



**T.C.  
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**STAPHYLOCOCCUS SPP. İZOLATLARINDA ANTİSEPTİK DİRENÇ  
GENLERİNİN İNCELENMESİ**

**MUSTAFA AKİN**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HATAY  
MAYIS- 2020**



T.C.  
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**[STAPHYLOCOCCUS SPP. İZOLATLARINDA ANTİSEPTİK DİRENÇ  
GENLERİNİN İNCELENMESİ]**

**MUSTAFA AKİN**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HATAY  
MAYIS - 2020**

T.C.  
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STAPHYLOCOCCUS SPP. İZOLATLARINDA ANTİSEPTİK DİRENÇ  
GENLERİNİN İNCELENMESİ

MUSTAFA AKİN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Birgül ÖZCAN ve Doç. Dr. Zafer CANTEKİN danışmanlıklarında hazırlanan bu tez 06/05/2020 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından OYBİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Birgül ÖZCAN  
Başkan

Doç.Dr. Muhsin AYDIN  
Üye

Dr. Öğretim Üyesi Hasan YILDIZ  
Üye

Kod No:

Doç. Dr. Cengiz KARACA  
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

06/05/2020

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

**Mustafa AKİN**

## ÖZET

### STAPHYLOCOCCUS SPP. İZOLATLARINDA ANTİSEPTİK DİRENÇ GENLERİNİN İNCELENMESİ

Hastane ve veteriner uygulama alanları dahil tüm sağlık kurumları, ev ortamı ve gıda üretim sektöründe, enfeksiyonları ve kontaminasyonları önlemek için antiseptik ve dezenfektanlar çok sık kullanılmaktadır. Günümüzde, kuarterner amonyum bileşiklerinden benzalkonyum klorür ve divalent katyonlardan klorheksidin diglukonat gibi kimyasallar en fazla kullanılan antiseptik ve dezenfektanlardır. Ancak biyositlerin yaygın kullanımı antiseptiklere/dezenfektanlara dirençli bakterilerin ortaya çıkışını gündeme getirmiştir. Bakterilerin antibiyotiklere olduğu gibi, dezenfektanlara karşı da direnç mekanizmaları geliştirdiği bilinmektedir. Antiseptik duyarlılığı ve direnç genlerinin dağılımı ile ilgili epidemiyolojik veriler, nozokomiyal enfeksiyonlar açısından oldukça önemlidir. *Staphylococcus* cinsine dahil bazı türler, insan ve hayvanlarda deri ve yumuşak doku ve ameliyat bölgesi enfeksiyonları, endokardit, mastitis, pnömoni ve bakteriyemi gibi çeşitli klinik enfeksiyonlara ve gıda kaynaklı zehirlenmelere neden olmaktadır. *Staphylococcus* suşlarında kuarterner amonyum bileşiklerine (QAC) direnç sağlayan plazmid kaynaklı *qacA/B* ve *qacC* genleri bulunabilmektedir. Bu çalışmada tavuk karkası, sığır tank sütü, çeşitli peynirler ve sığır klinik mastitis örneklerinden izole edilmiş 90 *Staphylococcus* spp. suşunda antiseptik direnç genlerinin (*qacA/B* ve *qacC*) varlığı simplex polimeraz zincir reaksiyonu ile belirlenmiştir. Çalışılan izolatların %18.8'de *qacA/B* ve %2.2'de *qacC* tespit edilmiştir. Antiseptik direnç genlerinden *qacA/B* peynir ve sığır klinik mastitis örneklerinde, *qacC* ise tavuk karkasında saptanmıştır.

2020, 31 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** Antiseptik direnci, PCR, *Staphylococcus* spp., *qacA/B*, *qacC*, Sığır klinik mastitis, Tavuk karkası, Peynir, Sığır tank sütü

**ABSTRACT**  
**INVESTIGATION OF ANTISEPTIC RESISTANCE GENES IN**  
**STAPHYLOCOCCUS SPP. ISOLATES**

Antiseptic and disinfectants are used very frequently in all health institutions, including hospital and veterinary application areas, in the home environment and food production industry, to prevent infections and contaminations. At present, the quaternary ammonium compounds, benzalkonium chloride and chlorhexidine digluconate is one of the divalent cations most commonly used chemicals such as antiseptics and disinfectants. However, the widespread use of biocides has brought about the emergence of bacteria resistant to antiseptics / disinfectants. It is known that bacteria develop resistance mechanisms against antibiotics as well as disinfectants. Epidemiological data on antiseptic susceptibility and distribution of resistance genes are very important for nosocomial infections. Some species, including the genus *Staphylococcus*, cause various clinical infections and foodborne poisoning such as skin and soft tissue and surgical site infections, endocarditis, mastitis, pneumonia and bacteremia in humans and animals. *Staphylococcus* strains can contain plasmid-derived *qacA/B* and *qacC* genes that provide resistance to quaternary ammonium compounds (QAC). In this study, the presence of antiseptic resistance genes (*qacA/B* and *qacC*) in 90 *Staphylococcus* spp. strains isolated from chicken carcass, bovine tank milk, various cheeses and bovine clinical mastitis samples were determined by simplex polymerase chain reaction. *QacA/B* was found in %18.8 and *qacC* in %2.2 of the isolates studied. Of antiseptic resistance genes, *qacA/B* was detected in cheese and bovine clinical mastitis samples, and *qacC* in chicken carcass.

2020, 31 pages

**Keywords:** Antiseptic resistance, PCR, *Staphylococcus* spp., *qacA/B*, *qacC*, Bovine clinical mastitis, Chicken carcass, Cheese, Bovine tank milk

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez konusunun belirlenmesinde, araştırılması ve yazımı sırasında sahip olduğu bilgi birikimi ve tecrübesi ile çalışmayı yönlendiren ve her türlü yardımı esirgemeyen idol kabul ettiğim saygıdeğer danışman hocalarım Prof. Dr. Birgül ÖZCAN ve Doç. Dr. Zafer CANTEKİN'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin yazımı sırasında bazen karşılaştığım tıkanıklıklarda vazgeçmemi engelleyen hocam Doç. Dr. Nuray ERGÜN ile arkadaşlarım Mehtap BULGURCU, Dr. Batu Eren ASİL, Vildan ALCAN, Dr. Mehmet TOPRAKLI, Ayşegül KIRCAN TOPRAKLI, Fatma VURMAZ, Gizem YAĞIZ, Melek ORUÇ, Esmeray BALTAÇI, Efsun ASLANYÜREK, Züleyha KAPLAN, Meryem KIZILIRMAK, Daniel ALCAN, Mihail ALCAN, Başak HARTAVİ, Şükran PİNAL ve isimlerini sayamadığım tüm dostlarıma çok teşekkür ederim.

Klinik materyal konusunda bilgilerinden yararlandığım kuzenim Dr. Ezgi Su TARHANE, arkadaşlarım Arş. Gör. Nurdan COŞKUN, Uzm. Dr. Özgür Can Yoğurtçu ve Mert KAÇMAZ'a; laboratuvar çalışmalarım sırasında yanımda durup yaptığım yanlışları düzelten yardımını esirgemeyen Arş. Gör. Erhan TEK'e; ders döneminde tanıştığım, bigisinden ve arkadaşlığından yararlandığım Uzm. Fatma Gizem ZİNCİR'e teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen bitirmem için elinden geleni yapan annem Selva AKİN, babam Haydar AKİN, kardeşim Hasan Şahin AKİN, teyzem Şenay KABLAN ve ailemin diğer tüm fertlerine çok teşekkür ederim.

Bu tezi yakın zamanda kaybettiğim laboratuvar çalışmalarında sabırla emek veren yol gösteren çok değerli hocam Doç. Dr. Zafer CANTEKİN'e ithaf ediyorum.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	V
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	VII
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	7
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	15
3.1. Materyal .....	15
3.2. Yöntem .....	15
3.2.1. Bakteriler .....	15
3.2.2. DNA İzolasyonu .....	15
3.2.3. Antiseptik Direnç Genlerinin PCR amplifikasyonları .....	16
3.2.4. Agaroz Jel Elektroforezi ve Görüntüleme .....	17
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA .....	18
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	22
KAYNAKLAR .....	25
ÖZGEÇMİŞ.....	31



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Peynir kaynaklı <i>Staphylococcus</i> spp. izolatlarından <i>qacA/B</i> genlerinin simplex amplifikasyon agaroz jel elektroforegramı	18
Şekil 4.2. Sığır klinik mastitis kaynaklı <i>Staphylococcus</i> spp. izolatlarından <i>qacA/B</i> genlerinin simplex amplifikasyon agaroz jel elektroforegramı	19
Şekil 4.3. Tavuk karkas kaynaklı <i>Staphylococcus</i> spp. izolatlarından <i>qacC</i> geninin simplex amplifikasyon agaroz jel elektroforegramı	20



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan primerler ve özellikleri .....	16
Çizelge 5.1. İzolatlarda <i>qacA/B</i> ve <i>qacC</i> genlerinin dağılımı .....	23



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### SİMGELER

M	: Molar
$\mu$ M	: Mikromolar
mL	: Mililitre
$\mu$ L	: Mikrolitre
Bp	: baz çifti
KD	: Kilodalton

### KISALTMALAR

CoNS	: Koagülaz negatif Stafilokokus
CPC	: Cetylpyridinium chloride
DDAC	: Didecyl – dimethyl – ammonium chloride
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
ecDNA	: Extracellular Deoksiribo Nükleik Asit
IE	: İnfektif endocarditis
İYE	: İdrar yolları enfeksiyonu
MIC	: Minimum inhibitory concentration
MRSA	: Methicillin resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	: Methicillin susceptible <i>Staphylococcus aureus</i>
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PVIE	: Prosthetic valve infective endocarditis
PVL	: Panton – Valentine Leukocidin
QAC	: Quarterner Ammonium Compound
qPCR	: Kantitatif PCR
SAB	: <i>Staphylococcus aureus</i> bacteremia

## 1. GİRİŞ

İsmi Yunanca'da üzüm salkımı anlamındaki “*stphyle*” ile dut anlamına gelen “*kokkos*”dan almış *Staphylococcus* cinsi bakteriler (Newsom, 2008), *Eubacteria* alemi, *Firmicutes* şubesi, *Bacilli* sınıfı, *Bacillales* takımı, *Staphylococcaceae* ailesi içerisinde yer alırlar. Yuvarlak şekilli, 0,5 - 1,5 µm çapında, genelde düzensiz kümeler, bazen tetrad, tekli kok ya da ikiye bölünmüş koklar halinde birden fazla düzlemde karakteristik olarak bölünebilen, spor oluşturmeyen ve kapsülsüz gram pozitif bakterilerdir. Kemoorganotrof, hareketsiz ve fakültatif aerob olan bu organizmaların dinlenme evreleri bulunmaz. Genellikle katalaz pozitif ve oksidaz negatif olup yüksek tuz konsantrasyonlarında (%10 NaCl) ve 18 ile 40°C arasında iyi üreme gösterirler (Schleifer ve Bell, 2009). Tür ve alttürlerine bağlı olarak konak ve niş aralığı dar ya da geniş olabilmektedir. Stafilokoklar çok çeşitli çevresel ortamlardan izole edilmişlerdir; toprak, kum, deniz suyu, tatlı su, bitki yüzeyleri, bitkisel ürünler, yem, et, kanatlı eti, süt ürünleri, pişirme kapları, mutfak eşyaları, ev eşyası, giysi, halı, battaniye, para, toz ve hava. Bazı türlerinin insan ve/veya hayvanlar için fırsatçı patojenler olduğu bilinmektedir (Schleifer ve Bell, 2009).

