

Hemşirelik Öğrencileri, Üniversite Öğrencileri ve Hastane Yüzeylerinden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarında *eta*, *etb* ve *etd* Eksfoliyatif Toksin Genlerinin Araştırılması

Hanifi KÖRKOCA^{1*} (Orcid ID: 0000-0002-3306-8824), Sümeyra SAVAŞ² (Orcid ID: 0000-0001-5057-9178), Alper KARAGÖZ³ (Orcid ID: 0000-0002-8178-223X), Yusuf ALAN⁴ (Orcid ID: 0000-0003-0007-0212), Güzel Nur YILDIZ⁵ (Orcid ID: 0000-0003-1626-4089)

¹Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Niğde

²Bandırma Onyedi Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Bandırma

³Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Bilecik

⁴Bitlis Eren Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Bitlis

⁵Muş Alparslan Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Muş

*Sorumlu yazar (Corresponding author): hkorkoca@hotmail.com

Geliş Tarihi (Received): 06.11.2022

Kabul Tarihi (Accepted): 08.12.2022

Özet

Bu çalışma ile hemşirelik öğrencileri, üniversite öğrencileri ve hastane yüzeylerinden izole edilen *S. aureus* suşlarında eksfoliyatif toksin genlerinin (*eta*, *etb*, *etd*) varlığını araştırmak amaçlanmıştır. Bu çalışmada 20 hemşirelik öğrencisi, 17 üniversite öğrencisi ve 13 hastane yüzeylerinden izole edilmiş toplam 50 *S. aureus* izolatı kullanıldı. Eksfoliyatif toksin (ET) genlerinin varlığı (*eta*, *etb* ve *etd*) PCR ile araştırıldı. ET geni tespit edilen izolatların klonal ilişkisini araştırmak için PFGE kullanıldı. Çalışmamızda *etd* geni %6 (3/50) oranında tespit edilirken, *eta* ve *etb* genleri tespit edilemedi. *etd* geni tespit edilen izolatların ikisi hemşirelik öğrencisi, biri üniversite öğrencisi izolatı idi. Hastane yüzeyi izolatlarından hiçbirinde ET geni tespit edilemedi. *etd* geni tespit edilen izolatların klonal ilişkili olduğu belirlendi. Eksfoliyatif gen taşıyan *S. aureus* suşlarının hem toplum hem de sağlık hizmetleriyle ilişkili enfeksiyonlara sebep olması nedeniyle böyle suşlardan kaynaklanabilecek enfeksiyonların önlenmesi açısından kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Hemşirelik öğrencisi, Üniversite öğrencisi, Hastane yüzeyi, *S. aureus*, Eksfoliyatif toksin geni

Investigation of *eta*, *etb* and *etd* Exfoliative Toxin Genes in *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Nursing Students, University Students and Hospital Surfaces

Abstract

The aim of this study was to investigate the presence of exfoliative toxin genes (*eta*, *etb*, *etd*) in *S. aureus* strains isolated from nursing students, university students and hospital surfaces. A total of 50 *S. aureus* strains isolated from 20 nursing students, 17 university students and 13 hospital surfaces were used in this study. The presence of exfoliative toxin (ET) genes (*eta*, *etb* and *etd*) was investigated by PCR. PFGE was used to investigate the clonal relationship of ET gene detected isolates. While *etd* gene was detected in 6% (3/50) in our study, *eta* and *etb* genes could not be detected. Two of the isolates with the *etd* gene were nursing students and one was a university student isolate. No ET gene was detected in any of the hospital surface isolates. It was determined that the isolates with *etd* gene detected were clonal related. Since *S. aureus* strains carrying exfoliative genes cause both community and healthcare-associated infections, comprehensive studies are needed to prevent infections that may arise from such strains.

