCTTTTACAAAAGGGGAAAAAGTTGACTTAAACACAAAACGAACATAAAAAA
MT906809.1	TATAGCCCTGCTTTTACAAAAGGGGAAAAAGTTGACTTAAACACAAAAAGAACATAAAAAA
AB084255.1	TATAGCCCTGCTTTTACAAAAGGGGAAAAAGTTGACTTAAACACAAAAAGAACATAAAAAA
MH920613.1	TATAGCCCTGCTTTTACAAAAGGGGAAAAAGTTGACTTAAACACAAAATGAACATAAAAAA
MH920610.1	TATAGCCCTGCTTTTACAAAAGGGGAAAAAGTTGACTTAAACACAAAAAGAACATAAAAAA
MG717461.1	TATAGCCCTGCTTTTACAAAAGGGGAAAAAGTTGACTTAAACACAAAAAGAACATAAAAAA

MH920615.1	AGCCAACATACTAGCGAAGGAACCTTATATCCATTTCCAAATAAGTGGCGTTACAAATACT
MH920612.1	AGCCAACATACTAGCGAAGGAACCTTATATCCATTTCCAAATAAGTGGCGTTACAAATACT
MH920609.1	AGCCAACATACTTGCGAAGGAACCTTATATCCATTTCCAAATAAGTGGCGTTACAAATACT
MH920611.1	AGCCAACATACTAGCGAAGGAACCTTATATCCATTTCCAAATAAGTGGCGTTACAAATACT
IQ-iyE-3	AGCCAACATACTAGCGAAGGAACCTTATATCCATTTCCAAATAAGTGGCGTTACAAATACT
MT906809.1	AGCCAACATACTAGCGAAGGAACCTTATATCCATTTCCAAATAAGTGGCGTTACAAATACT
AB084255.1	AGCCAACATACTAGCGAAGGAACCTTATATCCATTTCCAAATAAGTGGCGTTACAAATACT
MH920613.1	AGCCAACATACTAGCGAAGGAACCTTATATCCATTTCCAAATAAGTGGCGTTACAAATACT
MH920610.1	AGCCAACATACTAGCGAAGGAACCTTATATCCATTTCCAAATAAGTGGCGTTACAAATACT
MG717461.1	AGCCAACATACTAGCGAAGGAACCTTATATCCATTTCCAAATAAGTGGCGTTACAAATACT

MH920615.1	GAAAAATTACCTACTCCAATAGAACTACCTTTAAAAGTTAAGGTTTCATGGTAAAGATAGC
MH920612.1	GAAAAATTACCTACTCCAATAGAACTACCTTTAAAAGTTAAGGTTTCATGGTAAAGATAGC
MH920609.1	GAAAAATTACCTACTCCAATAGAACTACCTTTAAAAGTTAAGGTTTCATGGTAAAGATAGC
MH920611.1	GAAAAATTACCTACTCCAATAGAACTACCTTTAAAAGTTAAGGTTTCATGGTAAAGATAGC
IQ-iyE-3	GAAAAATTACCTACTCCAATAGAACTACCTTTAAAAGTTAAGGTTTCATGGTAAAGATAGC
MT906809.1	GAAAAATTACCTACTCCAATAGAACTACCTTTAAAAGTTAAGGTTTCATGGTAAAGATAGC
AB084255.1	GAAAAATTACCTACTCCAATAGAACTACCTTTAAAAGTTAAGGTTTCATGGTAAAGATAGC
MH920613.1	GAAAAATTACCTACTCCAATAGAACTACCTTTAAAAGTTAAGGTTTCATGGTAAAGATAGC
MH920610.1	GAAAAATTACCTACTCCAATAGAACTACCTTTAAAAGTTAAGGTTTCATGGTAAAGATAGC
MG717461.1	GAAAAATTACCTACTCCAATAGAACTACCTTTAAAAGTTAAGGTTTCATGGTAAAGAAAGC

MH920615.1	CCCTTAAAGTATTGGCCAAAGTTCGATAAAAAACAATTAGCTATATCAACTTTAGACTTTT
MH920612.1	CCCTTAAAGTATTGGCCAAAGTTCGATAAAAAACAATTAGCTATATCAACTTTAGACTTTT
MH920609.1	CCCTTAAAGTATTGGCCAAAGTTCGATAAAAAACAATTAGCTATATCAACTTTAGACTTTT
MH920611.1	CCCTTAAAGTATTGGCCAAAGTTCGATAAAAAACAATTAGCTATATCAACTTTAGACTTTT
IQ-iyE-3	CCCTTAAAGTATTGGCCAAAGTTCGATAAAAAACAATTAGCTATATCAACTTTAGACTTTT
MT906809.1	CCCTTAAAGTATTGGCCAAAGTTCGATAAAAAACAATTAGCTATATCAACTTTAGACTTTT
AB084255.1	CCCTTAAAGTATTGGCCAAAGTTCGATAAAAAACAATTAGCTATATCAACTTTAGACTTTT
MH920613.1	CCCTTAAAGTATTGGCCAAAGTTCGATAAAAAACAATTAGCTATATCAACTTTAGACTTTT
MH920610.1	CCCTTAAAGTATTGGCCAAAGTTCGATAAAAAACAATTAGCTATATCAACTTTAGACTTTT
MG717461.1	CCCTTAAAGTATTGGCCAAAGTTCGATAAAAAACATTTAGCTATATCAACTTTAGACTTTT

ÖZGEÇMİŞ

İlk ve orta öğrenimimi Irak'ın Nasiriyah şehrinde tamamladıktan sonra lisans eğitimimi 2016 yılında Orta Teknik Üniversitesi Bağdat Tıp Teknolojisi Koleji, Tıbbi Laboratuvarlar Bölümü'nde tamamladı. 2020 yılında Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü İleri Teknolojiler Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı.