*Staphylococcus* cinsinde günümüzde tanımlanmış 37 tür ve bazı alttürler yer almaktadır. DNA-DNA hibridizasyon çalışmalarına göre stafilokokal türler “tür grupları” içerisinde gruplandırılmıştır. Bunlardan en önemlilerinden biri koagülaz-negatif ve novobiyosin duyarlı türlerin dahil olduğu *Staphylococcus epidermidis* grubu (örneğin, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus warneri*) ve *Staphylococcus simulans* grubudur (örneğin, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus simulans*). Diğer koagülaz-negatif ve novobiyosin dirençli türlerin yer aldığı *Staphylococcus saprophyticus* grubu (örneğin, *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus xylosus*) ve *Staphylococcus sciuri* grubudur (örneğin, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus vitulinus*). Koagülaz-pozitif ve novobiyosin duyarlı türlerin dahil olduğu bir diğer grup ise *Staphylococcus intermedius* grubu (örneğin, *Staphylococcus delphini*, *Staphylococcus intermedius*) ve *Staphylococcus aureus* grubudur (örneğin, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus subsp. anaerobius*) (Schleifer ve Bell, 2009).

Stafilokoklar, insan, diğer memeliler ve kuşların deri, deri bezleri ve mukoz membranlarında yaşayan bakterilerin ana bileşenlerini oluşturmaktadırlar. Derideki mevcudiyetleri geçici yada kalıcı olabilmektedir. Kalıcı suşlar konağın kendisi kaynaklı olup genellikle mevcut sayı üzerinden stabil popülasyonlar halinde bulunurlar, geçici olanlar ise dış kaynaklı olup başlıca bu kaynaklarla temas eden deride yer alırlar ve yıkama ile kolayca uzaklaştırılırlar (Schleifer ve Bell, 2009).

Koagülaz pozitif türlerden *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus delphini* ve *Staphylococcus schleiferi subsp.* ve koagülaz değişken türlerden *Staphylococcus hyicus* potansiyel önemli patojenler olarak kabul edilmektedirler. 1960'ların başında *Staphylococcus aureus* hastane yatışlı hastalarda önemli bir morbidite ve mortaliteye neden olmuştur. Bu türün insanlarda neden olduğu enfeksiyonları arasında fronkül, çıban, impetigo, toksik epidermal nekroliz, pnömoni, osteomyelit, akut endokardit, miyokardit, perikardit, enterokolit, mastit, sistit, prostatit, servisit, serebrit, menenjit, bakteriyemi, toksik şok sendromu ve kas, deri, ürogenital sistemi, merkezi sinir sistemi ve çeşitli karın içi organ apseleri sayılabilir. Ayrıca, stafilokokal enterotoksin yolu ile gıda zehirlenmesinde rol oynamaktadır. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşları 1980'lerde hastanelerde önemli bir klinik ve epidemiyolojik sorun olarak ortaya çıkmıştır. *Staphylococcus aureus* diğer memelilerde ve kuşlarda da enfeksiyona yol açmaktadır; bunlar mastitis, sinovit, artrit, endometrit, fronkül, süpüratif dermatit, pnömoni ve septisemidir. Klinik veya subklinik formdaki stafilokokal mastitis süt endüstrisini ekonomik yönden önemli ölçüde etkilemektedir. *Staphylococcus intermedius* köpekler i.in önemli bir fırsatçı patojen olup otitis eksterna, piyoderma, apse, üriner sistem enfeksiyonları, mastit ve pürülan yara enfeksiyonlarına neden olabilmektedir. *Staphylococcus hyicus*, enfeksiyöz eksüdatif epidermitise ve domuzlarda septik poliartrite, sığırlarda ve atlarda cilt lezyonlarına, kümes hayvanlarında ve sığırlarda osteomyelite ve bazen de sığırlarda mastitise neden olduğu gösterilmiştir. *Staphylococcus delphini*, yunuslarda pürülan cilt lezyonlarına ve *Staphylococcus schleiferi subsp.* köpeklerde dış kulak otitisine neden olduğu bildirilmiştir (Schleifer ve Bell, 2009).

Koagülaz-negatif stafilokok türleri insan normal mikroflorasının ana bileşenlerindedir. Son yirmi yıl içerisinde nozokomiyal enfeksiyonlara neden oldukları belirtilmiştir. Koagülaz negatif stafilokoklar arasından *Staphylococcus epidermidis*, en

sık hastalık ile ilişkili olan tür olarak karşımıza çıkmaktadır. Araştırmalar bu türün en büyük patojenik potansiyele ve adaptif çeşitliliğe sahip olduğunu göstermiştir. Bu türün bakteriyemi, doğal ve protez kapak endokarditi, osteomyelit, piyoartrit, diyaliz kaynaklı peritonit, mediastinit, üretrit ve piyelonefrit dahil idrar yolu enfeksiyonları ve kalıcı kalp pili, vasküler greftler, beyin-omurilik sıvısı şantları, eklem protezi ve çeşitli ortopedik cihazlara bağlı enfeksiyonlara neden olduğu bilinmektedir. Diğer bazı koagülaz negatif türlerin de insan ve hayvan enfeksiyonlarıyla ilişkisi bulunmaktadır. Bu grup içerisinde insan klinik enfeksiyonlarında en sık karşılaşılan ikinci tür *Staphylococcus haemolyticus*'tur. Kapak endokarditi, septisemi, peritonit ve idrar yolu enfeksiyonlarına neden olduğu gibi bazı yara, kemik ve eklem enfeksiyonlarıyla da ilişkili olabilmektedir. Ayrıca *Staphylococcus haemolyticus*'un sığırlarda mastitise neden olduğu bildirilmiştir. *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus hominis* ve *Staphylococcus warneri*'nin yaygın olarak insan klinik örneklerinde bulunduğu ve enfektif hastalıklara neden oldukları gösterilmiştir. *Staphylococcus saprophyticus* insanlarda idrar yolu enfeksiyonuna neden olan önemli bir fırsatçı patojendir (Schleifer ve Bell, 2009). *Staphylococcus warneri*'nin sığırlarda mastitise neden olduğu belirtilmiştir (Devriese ve Derycke, 1979). Mastitisli inek sütlerinden *S. hyicus* izole edilmiştir (Schleifer ve Bell, 2009).

Germisitler antiseptik, dezenfektan ve koruyucuları kapsayan ve mikroorganizmaları inaktive eden biyosidal ajanlardır. Antiseptikler deri ya da mukoz membranlardaki mikrobiyal florayı indirmek için uygulanan antimikrobiyal maddelerdir. Dezenfektanlar bakteriyel sporları öldüremese de cansız objelerdeki zararlı mikroorganizmaları yok etmek için uygulanan kimyasallardır. (Weber ve ark., 2007). Hücre tipi ne olursa olsun antiseptik veya dezenfektanla etkileşim ilk etapta hücre yüzeyi ile başlar, bunu hücre içine giriş takip eder ve hedef bölgede etkisini gösterir. Biyosidal ajanın etki mekanizması hücre yüzeyinin bileşimi ve yapısına bağlı olabildiği gibi çevre koşullarına göre de değişebilmektedir. Glutaraldehit gibi kimyasallar hücre yüzeyinden etkili olurken, antimikrobiyal ajanların büyük bir kısmı hücre içi etki göstermektedir. Dolayısıyla mikrobiyal hücrelerin dış tabakaları antiseptik ve dezenfektanlara duyarlılık ya da direnç konusunda önemli bir etkiye sahiptir. (McDonnel ve Russell, 1999).

Antiseptikler klinik alan çalışanlarının ellerindeki geçici mikrobiyal florayı azaltmak, kişiden kişiye mikropların geçişini engellemek, invaziv işlemler öncesi deriyi hazırlamak ve cerrahi işlemler öncesi el antisepsisini sağlamak üzere yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. En yaygın kullanılan antiseptikler alkoller, klorheksidin, iyot ve iyodoforlar, kloroksilenol, kuaterner amonyum bileşikleri (QAC) ve triklosandır (Boyce ve Pittet, 2002).

QAC'ler membranaktif katyonik ajanlardır. Katyonik ajanlar sitoplazmik membranda fosfolipit bileşenleri ile reaksiyona girerek ozmotik etkilerle membran yıkımını gerçekleştirir. Katyonik ajanlara maruz kalan mikroorganizmalarda sırasıyla; ajanın hücre duvarına adsorpsiyonu ve penetrasyonu, sitoplazmik membranla (lipit veya protein) reaksiyonu ve sonrasında membran bütünlüğünün bozulması, hücre içi düşük moleküler ağırlıklı bileşenlerin dışarı sızması, protein ve nükleik asitlerin yıkımı, otolitik enzimlere bağlı duvar lizisi gerçekleşir (McDonnel ve Russell, 1999). Kuaterner amonyum bileşikleri yapı ve karmaşıklık yönünden farklılık gösterebilen dört alkil grubuna doğrudan bağlanmış bir azot atomundan meydana gelmiş maddelerdir. Bu geniş bileşik ailesi içerisinde alkil benzalkonyum klorürler en yaygın kullanılan antiseptiklerdir (Weber ve ark., 2007).

Mikroorganizmaların hücre yapısı, bileşenleri ve fizyolojilerindeki farklılıklarından dolayı antimikrobiyal ajanlara yanıtı da farklı olmaktadır. Literatürde dezenfektanlara karşı iki temel direnç mekanizması tanımlanmaktadır: intrinsik ve kazanılmış direnç (Bragg ve ark., 2013; McDonnel ve Russell, 1999; White ve McDermott, 2001). İntrinsik direnç bakteri hücrelerinin spesifik bir ajana karşı sahip oldukları doğal bir yetenektir. Bir dezenfektan bakteriyel hedef bölgelerine ulaşabildiği ve etkileşime girebildiği takdirde etkisini göstermektedir. Dolayısıyla bir dezenfektan hücrenin dış katmanlarını geçmek zorundadır. Hücre dışı tabakaların yapı ve kompozisyonu dezenfektanın alınımını azaltarak permeabilite bariyeri olabilir. Dış membrana sahip olmayan gram pozitif bakteriler gram negatiflere göre biyositlere daha duyarlı olmaktadır. Bir diğer intrinsik direnç formu da bakteriyel biyofilmdir. Bakteriyel biyofilmler dezenfektanlara karşı duyarlılığın azalmasına neden olmaktadır. İkinci mekanizma olan kazanılmış direnç hücre genlerinin mutasyonları ya da hücrelerin zor koşullarda hayatta kalmasını sağlayan yabancı genetik bilgilerin hücreye geçişiyle gerçekleşmektedir. Hücre içerisine genetik bilgi geçişi plazmidal ya

da transpozon aracılığı ile gerçekleştirebilmektedir. Mikrobiyal komünitelerin düşük inhibitör konsantrasyonlarına ya da düşük kimyasal aktiviteye sahip QAC'lere uzun süreli maruz kalması daha dirençli klonların ortaya çıkışına neden olmuştur (Hegstad ve ark., 2010; Bragg ve ark., 2014). Antimikrobiyal direnç her ne kadar genlerdeki mutasyonlar yoluyla sağlanabilse de çoğunlukla direncin temeli direnç genlerinin kazanılması temeline bağlıdır (Hegstad ve ark., 2010). QAC'lere kazanılmış direnç daha çok *Staphylococcus aureus*'ta görülmüştür (Ioannou ve ark., 2007). Farklı kaynaklardan izole edilmiş bakterilerde birkaç *qac* geni tanımlanmıştır. Bu genlerin genellikle plazmit kaynaklı olduğu bildirilmiştir. Bu genler interkalasyon boyaları ve QAC'ler dahil diğer katyonik biyositleri içeren hidrofobik bileşiklerin dışarıya atılmasını sağlayan proteinleri kodlarlar. *Qac* genleri hareketli genetik elementler üzerinde yer alırlar ve bunların lokasyonu farklı stafilokok türleri arasında etkileşime girmelerine olanak sağlamaktadır (Hegstad ve ark., 2010).