Keywords: Nursing student, university student, hospital surface, *S. aureus*, exfoliative toxin gene

GİRİŞ

Staphylococcus aureus, enfeksiyonların şiddetine katkıda bulunan bir dizi virülans faktörleri üretme yeteneğine sahip fırsatçı patojenlerdir. Bu faktörlerden eksofoliyatif toksinler lokalize ve generalize epidermal enfeksiyonlardan direkt sorumludurlar. (Mahmoudi ve ark., 2020) Eksofoliyatif toksin A (ETA) yalnızca yüzeysel epidermis de hücre adezyon kaybına yol açar. Hücre-hücre yapışmasına aracılık eden bir dezmozomal kaderin olan desmoglein 1, eksofoliyatif toksin A'nın hedefi olabilir. (Amagai ve ark., 2000) Eksofoliyatif toksin B (ETB) de eksofoliyatif toksin A gibi deride yangısal bir cevaba ve epidermal nekroza neden olmadan granüler tabaka boyunca intraepitelial ayrılmalara neden olur. Safılaştırılmış rekombine eksofoliyatif toksin D (ETD) yenidoğan farelerde derinin eksofoliyasyonunu indükler ve ETA'nın sebep olduğu gibi özellikle desmoglein 1'i parçalar. (Yamaguchi ve ark., 2002) *S. aureus* tarafından üretilen eksofoliyatif toksinleri kodlayan genlerden *eta* geni fajda, *etb* geni plazmitte, *etd* geni ise patojenite adasında yer almaktadır. (Abimanyu ve ark., 2013) ETA ve ETB çoğunlukla çocuklarda olmak üzere bullöz impetigo gibi lokalize epidermal enfeksiyonlardan ve Staphylococcal Scalded Skin Syndrome (SSSS) gibi generalize enfeksiyonlardan sorumludur. ETD ise bullöz impetigo ve SSSS enfeksiyonlarının dışındaki daha geniş bakteriyel enfeksiyon spektrumuna neden olabilirler. (Piechowicz ve ark., 2011) Aralarında *S. aureus*'unda bulunduğu nazokomiyal patojenler hastane ortamında canlı kalabilmekte ve çevresel bulaşmanın rol oynadığı salgınlara neden olabilmektedirler. (Weber ve ark. 2013) Toplum kökenli yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olan *S. aureus* suşlarının hastanelerden

topluma bulaşabileceği belirtilmektedir. (Santosaningsih ve ark., 2018) Ayrıca toplumdan hastane ortamlarına da bulaşın olabileceği bildirilmektedir. (Huang ve ark., 2006) Özellikle kapalı toplumlarda aralarında eksofoliyatif toksinin de yer aldığı ekzotoksinleri taşıyan asemptomatik nazal *S. aureus* taşıyıcılığının belirlenmesinin, bulaşma zincirini kırmak ve toplum kökenli enfeksiyonları önlemek açısından etkilerinin belirlenmesine yönelik araştırmalara ihtiyaç olduğu bildirilmektedir. Eğitimleri süresince eğitim araştırma hastanelerinde hasta bakımına katılmaları nedeniyle hastane enfeksiyonları salgınına neden olabilme ihtimalleri olan hemşirelik öğrencileri, stafilocokkal deri enfeksiyonları açısından potansiyel öneme sahiptirler. (Lam ve ark., 2020) Bu çalışma ile hemşirelik öğrencileri ve yükseköğrenim öğrencilerinin burun izolatları ile hastane yüzeylerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarında eksofoliyatif genlerin varlığını araştırmak amaçlanmıştır.

METERYAL ve YÖNTEM

Bakteriyel Suşlar

Çalışmamızda daha önce izole edilmiş 50 *S. aureus* izolatı kullanıldı. (Ömeroğlu, 2013; Korkoca ve ark., 2013) Bu izolatlardan 20'si hemşirelik öğrencisi izolatı (nazal taşıyıcı 15 erkek ve 5 kadın öğrenciden; öğrencilerin yaş ortalaması: 21.9 ± 2.26 yıl), 17'si üniversite öğrencisi izolatı (nazal taşıyıcı 11 erkek, 6 kadın öğrenciden izole edilmiştir; öğrencilerin yaş ortalaması 20.88 ± 2.52 yıl) ve 13'ü hastane yüzeyi izolatı idi. Hemşirelik öğrencileri izolatları, eğitimleri boyunca hastanede hasta bakımlarına katılan hemşirelik öğrencilerinden izole edilmiştir. Hastane yüzey izolatları hemşirelik öğrencilerinin hasta bakımlarına katıldıkları aynı hastaneden izole edilmişlerdir. Üniversite öğrencileri

izolatları ise hastane ortamına maruz kalmayan üniversite öğrencilerinden izole edilmiştir. Çalışmada kullanılan suşlardan yalnızca dördü Methicillin Resistant *S. aureus* (MRSA, tamamı hastane yüzeyi izolatları) idi.