*QacA* ve *qacB* olarak isimlendirilen *qac* direnç genleri büyük plazmitlerin üzerinde *smr*, *qacG*, *qacH*, *qacJ* olarak adlandırılan diğer *qac* direnç genleri 3 kb'dan küçük plazmitler üzerinde kodlanmıştır. Küçük plazmitler üzerinde bulunan direnç genleri genellikle gen kasetleri halinde bulunurlar ve küçük çoklu ilaç direnci (SMR) ailesinin protein kısmını kodlamaktadır (Bjorland ve ark., 2005). *QacA* ve *qacB* genleri ise başlıca kolaylaştırıcı süper familyasının (MFS) protein kısmını kodlamaktadır. Direnç genleri tarafından kodlanan tüm proteinler hücre zarına gömülüdür (Bragg ve ark., 2013).

*QacA* pSK1 plazmidi üzerinde yer alan 514 amino asitlik bir transmembran proteindir (Gillespie ve ark., 1989) ve *qacR* üzerinde kodlanan bir transkripsiyonel regülatöre (repressör) ihtiyaç duyar (Gillespie ve ark., 1989; Peters ve ark., 2009; Wassenaar ve ark., 2015). Katyonik lipofilik bileşikler hücreye girdiğinde *qacR* faktörüne bağlanırlar ve *qacA*'nın ekspresyonunu sağlarlar. *QacA*'ya çok benzeyen *qacB* geni pSK23 plazmidinde taşınmaktadır her iki gen arasında sadece altı adet amino asitte farklılık göstermektedir. *QacA* geninde olduğu gibi *qacB*'nin ekspresyonu da transkripsiyonel repressör *qacR* tarafından düzenlenmektedir (Wassenaar ve ark., 2015). *QacC* proteinleri, *Staphylococcus aureus*'un küçük bir plazmidi pSK89'da ilk olarak tanımlanmıştır (Lyon ve Skurray, 1987). *QacC* proteini 107 amino asit uzunluğunda olup diğer bakteri cinslerinde uzunluğu 108 ya da 109 olabilmektedir. *QacC* proteinleri



bakteri membranında dimer oluşturan dört transmembran domain içermektedir. *QacC* geninin ekspresyonu için transkripsiyonel regülatöre ihtiyaç bulunmamaktadır (Wassenaar ve ark., 2015). Stafilokokal çoklu ilaç direncinden sorumlu bu gene farklı çalışmalarda *smr* ismi verilmiştir (Grinius ve ark., 1992; Grinius ve ark., 1994).

Biyosit ve dezenfektan direnci nozokomiyal enfeksiyonları azaltmak için alınan hijyen stratejileri ve dezenfeksiyon önlemlerini önemli ölçüde engelleyebilmektedir. Bu nedenle klinik ortamlardaki kadar toplumlardaki *Staphylococcus* popülasyonlarında *qac* genleri yoğun bir şekilde çalışılmaktadır. Çalışmaların büyük bir kısmı genlerin PCR ile belirlenmesi üzerinden gerçekleştirilmektedir. Bazen bu çalışmalar direncin seviyesi ve yapısını belirlemek için bazen fenotipik karakterizasyon ile desteklenmektedir.

Bu tez kapsamında sığır klinik mastitis, peynir, sığır tank sütü ve tavuk karkas örneklerinden izole edilmiş 90 adet *Staphylococcus* spp.'de *qac* antiseptik direnç genleri (*qacA/B* ve *qacC*) PCR ile belirlenmiştir.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Leelaporn ve arkadaşları (1994), koagülaz negatif stafilocokların (CoNS) klinik izolatlarında antiseptik ve dezenfektanlara direnç oluşumunu incelemiştir. Araştırmacılar, 1980'lerin başında izole edilmiş 164 CoNS klinik suştan setiltrimetilamonyum bromür gibi katyonik antimikrobiyal bileşiklere karşı dirençli olduğu bilinen 40 izolatın DNA-DNA hibridizasyon analizi ile *Staphylococcus aureus* olduğunu tespit etmiş ve bu suşların çoklu ilaç taşıyıcı *qacA* ile *qacC* genlerini içerdiğini belirlemiştir. Dirençli CoNS izolatlarının % 50'sinin sadece *qacA*, % 10'unun sadece *qacC* ve geri kalan % 40'ının hem *qacA* hem de *qacC* içerdiği belirtilmiştir. Hem *qacA* hem de *qacC* genlerinin, her durumda plazmidlerde; *qacA*'nın > 10 kb'lık plazmidlerin üzerinde *qacC* genlerinin ise 2-3 kb'lık plazmidler üzerinde bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca *Staphylococcus aureus* suşlarında *qacA* ve *qacC* gen taşıyan plazmidlerin restriksiyon endonükleaz profilleri sonucunda bu genlerin benzer veya farklı plazmidlerde bulunduğu gösterilmiştir.

Çoklu ilaç dışarı atım mekanizmasında küçük membran proteini olan *qacC* polipeptidinde amino asitlerin rolü belirlenmiştir. Proton bağımlı dışarı taşıma mekanizması ile toksik organik katyonlara direnç sağlayan stafilokokal *qacC* geninde yapılan mutasyon analizleri ile 42. pozisyonundaki sisteinin proteinde substratı tanıma işlevini gerçekleştirdiği ayrıca 59 ve 62. pozisyonlardaki tirozin ve triptofan amino asitlerinin de *qacC* proteininde yapısal ve fonksiyonel bir role sahip olduğu bildirilmiştir (Paulsen ve ark., 1995).

Japonya'da 1992 yılında izole edilen 98 MRSA suşunda antiseptik direnç genleri olan *qacA* ve *smr*'nin araştırıldığı çalışmada 10 suшта *qacA*, 20 suшта ise *smr* genlerinin bulunduğu tespit edilmiştir (Noguchi ve ark., 1999).

Kücken ve arkadaşları (2000), *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Stenotrophomonas maltophilia* klinik izolatlarında, antibiyotik ve antiseptik (benzalkonyum klorür ve setiltrimetilamonyum bromür) dirençliliği arasındaki bağlantıyı tespit ettikleri çalışmada tüm suşların % 10'unun (103) *QacEAI* direnç genini taşıdığını bulmuşlardır. 37 *Pseudomonas aeruginosa* suşunun sadece birinde *qacE* geninin bulunduğu görülmüştür. Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre, çoklu antibiyotiğe dirençli gram-negatif bakterilerin, kuaterner amonyum

bileşiklerine, *qacE* veya *qacEΔ1* mevcut olsa bile, antibiyotiğe duyarlı suşlardan daha fazla dirençli olmadığını gösterdiği bildirilmiştir.

Mastitis kontrolü amacıyla 10 yıl boyunca QAC (setiltriemonyum bromür) içeren meme kremi kullanılmış üç farklı inekten penisilin, tetrasiklin ve QAC'ye dirençli 3 *Staphylococcus aureus* izolatında plazmid analizi, PCR ve DNA dizilimi çalışmaları ile *smr* geni içeren yeni bir plazmid bulunduğu belirlenmiştir. Bu plazmidin, daha önce insan ve gıda izolatlarında tespit edilmiş *smr* taşıyan stafilokokal küçük plazmidlere benzediği belirtilmiştir (Bjorland et al., 2001).

*Staphylococcus aureus*'un Avrupa klinik izolatlarında antiseptik direnç genlerinin yaygınlığı ve dağılımı hakkındaki bilgileri güncellemek ve Avrupa'daki 297 metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve 200 metisilin duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) izolatında *QacA/B* ve *qacC* genleri taranmıştır. Toplam 497 izolatın 210'unda *qacA/B* genleri bulunmuş olup bunların 186'sı MRSA 24'ü MSSA izolatlarında tespit edilmiştir. *QacC* geni ise toplamda 29 adet saptanmış olup 19'u MRSA 20'si MSSA suşlarında bulunmuştur. Her üç gene (*qacA/B* ve *qacC*) ise 1 MSSA ve 4 MRSA olmak üzere 5 izolatta rastlanmıştır (Mayer ve ark., 2001).

Klinik stafilokoklar arasında dezenfektan direnç genlerinin sıklığı ve beta-laktamaz Transposon Tn552 ile genetik bağlantının araştırılması amacı ile yapılan çalışmada, septisemi, kanser ve HIV-pozitif hastalarda toplam 238 (177'si koagülaz negatif stafilokok) *Staphylococcus aureus* izole edilmiştir. 118 izolatın kuarterner amonyum bileşik bazlı dezenfektan benzalkonyum klorüre (BC) karşı dirençli olduğu belirlenmiştir. Seçilen 78 izolat içerisinde *qacA/B* taşıyıcısını % 83, *qacC* taşıyıcısının % 3 içerdiği bildirilmiştir (Sidhu ve ark., 2002).

İnsan kaynaklı klinik *Staphylococcus aureus* izolatlarında yüksek düzeyli antiseptik direnç genlerinin *qacA* ile *qacB*'nin dağılımı ve genomik çeşitliliği analiz edebilmek için bir Japon hastanesinden izole edilen toplam 522 suшта antiseptik direnç genlerinin dağılımı ve genomik çeşitliliği araştırılmıştır. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarında *qacA/B* ve *smr* (Küçük çoklu ilaç direnci) genleri sırasıyla % 32.6 ve % 3.3, metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* suşlarında sırasıyla % 7.5 ve % 5.9 oranında saptanmıştır. Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP) analizi ile *qacA/B* genleri arasında *qacA* tipi gene (% 40.7) göre *qacB* tipi genin (% 59.3) daha yüksek prevalansını gösterdiği bildirilmiştir (Alam ve ark., 2003).

Atlardan izole edilen *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus simulans* ve *Staphylococcus intermedius* suşlarında kuaterner amonyum bileşiklerine direnç sağlayan plazmidal *qacJ* geni belirlenmiştir. 107 amino asitlik QacJ proteininin çoklu ilaç direnç ailesinin bilinen proteinlerine benzerlik [Smr/QacC (%72.5), QacG (%82.6) ve QacH (%73.4)] gösterdiği bildirilmiştir (Bjorland ve ark., 2003).

Noguchi ve arkadaşları (2005), 11 Asya ülkesinden 1998-1999 yılları arasında topladıkları 894 adet MRSA izolatlarında *qacA/B* ve *smr* antiseptik direnç genlerini PCR ile belirlemişlerdir. Asya kaynaklı MRSA izolatlarının %31.6'sında *smr* genini %41.6'sında *qacA/B* genlerini içerdiği bulunmuştur..

El hijyeni amacıyla 20 yıldır klorheksidin glukonatın kullanıldığı Ulusal Tayvan Üniversitesi Hastanesi'nde (NTUH) 1990, 1995, 2000 ve 2005 yıllarında izole edilmiş toplam 240 nozokomiyal MRSA izolatında klorheksidin duyarlılığı, multilokus dizi tiplendirmesi ile *qacA/B* geninin dağılımı ile incelenmiştir. Yüksek klorheksidin MIC değerine sahip test edilmiş 83 izolat arasında %55.4'ünün *qacA/B* geni taşıdığı bildirilmiştir. *QacA/B* taşıyan MRSA izolatlarının ilk olarak 1995 yılında tespit edildiği ve tek bir klona ait olduğu, 2005 yılında tespit edilenlerin ise 7 farklı kolona ait olduğu bildirilmiştir (Wang ve ark., 2008).

Klinik kaynaklı *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşlarının biguanid, kuaterner amonyum bileşikleri, beta-laktam bileşikleri ve florokinolonlara direnci sağlayan genlerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada toplam 120 izolat kullanılmış, PCR ile *qacA/B*, *qacG*, *qacH*, *norA*, *smr* ve *blaZ* genleri belirlenmiştir. 120 izolatın % 8.3'ünde *qacA/B*, % 3.3 *qacH*, % 36.7 *norA*, % 44.2 *smr* ve % 97.5 *blaZ* genleri belirlenmiş ancak *qacG* geninin saptanmadığı bildirilmiştir (Vali ve ark., 2008).

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA)'da klorheksidin glukonata (CHDN) duyarlılığın azalması ile atık pompaları kodlayan *qacA*, *qacB* ve *smr* genleri arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla yapılan çalışmada 2005-2009 yılları arasında Kanada'da bulunan iki yoğun bakım ünitesinden toplam 334 MRSA izolatı toplanmıştır. 7 suşta (2 *qacA* geni ve 5 *qacB* geni) *qacA/B* (% 2) ve 23 suşta *smr* (% 7) genleri belirlenmiştir. *Smr* genlerini barındıran suşlar için CHDN minimal bakterisidal konsantrasyonlar biraz daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Longtin ve ark., 2011).

Stafilokoklardaki antiseptik direnç genleri olan *qacA/B* ve *smr*'nin hastane ve hastane dışındaki prevalansının incelenmesi amacıyla yapılan araştırmada 249

hemşireden izole edilen *Staphylococcus aureus* ve koagulaz-negatif stafilokokus (CoNS) suşları, *qacA/B* ve *smr* pozitifliği ile sağlık dışı çalışanlardaki taşıyıcı izolatlar karşılaştırılmıştır. *Qac* genleri ve antibiyotik direnci arasındaki ilişkiler araştırılmış, benzalkonyum klorür ve klorheksidin ile minimum inhibitör konsantrasyonları (MIC) / minimum bakterisidal konsantrasyonları (MBC'ler) belirlenmiştir. Her iki gen de hemşirelerden izole edilmiş CoNS suşlarında daha yaygın görülürken *qacA/B* geninin hemşirelerin *Staphylococcus aureus* izolatlarında genel popülasyondakinden daha yaygın olarak bulunduğu bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2011).

Zmantar ve arkadaşları (2011), Tunus'ta bir diyaliz merkezinden izole ettikleri 117 *Staphylococcus aureus* klinik izolatında PCR-RFLP ile dezenfektan direnç genlerini çalışmışlardır. Koagulaz negatif ve diğer olmak üzere toplam 11 izolatın 3 *qac* genini birlikte (*qacA*, *qacB* ve *qacC*) içerdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca toplam 117 adet izolattan %35'inin *qacC*, %24 ünün *qacA* ve %15.4'ünün *qacB* içerdiğini saptamışlardır.

Hastaneye yatışlı hasta kanları ve dışkılarından, çiftlik hayvanı dışkılarından, süt ve süt ürünlerinden ve et ürünlerinden izole edilen izole edilmiş 585 *Enterococcus faecalis* suşunda, PCR ile *qac* genleri (*qacA*, *qacB*, *qacC*, *smr* [*qacC* + *qacD*], *qacE11*, *qacG*, *qacH*, *qacJ*) taranmıştır. Dört *Enterococcus faecalis* suşunun *qac* genleri yönünden pozitif olduğu belirlenmiştir. Bu suşlardan sığır ve insan kanı kaynaklı birer izolatta *qacA/B* insan dışkısı ve peynir kaynaklı ("Camembert" peyniri) birer izolatta ise *smr* genleri (*qacC* + *qacD*) tespit edilmiştir (Bischoff ve ark., 2012).

Ülkemiz kaynaklı klinik örneklerden izole edilmiş 69 adet nozokomiyal MRSA suşunda PCR ile antiseptik direnç genleri belirlenmiş izolatların %11.6'sında *qacA/B* direnç genleri bulunduğu bildirilmiştir (Aykan ve ark., 2013).

Ebner ve arkadaşları (2013), tavuk karkaslarından izole ettikleri iki farklı kesimhane kaynaklı 34 *Staphylococcus aureus* izolatında (Kesimhane A'dan 20, Kesimhane B'den 14) DNA mikroarray analizi ile *qacC* genlerinin varlığını göstermişlerdir. Toplam izolatın yaklaşık %65'inin *qacC* geni yönünden pozitif olduğu gösterilmiştir.

Hasta hindi ve tavuklardan izole edilmiş 131 MRSA suşunun hindi kaynaklı 12, tavuk kaynaklı 3 izolatında *qacC* geni mikrodizi hibridizasyon yöntemi ile tespit edilmiştir (Monecke ve ark., 2013).

Piliç ve çiftlik çalışanları arasında geçişi ve kaynaklarının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada mikrodizi analizi taraması sonucunda bir çiftlikten izole edilmiş 3 suşta kuarterner amonyum direnç geni olan *qacC* saptanmıştır (Wendlandt ve ark., 2013).

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* izolatlarında antiseptik direnç (AR) genlerini belirlemek amacıyla araştırmak için yapılan çalışmada domuz karkaslarından izole edilmiş 100 adet suşta PCR ile antiseptik direnç genlerinin varlığı belirlenmiştir. 45 suşun *smr* içerdiği ve bu *smr*-pozitifler arasında 8 adedinin *qacG* içerdiği saptanmıştır. Suşların *qacA/B*, *qacH* veya *qacJ* genlerini içermediği bildirilmiştir (Wong ve ark., 2013).

Üniversite hastanesi (Hatay-Türkiye) genel cerrahi servisinden (Hatay-Türkiye) izole edilmiş 130 *Staphylococcus aureus* suşunda PCR ile dezenfektan direnç genleri (*qacA/B* ve *qacC*) belirlenmiştir. Amikasin dirençli tüm suşların *qacA/B*, %8.9'unun *qacC* ve her üç gen yönünden %18.4'ünün pozitif olduğu rapor edilmiştir (Temiz ve ark., 2014).

Meksika'da devlet hastanesi hemodiyaliz ünitesindeki kateter kaynaklı enfeksiyonlardan 2013 yılında izole edilmiş MRSA suşlarında PCR ile *ermA*, *ermB*, *ermC*, *msrA*, *mef*, *qacA*, *qacB*, *qacC* direnç genleri belirlenmiştir. Suşların %71'inde *ermA*, *ermB*, *ermC*, *qacA*, *qacB* ve *qacC* direnç genlerinin bulunduğu bildirilmiştir. *QacC* geninin toplam 21 MRSA izolatında, *qacA* ve *qacB* genlerinin %76'sında bulunduğu gösterilmiştir (Paniagua-Contreras ve ark., 2014).

Peterson ve arkadaşları (2015) yaygın olarak dezenfektanın kullanıldığı domuz üretiminden yola çıkarak domuz kaynaklı tam genom dizisi çıkarılmış 4 *Staphylococcus aureus* suşlarında *qac* direnç genlerinin (*qacA/B*, *smr*, *qacE*, *qacEΔ1*, *qacF*, *qacG*, *qacH*, *qacI*, *qacJ*, ve *qacZ*) varlığını nükleotid BLAST ile belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda Avrupa menşeli domuz MRSA izolatlarında *qac* genlerinden *qacG* ve *qacC*'nin tespit edildiği bildirilmiştir.

Kanada'da 26 çiftlikteki 390 domuzun nazal kültürlerinden elde edilen MRSA'larda kuarterner amonyum bileşiklerine direnç sağlayan genleri (*qacA/B*, *qacG*, *qacH*, *qacJ* ve *smr*) Real-time PCR ile belirlenmiştir. Tüm izolatların en az 1 adet *qac* geni içerdiği ve %32.5'inin *qacG*, *qacH* ve *smr* içerdiği bildirilmiştir. (Slifierz ve ark., 2015).

Ammar ve arkadaşları (2016), Mısır'da süt ve et ürünlerinden izole edilmiş metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) izolatlarında benzalkonyum klorüre (BC) direnç genlerini araştırdıkları çalışmada, izolatların %55'inin benzalkonyum klorüre karşı dirençli olduğunu ancak hiçbirinde *qacA/B* ve *smr* genlerini bulundurmadığını belirtmişlerdir.

Çin'de yanık hastalarından 7 yıl boyunca izole edilmiş 85 MRSA ve 280 MSSA suşlarında PCR ile *qacA* ve *qacB* genleri belirlenmiştir. MRSA'ların tümünde *qacA* ve *qacB* direnç genlerinin bulunduğu ancak MSSA'da bulunmadığı bildirilmiştir. (Chen ve ark., 2017).

Kuveyt'te bulunan hastanelerden izole edilmiş ve klorheksidine duyarlılığı düşük 121 adet klinik MRSA ve 56 adet MSSA izolatında direnç genlerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, MRSA'nın % 12.3'ünde *qacA* ve *qacC* ve MSSA'nın % 5.4'ünde *qacA*, % 83'ünde *norA* ve % 91'inde *blaZ* genlerinin mevcut olduğu bildirilmiştir (Vali ve ark., 2017).

İran'da bulunan eğitim ve araştırma hastanelerinden izole edilmiş Metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA), metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), metisiline duyarlı koagülaz negatif stafilocok (MConS) ve metisiline dirençli koagülaz negatif stafilocoklarda (MRConS) antiseptik direnç genleri *mecA*, *qacA/B*, *qacC* ve *smr* PCR ile araştırılmıştır. Toplam 120 izolatın 15'inde *qacA/B*, 26'sında *qacC* ve 38'inde *smr* geni bulunduğu bildirilmiştir (Damavandi ve ark., 2017).

Klinik kaynaklı *Staphylococcus spp.* (69) ve *Enterococcus spp.* (69) izolatlarında PCR ile direnç genleri (*qacA/B*, *smr*, *qacG*, *qacH*, *qacJ*) çalışılmış ve antiseptik direnç genlerinin sıklığının klinik stafilocok izolatlarında yüksek (49/69) olduğu ancak enterokok izolatlarında bulunmadığı (0/69) bildirilmiştir. 40 Koagülaz negatif suşun 25'inde *qacA/B*, 7'sinde *smr*, diğer suşların 3'ünde *qacA/B*, 4'ünde ise *smr* geni tespit edilmiştir. Ayrıca *Staphylococcus aureus* suşlarında *qacG* ve *qacJ* genleri oranının sırasıyla 11/29 ve 8/29, ConS suşlarında ise sırasıyla 5/40 ve 10/40 olduğu ve suşların hiçbirinin *qacH* genini içermediği bildirilmiştir (Ignak ve ark., 2017).

Ribič ve arkadaşları (2017) kuarterner amonyum didecil-dimetil-amonyum klorür (DDAC) içerikli bir ticari dezenfektanla günlük temizlenen işyerlerinden izole ettikleri *Staphylococcus epidermidis* (57 adet) suşlarının %95'inden fazlasının *qacA/B* ve *qacC* genlerini içerdiği diğer *qac* genlerini içermediklerini bildirmiştir.

MRSA izolatlarında *qacA/B* ve *qacC* gen dağılımlarının doğru ve etkili analizi için Singapur'da bir hastaneden 2 ay boyunca toplanan izolatlarda real-time PCR ile antiseptik direnç genleri tespit edilmiştir. 200 MRSA izolatından %24' ünün *qacA/B* ve %23' ünün *qacC* genini içerdiği bulunmuştur (Chan ve ark., 2018).

Doğu Çin'den izole edilen epidemik MRSA suşlarındaki antiseptik direnç genlerinin prevalans ve dağılımını ortaya koymak amacıyla yapılan multipleks PCR sonuçlarına göre izolatların %20.1'inde *qacA/B* tespit edildiği belirtilmiştir (Kong ve ark., 2018).

Ülkemiz Hatay ilinden 2019 yılında subklinik mastitli keçilerden izole edilen stafilokokuslarda (30 adet) PCR ile %3.3 oranında *qacA/B* geninin bulunduğu tespit edilmiştir (Cantekin ve ark., 2019).

Brezilya'da 2010-2015 yılları arasında devlet ve özel hastanelerden izole edilmiş 211 *Staphylococcus* suşunda PCR ile klorheksidin direnç geni (*qacA/B*) araştırılmıştır. Klorheksidine duyarlılığı azaldığı saptanan 64 izolattan dirençli olduğu saptanan 32 izolatın ve daha az duyarlı olduğu saptanan 17 izolatın *qacA/B* geni yönünden pozitif olduğu belirtilmiştir (Do Vale ve ark., 2019).

Mohammadi ve arkadaşları (2019) İran'ın Tahran şehrindeki metro istasyonlarından 2016-2017 yılları arasında izole edilmiş 100 adet *Staphylococcus aureus* suşunda antiseptik direnç genlerinin varlığını araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada izolatların %30'unun *qacA/B* genini içerdiğini bildirmiştir (Mohammadi ve ark., 2019).