Eksfoliyatif Genlerin Amplifikasyonu ve Dizi Analizi

S. aureus suşlarının DNA'sı, GF-1 Bakteriyel DNA ekstraksiyon kiti (Vivantis Sdn Bhd, Malaysia) kullanılarak üretici firmanın tavsiyelerine göre ekstrakte edildi. İzolatlarda eksfoliyatif toksin genlerinin (*eta*, *etb* ve *etd*) tespiti kısaca; PCR karışımı (25 µL); 2.5 µL bakteri DNA'sı, 1 µL deoxy-nucleotide triphosphate (10 mM dNTP), 2.5 µL magnezyum klorid (25 mM MgCl₂), 0.5 µL primer (0.6 µM her bir primer için), 2.5 µL 10X PCR tampon solüsyonu (500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl, pH 9.0), 0.25 µL ünite Taq DNA polimeraz, son hacim distile su ile 25µL'ye tamamlandı. Hedeflenen her bir geni tespit etmek amacıyla PCR karışımı aşağıda belirtilen siklulara maruz bırakıldı. Bu amaçla termal siklus parametreleri; 94 °C'de 5 dakika ve daha sonra 30 siklus olacak şekilde 94°C'de 2 dakika (denaturasyon), 55 °C'de 2 dakika (bağlanma), 72 °C'de 1 dakika (uzama) ve son olarak 72°C'de 5 dakika. PCR ürünleri kullanılmaya kadar +4°C'de saklandı. Her bir PCR ürünü, hedeflenen genin var olup olmadığını tespit amacıyla agaroz jel kuyucuklarına yüklendi. TBE tamponunda %1 agaroz jelde elektroforez işlemi (80 V, 60 dakika) gerçekleştirildi. Daha sonra jel etidyum bromidle boyandı ve UV ışık altında izlenerek analiz edildi (Şekil 1). Bu çalışmada elde edilen jel görüntüleri Çizelge 1'de verilen baz çiftlerinin uzunluğu ile karşılaştırıldı. İki suş (St55-St200) PFGE ile identik DNA profiline sahip olduğundan dolayı DNA dizi analizi, *etd* geni taşıyan üç suştan ikisi için (St200-St106) için gerçekleştirildi.

Sekans için PCR amplikonları Roche High Pure PCR Product Purification Kit (Roche, Mannheim, Germany) kullanılarak, üreticinin protokolü doğrultusunda saflaştırıldı. Sekanslama reaksiyonları ABI Prism 310 Genetic Analyser (Applied Biosystems, California USA) cihazında PRISM® BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, California USA) kullanılarak gerçekleştirildi. *etd* gen dizileri için BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) kullanılarak nükleotit sekans homolojisi araştırıldı. Diziler hizalandı ve EMBL_EBI web sunucusundaki (<http://www.ebi.ac.uk/clustalw>) CLUSTL W programı ile daha önce bildirilen *S. aureus* DK-B3 suşuna ait nükleotit dizisi ile karşılaştırıldı (BLAST'ta erişim numarası KC609427.1). İzolatlarımıza ait *etd* geni ile tip suşa ait nükleotit dizileri arasındaki benzerlik yüzdesi MEGA4 programı kullanılarak hesaplandı.

Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)

etd geni taşıdığı tespit edilen üç suş arasındaki klonal ilişki PFGE ile araştırıldı. Makrorestriksiyon paternleri elde etmek için genomik DNA, *Sma*I (30U) ile kesildi. CHEF-DR III sisteminde (Bio-Rad Laboratories, Nazareth, Belgium) elektroforez koşulları; 6 V/cm akım 14 °C'de 20 saat uygulandı. Başlangıç vuruş süresi 5.3 saniye ve bitiş vuruş süresi 34.9 saniye olarak uygulandı. (Mulvey ve ark., 2001) Elde edilen DNA paternlerinin klonal ilişki yönünden değerlendirilmesi Tenover ve arkadaşlarının kriterlerine göre yapıldı. (Tenover ve ark., 1995) İzolasyon kaynaklarına göre eksfoliyatif gen tespit oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığı Ki-kare (χ^2) testi ile belirlendi; $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Suşların tamamında *eta* ve *etb* genleri tespit edilmedi. *etd* geni ise yalnızca üç izolatta (%6;3/50) tespit edildi. *etd* tespit edilen üç izolatta Metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) idi. *etd* geni tespit edilen suşlardan biri

(St55) 4. sınıf hemşirelik öğrencisi diğeri ise (St106) 1. sınıf hemşirelik öğrencisi izolatu idi. *etd* geni tespit edilen bir diğeri suş ise aynı üniversitenin Tarih Bölümünde okuyan üniversite öğrencisi izolatu idi (St200).