Doğu ve Batı Londra'da hastaneler ve ortak kullanım alanlarındaki yüzeylerden izole edilmiş ve *mecA* pozitif olduğu belirlenmiş 49 izolatın tüm genom dizi analizleri sonucu %51.16'sının *qacA/B* genini içerdiği belirtilmiştir (Cave ve ark., 2019).

Japonya, Tokyo'da 2010 ve 2016 yılları arasında hastanelerde yatan enfekte olmuş hastalardan izole edilen 600 MRSA suşunda kuarterner amonyum bileşiklerine direnç kazandıran *qacA/B* genleri PCR ile belirlenmiştir. 600 MRSA suşundan, % 19.8'inin *qacA/B* yönünden pozitif olduğu bulunmuştur (Miyajima ve ark., 2019).

Güney Kore'de bir eğitim hastanesinden 2010–2016 yılları arasında septisemi kaynaklı 246 MRSA izolatının %28.9'unun *qacA/B* yönünden pozitif olduğu belirtilmiştir (Hong ve ark., 2019).



İtalya Toskana Lazio’da toplanan sığır tank sütünden izole edilmiş 120 koagülaz negatif stafilokok suşları arasında biyofilm üreticisi izolatların %12.3’ünün *qac* genleri yönünden pozitif ve bunlardan da *smr-qacC* geninin yaygın olarak bulunduğu (%9.6) bildirilmiştir (Turchi ve ark., 2020).

Dünya genelinde *Staphylococcus aureus* plazmidal dışa atım pompa genlerinin sıklığının belirlemek amacıyla farklı veri tabanlarından (Medline Pub Med, ISI, Scopus, Google Akademik, ISC, Science direct and Persian Journals Online ve alıntı listeleri) alınan bilgiler sonucunda Asya ülkelerindeki klinik izolatların %40’ının *qacA/B*, Avrupa ülkelerindeki klinik izolatların %1.9-42’sinin *qacA/B* ve %1.9-44’ünün *smr*; Amerika ülkelerindeki klinik izolatların %7.6’sının *qacA/B* ve %9.9’unun *smr*; Afrika ülkelerindeki klinik izolatların %40.5’inin *qacA/B* içerdiği bildirilmiştir (Hassanzadeh ve ark., 2020).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Tez kapsamında Sigma, Merck ve Vivantis'ten temin edilen Trypticase Soya Agar, TES tamponu, Lizozim, proteinaz K, SDS, Fenol, Kloroform, PCR tamponu, Taq polimeraz, dNTP, MgCl<sub>2</sub>, Agaroz, kullanılmıştır.

Çalışma kapsamında etüv, otomatik pipet, hassas terazi, otoklav, laminar kabin, vorteks, buz makinası, yatay jel elektroforezi, güç kaynağı, santrifüj ve jel görüntüleme cihazı kullanılmıştır.

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. Bakteriler

Peynir, sığır klinik mastitis, sığır tank sütü ve tavuk karkaslarından izole edilerek gliserol stokları halinde M.K.Ü Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında bulunan *Staphylococcus* spp. Suşları, Trypticase Soya Agarda pasajlanarak aktifleştirilmiştir.

##### 3.2.2. DNA İzolasyonu

*Staphylococcus* spp. kültürlerinden DNA izolasyonu fenol/kloroform yöntemi kullanılarak yapılmıştır (Sambrook ve ark, 2001). İzolatların agar kültürlerinden bir öze dolusu alınarak 1 ml steril PBS içeren ependorf tüplere aktarılmış ve PBS içerisinde vortekslenerek süspansiyon edilmiştir. Sonrasında örnekler 3500 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edilerek süpernatant atılmıştır. Hücre peleti üzerine 1ml Tris-HCL tamponu (10 mM, pH 8, 1 mM EDTA, 1 mM NaCl) eklenerek süspansiyon edildikten sonra tekrar santrifüj edilmiştir. Süpernatant atıldıktan sonra pellet üzerine lizozim (12.5 µg/ml) içeren 500 µl Tris-HCL tamponu (10 mM, pH 8, 1 mM EDTA, 1 mM NaCl), eklenerek süspansiyon edilmiş ve su banyosunda 37 °C de 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında 20 µl SDS-sodyumdodesil sülfat (%10) çözeltisi ve 10 µl Proteinaz K (10 µg/µl) ilave edilerek karıştırılmış ve 65 °C 20 dakika su banyosunda inkübe edilmiştir. Protein ve diğer hücre artıklarının uzaklaştırılması için karışım üzerine, eşit miktarda fenol:kloroform:izoamil alkol (25:24:1) ilave edilerek

vortekslenmiştir. Karışım 10 dakika süreyle 10000 rpm’de santrifüjlenerek üst tabaka dikkatlice yeni bir tüpe transfer edilmiştir. Örnekler üzerine 0.1 hacim 3 M sodyum asetat çözeltisi ve 1 hacim absolut etanol ilave edilerek -20 °C’ de bir gece bekletilmiştir. örnekler 10 dakika süreyle 13000 rpm’de santrifüj edildikten sonra süpernatant atılmıştır. Pelet öncet % 90 sonra % 70 etanol ile iki alamlı yıkanmıştır. Kurutulan peletler 100 µl Dietil pirokarbonat çözeltisi (DEPC) ile süspanse edilerek -20 °C’de PCR analizlerinde kullanılmak üzere saklanmıştır. DNA süspanسیونlarından 2 µl alınarak PCR işlemlerinde kalıp DNA olarak kullanılmıştır.

### 3.2.3. Antiseptik Direnç Genlerinin PCR Amplifikasyonları

Çalışmada QAC antiseptik direnç genlerinin varlığı Zmantar ve arkadaşları (2011), tarafından önerilen primerler ve protokol kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tekniği için kullanılan primerler Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan primerler ve özellikleri.

Test	Hedef gen	Oligonükleotit dizileri (5’-3’)	Bant büyüklüğü (bp)	Referans
Antiseptik Direnç Genleri	<i>qacA</i>	5’-TCCTTTTAATGCTGGCTTATAACC-3’	220 bp	Zmantar ve ark., 2011
	<i>qacB</i>	5’-AGCCKTACCTGCTCCAACCTA-3’		
	<i>qacC</i>	5’-GGCTTTTCAAAATTTATACCATCCT-3’ 5’-ATGCGATGTTCCGAAAATGT-3’	249 bp	Zmantar ve ark., 2011

PCR çalışmaları herbir örnek için toplam 25 µl’lik hacimlerde yapılmıştır. PCR Karışımı; 2,5 µl 10x PCR tamponu, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µM dNTP (10 mM), ileri ve geri primerler 20 pmol, DNA Polimeraz 1U Taq ve örnek DNA’sı 2 µl içermektedir. Her çalışma için pozitif ve negatif kontroller de hazırlanmış ve yürütülmüştür. Amplifikasyon işlemi thermal ısı döngü cihazında; 94 °C’de 3 dakika süreyle ön denatürasyon sonrasında 35 döngü halinde 94 °C’de 45 saniye DNA denatürasyon, 56 °C’de annealing, 72 °C’de 60 saniye polimerizasyon işlemi ve ardından 72 °C’de 7 dakika bekletilerek amplifikasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

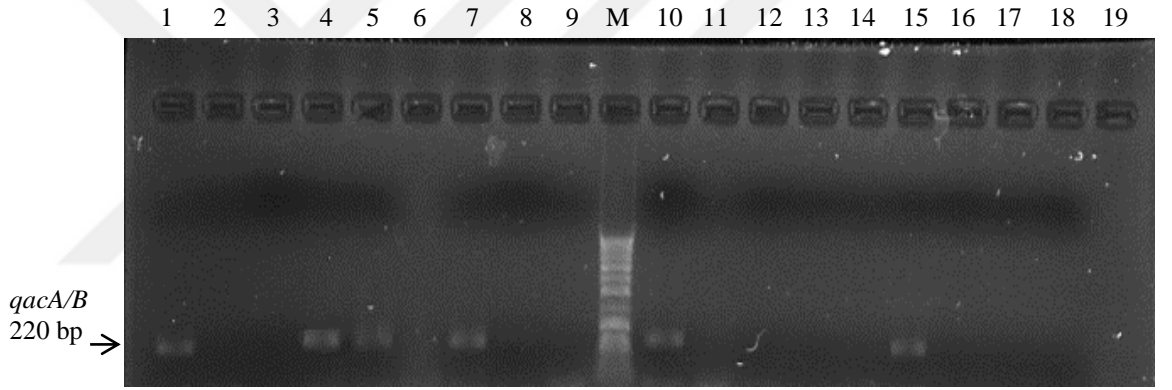
### 3.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi ve Görüntüleme

Yapılan amplifikasyon işleminden sonra Agaroz jel elektroforezi için %1,5'lik 100 ml jel kullanılmıştır. Agaroz (Vivantis) Tris Borat EDTA tamponu (TBE) ile hazırlanmıştır. Homojen hale getirilen agaroz çözeltisi (100 ml) içerisine 5 µl Safe Red ilave edilmiştir. Jel kuyularına yüklenecek amplifikasyon ürünlerine (10 µl) 2 µl 6X Gel Loading Dye eklenerek yükleme yapılmıştır. Jelde DNA örnekleri 180 V'da 60 dakika boyunca yürütülmüştür. Elektroforez sonrası jeller UV ışık altında incelenerek görüntülenmiştir. Yürütme aşamasında marker olarak 100-1000 bp aralığındaki Vivantis 100 bp plus kullanılmıştır.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Çalışma kapsamında daha önceki çalışmalar, klinik materyaller kaynaklı izolatlar ve Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan toplam 90 adet *Staphylococcus* spp. izolatında *qacA/B* ve *qacC* genlerinin varlığı PCR ile belirlenmiştir. Çalışılan izolatların 19 adedi çeşitli peynirlerden, 15 adedi sığır klinik mastitis örneklerinden, 24 adedi sığır tank sütünden ve 32 adedi tavuk karkaslarından izole edilmiştir. İzolatlardan ekstrakte edilen DNA örnekleri kullanılarak 220 bp'lik *qacA/B* gen bölgesi ve 249 bp'lik *qacC* gen bölgesi çoğaltılarak *qac* genlerinin mevcut olup olmadığı belirlenmiştir.

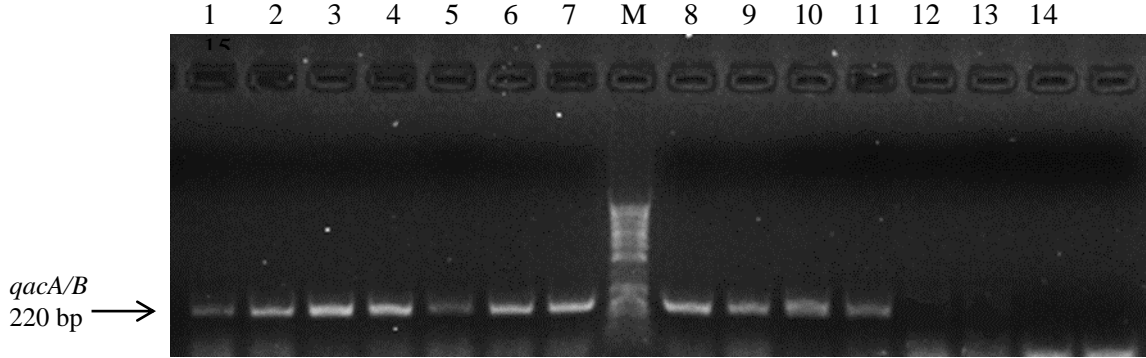
Çeşitli peynirlerden izole edilmiş 19 adet *Staphylococcus* spp. suşuna ait PCR ile çoğaltılmış *qacA/B* genleri Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Peynir kaynaklı *Staphylococcus* spp. izolatlarından *qacA/B* genlerinin simplex amplifikasyon agaroz jel elektroforegramı (Markır 100-1000bp).