Çizelge 1. Eksfoliyatif toksin genlerini tespit etmek için kullanılan polimeraz zincir reaksiyonu primerleri ve eksfoliyatif toksin genleri için beklenen PCR ürünlerinin büyüklükleri.

Hedef gen	Primer	Oligonükleotit Dizisi (5'→3')	Amplifikon uzunluğu (bp)	Referanslar
<i>eta</i>	ETA-1 ETA-2	CTA GTG CAT TTG TTA TTC AA TGC ATT GAC ACC ATA GTA CT	119	Lee ve ark. (1987)
<i>etb</i>	ETB-1 ETB-2	ACG GCT ATA TAC ATT CAA TT TCC ATC GAT AAT ATA CCT AA	200	Lee ve ark. (1987)
<i>etd</i>	ETD-1 ETD-2	AAC TAT CAT GTA TCA AGG CAG AAT TTC CCG ACT CAG	376	Yamaguchi ve ark. (2002)

etd geni hemşirelik öğrencilerinde (2/20) %10 oranında tespit edildi. Aynı gen diğeri üniversite öğrencilerinde (1/17) %5,9 oranında tespit edildi. Hemşirelik

ve üniversite öğrencilerine ait suşlar arasında *etd* geni varlığı yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (p değeri 1).

Çizelge 2. Çalışmada kullanılan *S. aureus* izolatların eksfoliyatif gen profilleri ve eksfoliyatif gen tespit edilen üç izolatuın PFGE tipleri. MRSA: Methicillin Resistant *S. aureus*, MSSA: Metisiline duyarlı *S. aureus*, A: Aynı klona ait suşlar, A1: Klonal ilişkili (iki bant farkı-yakın ilişki) suş. * yalnızca *etd* geni tespit edilen üç suş. ** PFGE ile tiplendirilmedi.

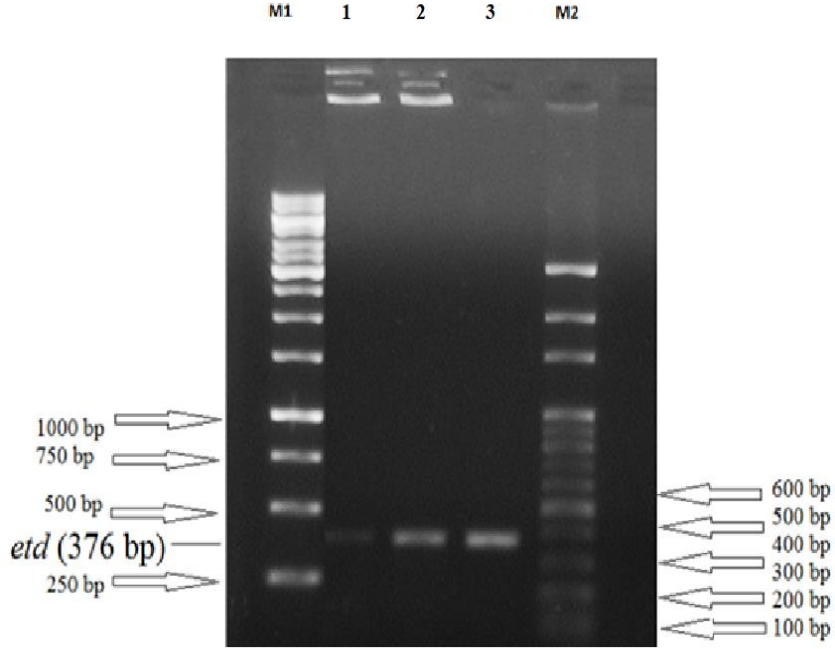
Isolation Source of <i>S. aureus</i> strains (n)	MRSA/MSSA (n,%)	<i>eta</i> (%)	<i>etb</i> (%)	<i>etd</i> (%)	Exfoliative Toxin Gene Profile (n/n, %)	PFGE Type* (strain)
Nursing Student (20)	MSSA (20, 100%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (10%)	<i>eta/etb/etd</i> ⁺ (2/20, 10%) <i>eta/etb/etd</i> ⁻ (18/20, 90%)	A (St55), A1 (St106)
University Student (17)	MSSA (17, 100%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5,9%)	<i>eta/etb/etd</i> ⁺ (1/17, %5,9) <i>eta/etb/etd</i> ⁻ (16/17, 94,1%)	A (St200)
Hospital Surfaces (13)	MRSA (4, 30,8%), MSSA (9, 69,2%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	<i>eta/etb/etd</i> ⁻ (13/13, 100%)	**