Peynir kaynaklı 19 adet *Staphylococcus* spp. izolatının 6 adedinde *qacA/B* geni belirlenmiş olup *qacC* geni tespit edilmemiştir (Şekil 4.1). Peynir kaynaklı *Staphylococcus* izolatlarının antiseptik direnç genlerinin belirlenmesine ait çalışmaya rastlanılmamıştır. Süt ve süt ürünlerinden izole edilmiş *Enterococcus faecalis* suşlarında PCR ile *qac* genlerinin (*qacA*, *qacB*, *qacC*, *smr* [*qacC* + *qacD*], *qacEAI*, *qacG*, *qacH*, *qacJ*) tarandığı çalışmada, 4 *Enterococcus faecalis* suşunun *qac* genleri yönünden pozitif olduğu bildirilmiştir. Bu suşlardan ise peynir (“Camembert” peyniri) kaynaklı izolatların sadece bir adedinde *smr* genlerinin (*qacC+qacD*) tespit edildiği belirtilmiştir (Bischoff ve ark., 2012).

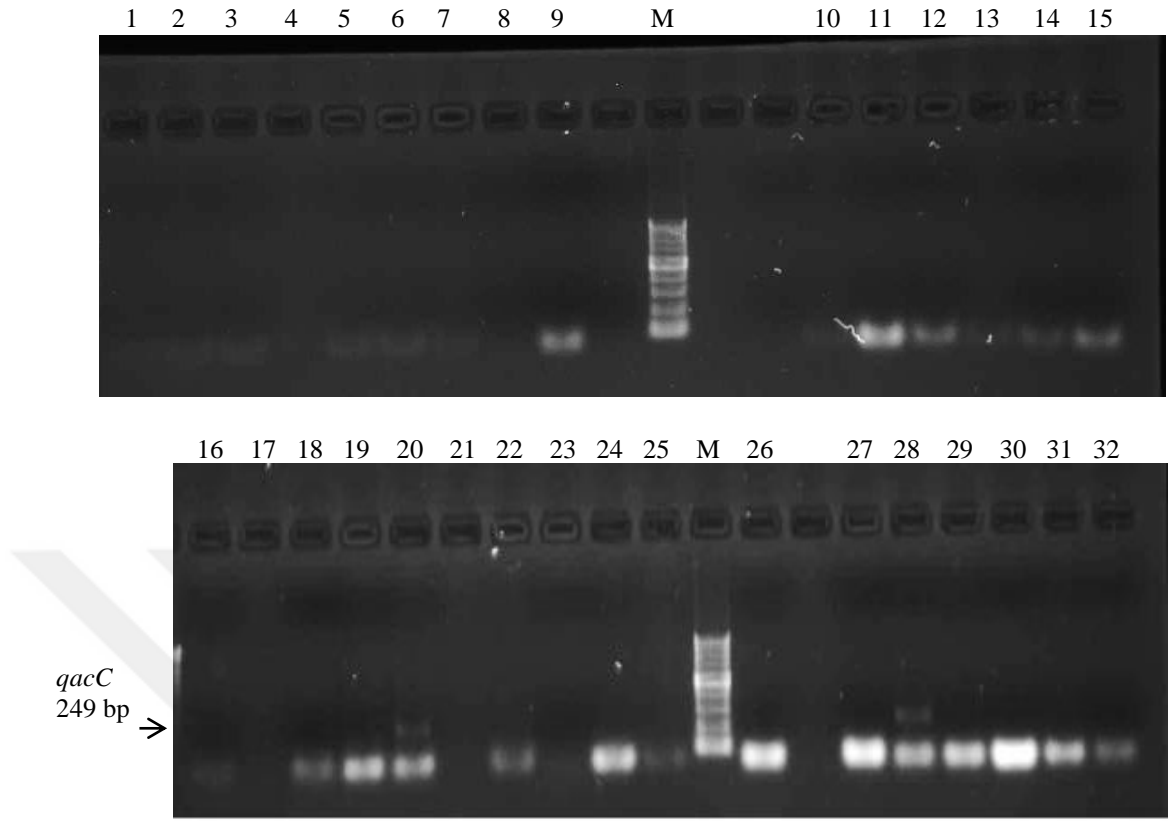
Sığır klinik mastitis örneklerinden izole edilmiş 15 adet *Staphylococcus* spp. suşuna ait PCR ile çoğaltılmış *qacA/B* genleri şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.2. Sığır klinik mastitis kaynaklı *Staphylococcus* spp. izolatlarından *qacA/B* genlerinin simplex amplifikasyon agaroz jel elektroforegramı (Markır 100-1000bp).

Klinik mastitis kaynaklı 15 adet *Staphylococcus* spp. izolatının 11 adedinde *qacA/B* genleri belirlenmiştir (şekil 4.2), ancak bu izolatlarda *qacC* geni tespit edilmemiştir. PCR analizi ile, Hatay ilinden 2019 yılında subklinik mastitli keçilerden izole edilmiş 30 adet stafilokokus suşundan %3.3’ünün *qacA/B* genini içerdiği bildirilmiştir (Cantekin ve ark., 2019). 10 yıl boyunca bir QAC türü olan setiltriemonyum bromür içeren meme kremi kullanılmış ineklerden izole edilen ve penisilin, tetrasiklin ve QAC’ye dirençli 3 *Staphylococcus aureus* izolatında *smr* geni içeren yeni bir plazmid bulunmuştur (Bjorland ve ark., 2001). Bischoff ve arkadaşları (2012), sığır kanı kaynaklı *Enterococcus faecalis* izolatlarıyla yapmış oldukları çalışmada bir adet izolatta *qacA/B* tespit etmişlerdir.

Tavuk karkas örneklerinden izole edilmiş 32 adet *Staphylococcus* spp. suşuna ait PCR ile çoğaltılmış *qacC* genleri şekil 4.3’de verilmiştir.



Şekil 4.3. Tavuk karkas kaynaklı *Staphylococcus* spp. izolatlarından *qacC* geninin simplex amplifikasyon agaroz jel elektroforegramı (Markır 100-1000bp).

Tavuk karkaslarından izole edilmiş 32 adet *Staphylococcus* spp. izolatının 2 adedinde *qacC* geni belirlenmiş olup *qacA/B* genleri bulunmamıştır (Şekil 4.3). Ebner ve arkadaşları (2013), DNA mikroarray analizi ile iki farklı kesimhane kaynaklı tavuk karkaslarından izole ettikleri 34 adet *Staphylococcus aureus* izolatının %65'inin *qacC* geni yönünden pozitif olduğunu tespit etmişlerdir. Mikrodizi hibridizasyon yöntemi ile hasta hindi ve tavuklardan izole edilmiş 131 MRSA suşundan 15 adedinde *qacC* geni ile tespit edilmiştir (Monecke ve ark., 2013). Ayrıca canlı piliçlerde de mikrodizi analizi taraması sonucunda kuaterner amonyum direnç geni olan *qacC* bulunmuştur (Wendlandt ve ark., 2013). Domuz karkasıyla yapılan benzer çalışmada ise 100 MRSA izolatın PCR ile antiseptik direnç genlerinin varlığı belirlenmiştir ve 45 suşun smr (*qacC+qacD*) içerdiği ve smr-pozitifler arasından da 8 adedinin *qacG* içerdiği saptanmıştır. Suşların *qacA/B*, *qacH* veya *qacJ* genlerini içermediği bildirilmiştir (Wong ve ark., 2013).

Çalışmamız kapsamında yer alan sığır tank sütü örneklerinden izole edilmiş 24 adet *Staphylococcus* spp suşunda *qacA/B* ve *qacC* genleri saptanmamıştır. Benzer şekilde Ammar ve arkadaşları da (2016), süt ve et ürünlerinden (Mısır) izole ettikleri MRSA suşlarının %55'inin benzalkonyum klorüre karşı dirençli olduğu ancak bu izolatların *qacA/B* ve *smr* genlerini içermediklerini belirtmişlerdir. Turchi ve arkadaşları (2020) Toskana Lazio'da (İtalya) toplanan sığır tank sütünden izole edilmiş 120 koagülaz negatif stafilokokus suşundan %12.3'ünün *qac* genleri içerdiğini ve ayrıca bu suşlarda *smr-qacC* genlerinin de yaygın olarak bulunduğunu bildirmişlerdir.





## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Benzalkonyum klorür, kuarterner amonyum bileşikleri ve divalent katyonlardan klorheksidin diglukonat gibi antiseptik ve dezenfektanlar, hastane ortamı ve diğer sağlık kuruluşlarında, evlerde ve gıda üretim işletmelerinde enfeksiyon ve kontaminasyonları önlemek için sıklıkla kullanılmaktadır (Gerba, 2015; Ignak ve ark., 2017). Dolayısıyla biyositlerin yaygın kullanımı dezenfektanlara dirençli bakterilerin ortaya çıkışını gündeme getirmiştir. Hatta biyosit ve dezenfektanların aşırı kullanılmasından dolayı kendi aralarında da çapraz direncin oluştuğu bilinmektedir. Ayrıca antiseptik duyarlılığı ve direnç genlerinin dağılımı ile ilgili epidemiyolojik veriler nozokomiyal enfeksiyonlar açısından da önem arz etmektedir (Taheri ve ark., 2016).

*Staphylococcus aureus* oldukça farklı ortamlarda (biyotik ve abiyotik) yaşayabilen ve hakkında en fazla bilgi sahibi olunan patojenlerden biridir (Mirani ve ark., 2013). Bu organizma hem insanlarda hem hayvanlarda farklı düzeylerde enfeksiyonlara neden olmaktadır (Espigares ve ark., 2017). Dolayısıyla *Staphylococcus aureus* önemli bir hastalık ve ölüm etmeni olup hasta ve hastaneler üzerinde ciddi bir ekonomik yük oluşturmaktadır. Gerek hastane kaynaklı gerek insan kaynaklı *S. aureus* orijinli enfeksiyonların oranı giderek artmaktadır (Damavandi ve ark., 2017).

Biyositler (dezenfektanlar) ev ortamları dahil sağlık ve gıda sektöründe patojenlerin bulaşma ve yayılmasını kontrol etmede kritik rol oynayan kimyasallardır. Bu kimyasallar arasından kuarterner amonyum bileşikleri (QAC) en yaygın kullanılan dezenfektanlardır (Gerba, 2015).

Birçok çalışma biyosidal ajanların yoğun kullanımına bağlı olarak *Staphylococcus spp.*'de antiseptik duyarlılığın azaldığı bildirilmiştir (Ignak ve ark. 2017). Antiseptik ve dezenfektanlara karşı direnç mekanizmasının iki şekilde geliştiği bilinmektedir; intrinsik ve kazanılmış direnç. İntrinsik dirençte mikroorganizmanın antiseptik maddeyle temasına bağlı olmaksızın doğal olarak ilgili maddeye karşı direnci söz konusu iken kazanılmış direnç, kromozomal mutasyon, plazmid ya da transpozonlar aracılığı ile gerçekleşmektedir (Russell ve ark., 1998). Proton bağımlı çoklu ilaç dışa atım pompasını kodlayan ve plazmit üzerinde taşınan antiseptik direnç genleri (*qacA/B*, *smr*, *qacG*, *qacH*, *qacJ*) ilk olarak *Staphylococcus* cinsinde tanımlanmıştır (Mayer ve ark., 2001; Bjorland ve ark., 2003; Noguchi ve ark., 2005; Vali ve ark., 2008). *S.aureus*'da bu antiseptik direnç genlerinden *qacA/B* ve *smr* sıklıkla çalışılan genlerdir

(Miyazaki ve ark., 2007; Vali ve ark., 2008; Liu ve ark., 2009). Bu pompalar klorheksidin gibi kuarterner amonyum bileşiklerini içeren lipofilik katyonlara bağlanmaktadır.

Tez çalışması ile, sığır klinik mastitis örnekleri, çeşitli peynirler, sığır tank sütü ve tavuk karkaslarından izole edilerek dondurulmuş şekilde MKÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında stoklanmış *Staphylococcus* spp.'lerin antiseptik direnç genleri/genlerini (*qacA/B* ve *qacC*) içerip içermediği klasik PCR ile belirlenmiştir. Çizelge 5.1.'de izolatlarla göre *qacA/B* ve *qacC* genlerinin dağılımı verilmiştir.

Çizelge 5.1. İzolatlarda *qacA/B* ve *qacC* genlerinin dağılımı

İzolat Orijini	İzolat Adedi	<i>QacA/B</i> geni	<i>QacC</i> geni
Peynir	19	6	-
Sığır Klinik Mastitis	15	11	-
Sığır Tank Sütü	24	-	-
Tavuk Karkas	32	-	2

Toplam izolatların %18.8'de *qacA/B* ve %2.2'de *qacC* geni bulunmuştur. Plazmit üzerinde kodlanan, aminoasit dizilimi yönünden birbirine çok benzeyen ve kuarterner amonyum bileşikleri dahil çeşitli boyalar ve antiseptiklere direnç sağlayan *qacA* ve *qacB* genlerine (Paulsen ve ark., 1996; Wassenaar ve ark., 2015) sadece peynir ve sığır klinik mastitis örneklerinde rastlanılmıştır. Genellikle kuarterner amonyum bileşikleri ile sınırlı antiseptik direncinden sorumlu olan *qacC* (Lyon ve Skurray, 1987) ise sadece tavuk karkas örneklerinden tespit edilmiştir.

Çeşitli kaynaklardan izole edilmiş *Staphylococcus* spp.'lerde kuarterner amonyum bileşiklerine duyarlılıklarının belirlendiği literatürde, çalışılan coğrafik bölgeye göre *qac* gen yüzdelerinin büyük ölçüde değiştiği görülmektedir (Bjorland ve ark., 2003; Bischoff ve ark., 2012; Wendlant ve ark., 2013; Ebner ve ark., 2013; Monecke ve ark., 2013; Wassenaar ve ark., 2015; Damavandi ve ark., 2017; Ignak ve ark., 2017; Dovale ve ark., 2019; Cantekin ve ark., 2019). Farklı çalışmalarda *qacA/B* pozitif *Staphylococcus* spp. suşlarının daha sık bulunduğu ve bu gen ikilisinin Avrupa ve Asya kaynaklı MRSA izolatlarında yaygın olduğu bildirilmiştir (Noguchi ve ark., 2006; Wang

ve ark., 2008; Schlett ve ark., 2014). Aynı Stafilokokal plazmitler üzerinde taşınan qac ve bazı antibiyotik (eritromisin trimetoprim ve aminoglikozit) direncinden sorumlu genler arasında genetik bağlantı olduğu (Noguchi ve ark., 2005; Conceição ve ark., 2016) ve dolayısıyla antibiyotik direnç genlerinin yayılmasının sık klorheksidin kullanımına bağlı seçici bir baskı ile gerçekleşebileceği bildirilmiştir (Anthonisen ve ark., 2002; Noguchi ve ark., 2006; Sheng ve ark., 2009). Benzer şekilde sık antibiyotik kullanımının kuaterner amonyum bileşiklerine direnç yönünde bir seçici baskı oluşturabileceği düşünülmektedir.

Antiseptik dirençli bakterilerin artışı halk sağlığı için ciddi bir tehdit haline gelmektedir. Dolayısıyla direnç genlerinin dağılımını ve seçilimini anlamak klinik ve ekonomik anlamda uzun vadeli stratejilerin oluşturulması açısından önem taşımaktadır. Ülkemizde *Staphylococcus* spp. ile yapılan çalışmalarda genellikle antibiyotik direnci üzerine odaklanıldığından sunulan tez çalışmasıyla çeşitli kaynaklardan izole edilen stafilokokal suşların dezenfektan dirençlilikleri genetik düzeyde belirlenmiştir. Tez kapsamında elde edilen verilerin ülkemiz kapsamındaki antiseptik dirençliliği konusunda yapılan çalışmalara yararlı veriler sağlayarak biyosit politikası ve yeni direnç mekanizmalarının gelişmesini engelleyecek enfeksiyon kontrol programlarına katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Sonuç olarak halk sağlığına önemli katkı sağlaması açısından sosyal ve ekonomik öneme sahip antiseptik dirençliliğinin farklı izolat ve türlerde daha detaylı çalışılması önerilmektedir.

## KAYNAKLAR

- Alam, M.M., Kobayashi, N., Uehara, N. and Watanabe, N., 2003. Analysis on Distribution and Genomic Diversity of High-Level Antiseptic Resistance Genes *qacA* and *qacB* in Human Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus*. **Microbial Drug Resistance**, Vol 9(2): 109-121.
- Ammar, A.M., Attia, A.M., Abd El-Hamid, M.I., El-Shorbagy, I.M. and Abd El-Kader, S.A., 2016. Genetic basis of resistance waves among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates recovered from milk and meat products in Egypt. **Cellular and Molecular biology**, Vol 62(10): 7-15.
- Anthonisen, I.L., Sunde, M., Stenium, T.M., Sidhu, M.S. and Sørum, H., 2002. Organization of the antiseptic resistance gene *qacA* and Tn552-related beta-lactamase genes in multidrug-resistant *Staphylococcus haemolyticus* strains of animal and human origins. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Vol 46(11): 3606-3612.
- Aykan, Ş.B., Çağlar, K., Engin, E.D., Sipahi, A.B., Sultan, N. ve Yalınayak Çırak, M., 2013. Hastane Enfeksiyonu Etkeni Olan Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* Suşlarında *qacA/B* Dezenfektan Direnç Genlerinin Varlığı ve Dezenfektanlara in Vitro Duyarlılıklarının Araştırılması. **Mikrobiyoloji Bülteni**, 47(1): 1-10.
- Bischoff, M., Bauer, J., Preikschat, P., Schwaiger, K., Mölle, G. and Hölzel, C., 2012. First Detection of the Antiseptic Resistance Gene *qacA/B* in *Enterococcus faecalis*. **Microbial Drug Resistance**, 18(1): 7-12.
- Bjorland, J., Sunde, M. and Waage, S., 2001. Plasmid-Borne *smr* Gene Causes Resistance to Quaternary Ammonium Compounds in Bovine *Staphylococcus aureus*. **Journal of Clinical Microbiology**, 39(11): 3999-4004.
- Bjorland, J., Stenium, T., Sunde, M., Waage, S. and Hair, E., 2003. Novel Plasmid-Borne Gene *qacJ* Mediates Resistance o Quaternary Ammonium Compounds in Equine *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus simulans*, and *Staphylococcus intermedius*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 47(10): 3046-3052.
- Bjorland, J., Stenium, T., Kvitle, B., Waage, S., Sunde, M. and Heir, E., 2005. Widespread Distribution of Disinfectant Resistance Genes Among Staphylococci of Bovine and Caprine Origin In Norway. **Journal of Clinical Microbiology**, 43: 4363-4368.
- Boyce, J.M. and Pittet, D., 2002. Guidelines For Hand Hygiene in Health-Care Settings. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, 51(RR-16): 1-45.
- Bragg, R.R., Jansen, A., Coetzee, M., van der Westhuizen, W. and Boucher, C., 2014. Bacterial Resistance to Quaternary Ammonium Compounds (QAC) Disinfectants. Edt: Adhikari, R., Thapa, S. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, Vol 808: Infectious Diseases and Nanomedicine II. p: 1-13. **Springer**, ISBN: 978-81-322-1774-9, New Delhi.
- Cantekin, Z., Ergun, Y., Solmaz, H. ve Tek, E., 2019. Detection of Slime Genes and Antiseptic/Antibiotic-Resistance Genes In Staphylococcal Isolates From Damascus Goats With Subclinical Mastitis. **Revue de Médecine Vétérinaire**, 170:7-9, 174-178.
- Cave, R., Misra, R., Wang, S. and Mkrtychyan, H.V., 2019. Whole genome sequencing revealed new molecular characteristics in multidrug resistant staphylococci

- recovered from high frequency touched surfaces in London. **Scientific Reports**, 9(1): 9637.
- Chan, M.K.L., Koo, S.H., Quek, Q., Pang, W.S., Jiang, B., Ng, L.S.Y., Tan, S.H. and Tan, T.Y., 2018. Development of a Real-Time Assay to Determine the Frequency of Qac Genes in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Microbiological Methods**, 153:133-138.
- Chen, X., Wu, Z., Zhou, Y., Zhu, J., Li, K., Shao, H. and Wei, L., 2017. Molecular and Virulence Characteristic of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Burn Patients. **Frontiers In Laboratory Medicine**, 1:43-47.
- Conceição, T., Co, C., Lencastre, H. and Aires-de-Sousa, M., 2016. High Prevalence of Biocide Resistance Determinants in *Staphylococcus aureus* Isolates from Three African Countries. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 60(1): 678-681.
- Damavandi, M.S., Dehkordi, M.S., Denghan, A. and Heibati, F., 2017. Detection of Antiseptic Resistance Genes Among *Staphylococcus aureus* Colonising Nurses and Coagulase-Negative Staphylococci Isolated From Clinical Specimens at Teaching Hospitals in Southwest of Iran. **Jundishapur Journal of Microbiology**, 10(1): 1-7.
- Devriese, L.A. and Derycke, J., 1979. *Staphylococcus hyicus* in cattle. **Research in veterinary science**, 26: 356-358.
- Do Vale, B.C.M., Nogueira, A.G., Cidral, T.A., Lopes, M.C.S. and de Melo, M.C.N., 2019. Decreased susceptibility to chlorhexidine and distribution of qacA/B genes among coagulase-negative *Staphylococcus* clinical samples. **BMC Infectious Diseases**, 19:1999.
- Duran, N., Temiz, M., Duran, G.G., Eryilmaz, N. and Jenedi, K., 2014. Relationship between the resistance genes to quaternary ammonium compounds and antibiotic resistance in staphylococci isolated from surgical site infections. **Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research**, 20: 544-550.
- Ebner, R., Johler, S., Sihto, H.M., Stephan, R. and Zweifel, C., 2013. Microarray-Based Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolated Obtained from Chicken Carcasses. **Journal of Food Protection**, 76(8): 1471-1474.
- Espigares, E., Moreno Roldan, E., Espigares, M., Abreu, R., Castro, B., Dib, A.L. and Arias, A., 2017. Phenotypic Resistance to Disinfectants and Antibiotics in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Pigs. **Zoonoses and Public Health**, 64(4): 272-280.
- Gerba, C.P., 2015. Quaternary Ammonium Biocides: Efficacy In Application. **Applied and Environmental Microbiology**, 81(2): 464-469.
- Gillespie, M.T., Lyon, B.R. and Skurray, R.A., 1989. Gentamicin and antiseptic resistance in epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Lancet**, 1(8336): 503.
- Grinius, L.L., Dreguniene, G., Goldberg, E.B., Liao, C.H. and Projan, S.J., 1992. A Staphylococcal multidrug resistance gene product is a member of a new protein family. **Plasmid**, 27: 119-129.
- Grinius, L.L. and Goldberg, E.B., 1994. Bacterial multidrug resistance is due to a single membrane protein which functions as a drug pump. **The Journal of Biological Chemistry**, 269: 29998-30004.

- Hasanzadeh, S., Ganjloo, S., Pourmand, M.R., Mashhadi, R. and Ghazvini, K., 2020. Epidemiology of efflux pumps genes mediating resistance among *Staphylococcus aureus*; A systematic review. **Microbial Pathogenesis**, 139: 1-8.
- Hegstad, K., Langsrud, S., Lunestad, B.T., Scheie, A.A., Sunde, M. and Yazdankhah, S.P., 2010. Does the wide use of quaternary ammonium compounds enhance the selection and spread of antimicrobial resistance and thus threaten our health? **Microbial Drug Resistance**, 16: 91-104.
- Hong, S.I., Lee, Y.M., Park, K.H., Ryu, B.H., Hong, K.W., Kim, S., Bae, I.G. and Cho, O.H., 2019. Clinical and Molecular Characteristics of *qacA*- and *B*-Positive Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Causing Bloodstream Infections. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 63(4): 1-9.
- Ignak, S., Nakipoğlu, Y. and Gurler, B., 2017. Frequency of antiseptic resistance genes in clinical staphylococci and enterococci isolates in Turkey. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**, 6: 88.
- Ioannou, C.J., Hanlon, G.W. and Denyer, S.P., 2007. Action of disinfectant quaternary ammonium compounds against *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 51: 296-306.
- Kong, H., Fang, L., Jiang, R. and Tong, J., 2018. Distribution of *sasX*, *pvl*, and *qacA/B* genes in epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from East China. **Infection and Drug Resistance**, 11: 55-59.
- Kucken, D., Feucht, H.H. and Kaulfers, P.M., 2002. Association of *qacE* and *qacEΔ1* with multiple resistance to antibiotics and antiseptics in clinical isolates of Gram-negative bacteria. **FEMS Microbiology Letters**, 183: 95-98.
- Leelaporn, A., Paulsen, I.T., Tennent, J.M., Littlejohn, T.G. and Skurray, R.A., 1994. Multidrug resistance to antiseptics and disinfectants in coagulase-negative staphylococci. **Journal of Medical Microbiology**, 40(3): 214-220.
- Liu, Q., Liu, M., Wu, Q., Li, C., Zhou, T. and Ni, Y., 2009. Sensitivities to biocides and distribution of biocide resistance genes in quaternary ammonium compound tolerant *Staphylococcus aureus* isolated in a teaching hospital. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, 41(6-7): 403-409.
- Longtin, J., Seah, C., Siebert, K., McGeer, A., Simor, A., Longtin, Y., Low, D.E. and Melano, R.G., 2011. Distribution of Antiseptic Resistance Genes *qacA*, *qacB* and *smr* in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated in Toronto, Canada, from 2005 to 2009. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 55(6): 2999-3001.
- Lyon, B.R. and Skurray, R., 1987. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus*: genetic basis. **Microbiology Reviews**, 51: 88-134.
- Mayer, S., Boos, M., Beyer, A., Fluit, A.C. and Schmitz, F.J., 2001. Distribution of the antiseptic resistance genes *qacA*, *qacB* and *qacC* in 497 methicillin-resistant and -susceptible European isolates of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 47: 893-905.
- McDonnell, G. and Russell, A.D., 1999. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, 12: 147-179.
- Mirani, Z.A., Aziz, M., Khan, M.N., Lal, I., Hassan, N.U. and Khan, S.I., 2013. Biofilm formation and dispersal of *Staphylococcus aureus* under the influence of oxacillin. **Microbial Pathogenesis**, 61-62: 66-72.

- Miyajima, E., Harada, D., Nakaminami, H., Kitamura, Y., Tamura, T., Kawakubo, T. and Noguchi, N., 2019. Decreased Prevalence of *qacA*-Positive Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Hospitalized Patients in Tokyo, Japan. **Microbial Drug Resistance**, 25(7): 1032-1040.
- Miyazaki, N.H., Abreu, A.O., Marin, V.A., Rezende, C.A., Moraes, M.T. and Villas Boas, M.H., 2007. The presence of *qacA/B* gene in Brazilian methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, 102(4): 539-540.
- Monecke, S., Ruppelt, A., Wendlant, S., Schwarz, S., Slickers, P., Ehricht, R. and Cortez de Jäckel, S., 2013. Genotyping of *Staphylococcus aureus* isolates from diseased poultry. **Veterinary Microbiology**, 162(2-4): 806-812.
- Newsom, S.W., 2008. Ogston's coccus. **The Journal of Hospital Infection**, 70(4): 369-372.
- Noguchi, N., Hase, M., Kitta, M., Sasatsu, M., Deguchi, K. and Kono, M., 1999. Antiseptic susceptibility and distribution of antiseptic-resistance genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **FEMS Microbiol Letters**, 172: 247-253.
- Noguchi, N., Suwa, J., Nauri, K., Sasatsu, M., Ito, T., Hiramatsu, K. and Song, J.H., 2005. Susceptibilities to antiseptic agents and distribution of antiseptic-resistance genes *qacA/B* and *smr* of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isoalted in Asia during 1998 and 1999. **Journal of Medical Microbiology**, 54: 557-565.
- Noguchi, N., Nakaminami, H., Nishijima, S., Kurokawa, I., So, H. and Sasatsu, M., 2006. Antimicrobial agent of susceptibilities and antiseptic resistance gene distribution among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from patients with impetigo and staphylococcal scalded skin syndrome. **Journal of Clinical Microbiology**, 44(6): 2119-2125.
- Paniagua-Contreras, G.L., Monroy-Pérez, E., Vaca-Paniagua, F., Rodriguez-Moctezuma, J.R., Negrete-Abascal, E. and Vaca, S., 2014. Implementation of a novel in vitro model of infection of reconstituted human epithelium for expression of virulence genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from catheter-related infections in Mexico. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, 13: 6.
- Paulsen, I.T., Brown, M.H., Dunstan, S.J. and Skurray, R.A., 1995. Molecular characterization of the staphylococcal multidrug resistance export protein QacC. **Journal of Bacteriology**, 177(10): 2827-2833.
- Paulsen, I.T., Brown, M.H., Littlejohn, T.G., Mitcheel, B.A. and Skurray, R.A., 1996. Multidrug resistance proteins QacA and QacB from *Staphylococcus aureus*: membrane topology and identification of residues involved in substrate specificity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, 93(8): 3630-3635.
- Peters, K.M., Sharbeen, G., Theis, T., Skurray, R.A. and Brown, M.H., 2009. Biochemical characterization of the multidrug regulator QacR distinguishes residues that are crucial to multidrug binding and induction of *qacA* transcription. **Biochemistry**, 48: 9794-9800.
- Ribič, U., Klančnik, A. and Jeršek, B., 2017. Characterization of *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from industrial cleanrooms under regular routine disinfection. **Journal of Applied Microbiology**, 122(5): 1186-1196.

- Russell, A.D., Tattawasart, U., Maillard, J.Y. and Furr, J.R., 1998. Possible link between bacterial resistance and use of antibiotics and biocides. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 42(8): 2151.
- Sambrook, J. and Russell, D., 2001. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3<sup>rd</sup> edn. p: 2028. **Cold Spring Harbour Laboratory**, ISBN: 978-087969577-4, New York.
- Schleifer, K.H. and Bell, J.A., 2009. *Staphylococcus*. Edt: Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.H., Whitman, W. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume 3: The Firmicutes. P: 392-421. **Springer**, ISBN: 978-0-387-68489-5, New York.
- Schlett, C.D., Millar, E.V., Crawford, K.B., Cui, T., Lanier, J.B., Tribble, D.R. and Ellis, M.W., 2014. Prevalence of chlorhexidine-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* following prolonged exposure. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 58(8): 4404-4410.
- Seier-Petersen, M.A., Nielsen, L.N., Ingmer, H., Aarestrup, F.M. and Agersø, Y., 2015. Biocide Susceptibility of *Staphylococcus aureus* CC398 and CC30 Isolates From Pigs and Identification of the Biocide Resistance Genes, *qacG* and *qacC*. **Microbial Drug Resistance**, 21(5): 527-536.
- Sheng, W.H., Wang, J.T., Lauderdale, T.L., Weng, C.M., Chen, D. and Chang, S.C., 2009. Epidemiology and susceptibilities of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Taiwan: emphasis on chlorhexidine susceptibility. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, 63(3): 309-313.
- Sidhu, M.S., Heir, E., Leegaard, T., Wiger, K. and Holck, A., 2002. Frequency of Disinfectant Resistance Genes and Genetic Linkage with Beta-Lactamase Transposon Tn552 Among Clinical Staphylococci. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 46(9): 2797-2803.
- Slifierz, M.J., Friendship, R.M. and Weese, J.S., 2015. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Commercial Swine Herds is Associated With Disinfectant and Zinc Usage. **Applied and Environmental Microbiology**, 81(8): 2690-2695.
- Taheri, N., Ardebili, A., Amouzandeh-Nobaveh, A. and Ghaznavi-Rad, E., 2016. Frequency of Antiseptic Resistance Among *Staphylococcus aureus* and Coagulase-Negative Staphylococci Isolated From a Universitt Hospital in Central Iran. **Oman Medical Journal**, 31(6): 426-432.
- Turchi, B., Bertelloni, F., Marzoli, F., Gerri, D., Tola, S., Azara, E., Longheu, C.M., Tassi, R., Schiavo, M., Cilia, G. and Fratini, F., 2020. Coagulase negative staphylococci from ovine milk: Genotyping and phenotypic characterization of susceptibility to antibiotics, disinfectants and biofilm production. **Small Ruminant Research**, 183: 1-7
- Vali, L., Davies, S.E., Lai, L.L.G., Dave, J. and Amyes, S.G.B., 2008. Frequency of biocide resistance genes, antibiotic resistance and the effect of chlorhexidine exposure on clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 61(3): 524-532.
- Vali, L., Dashti, A.A., Mathew, F. and Udo, E.E., 2017. Characterization of Heterogeneous MRSA and MSSA With Reduced Susceptibility to Chlorhexidine in Kuwaiti Hospitals. **Frontiers In Microology**, 8(1359):1-2.
- Wang, J.T., Sheng, W.H., Wang, J.L., Chen, D., Chen, M.L., Chen, Y.C. and Changs, S.C., 2008. Longitudinal analysis of chlorhexidine susceptibilities of



- nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates at a teaching hospital in Tawian. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 62(3): 514-517.
- Wassenaar, T.M., Ussery, D., Nielsen, L.N. and Ingmer, H., 2015. Review and Phylogenetic Analysis of *qac* Genes That Reduce Susceptibility to Quaternary Ammonium Compounds In *Staphylococcus* Species. **European Journal of Microbiology and Immunology**, 5(1): 44-61.
- Weber, D.J., Rutala, W.A. and Seibert-Bennet, E.E., 2007. Outbreaks associated with contaminated antiseptics and disinfectants. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 51(12): 4217-4224.
- Wendlant, S., Kadlec, K., Fessler, A.T., Mevius, D., van Essen-Zandbergen, A., Hengeveld, P.D., Bosch, T., Schouls, L., Schwarz, S. and van Duijkeren, E., 2013. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates on broiler farms. **Veterinary Microbiology**, 167(3-4): 632-637.
- White, D.G. and McDermott, P.F., 2001. Biocides, drug resistance and microbial evolution. **Current Opinion in Microbiology**, 4(3): 313-317.
- Wong, T.Z., Zhang, M., O'Donoghue, M. and Boost, M., 2013. Presence of antiseptic resistance genes in porcine methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Veterinary Microbiology** 162(2-4): 977-979.
- YarMohammadi, M.A., Eslami, M. and Amirmozafari, N., 2019. Investigating the presence of *qacA/B* and *mecA* genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from metro stations in Tehran city of Iran. **Reviews in Medical Microbiology**, 30: 212-216.
- Zhang, M., O'Donoghue, M.M., Ito, T., Hiramatsu, K. and Boost, M.V., 2011. Prevalence of antiseptic-resistance genes in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci colonising nurses and the general population in Hong Kong. **Journal of Hospital Infection**, 78:113-117.
- Zmantar, T., Koudhi, B., Miladi, H. and Bakhrouf, A., 2011. Detection of macrolide and disinfectant resistance genes in clinical *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. **BMC Research Notes**, 4:453.

## ÖZGEÇMİŞ

Yazar, 1992 yılında Hatay'da doğdu. İlkokul, Ortaokul ve Lise öğrenimini Hatay'da tamamladı. Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2015 yılında mezun oldu. Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında 2017 yılında Yüksek Lisans öğrenimine başladı.