S. aureus DK-B3 suşu nükleotit dizisi ile bizim iki suşa (St200 ve St106) ait *etd*

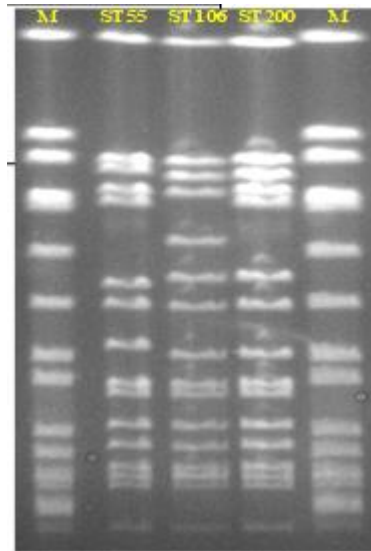
geni nükleotit dizi benzerliği sırası ile %87 ve %88 olarak belirlendi.

İzolatlardan ikisinin PFGE paterninin identik olduğu (St55 ve St200), identik iki izolatla bant farklılığı iki olan izolatın

(St106) ise klonal ilişkili olduğu tespit edildi (Şekil 2).



Şekil 1. Nazal *S. aureus* suşlarında PCR ile saptanan *etd* genleri. 1: üniversite öğrencisi izolatında tespit edilen *etd* geni, 2-3: hemşirelik öğrencilerine ait izolatlarda tespit edilen *etd* genleri. M: sol baştaki 1kbç (Thermo Scientific), sağ baştaki 100 bç (Vivantis) molekül ağırlık standardı.



Şekil 2. *etd* geni tespit edilen *S. aureus* izolatlarının makrorestriksiyon DNA paternleri. St55 ve St106: hemşirelik öğrencisi suşları, St200: kontrol grubu suşu. M: moleküler ağırlık standardı.

TARTIŞMA

Ülkemizde hemşirelik öğrencileri, üniversite öğrencileri ve hastane yüzeylerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarında eksfoliyatif gen varlığı ilk defa çalışmamızla araştırılmıştır. Dünyada eksfoliyatif toksin serotiplerinin prevalansı önemli farklılıklar göstermektedir (Ladhani ve ark.; 1999). Nitekim çalışmamızda da %6 oranında eksfoliyatif toksin geni (yalnızca *etd* geni) tespit edilmiş olup bu oran diğer çalışmaların oranlarıyla farklı bulunmuştur (Lim ve ark., 2012; Lozano ve ark., 2011; Schaumburg ve ark., 2011; Netsvyetayeva ve ark., 2014). Çalışmamızda dört adet MRSA izolatında ET genleri tespit edilmemiş ancak 46 Methicillin Susceptible *S. aureus* (MSSA) izolatında yalnızca 3 *etd* geni tespit edilmiştir. Çalışmamızda gen varlığı ele alınırken MRSA ve MSSA ayrımı yapılmamıştır nitekim Netsvyetayeva ve ark., MRSA ve MSSA izolatları arasında eksfoliyatif toksin genleri varlığı açısından önemli bir fark olmadığını tespit etmişlerdir (Netsvyetayeva ve ark., 2014). Hem toplum hem de hastane ortamlarında enfeksiyonlara neden olabilen *S. aureus*'un önemli kaynağı burun taşıyıcılığıdır (Abimanyu ve ark., 2013; Collery ve ark., 2008; Tasneem ve ark., 2022). Nazal *S. aureus* taşıyıcılığı stafilokokkal deri enfeksiyonları için önemli bir risk faktörüdür (Toshkova ve ark., 2001). Taşıyıcılar etkeni kişiler arasında bulaştırabilmektedir (Krishnamurthy ve ark., 2014). Nitekim eksfoliyatif toksin üreten toplum kökenli *S. aureus* izolatlarının deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olabildikleri tespit edilmiştir (Abimanyu ve ark., 2013). Bu bağlamda Lamanna ve ark., yenidoğanlarda eksfoliyatif toksin A üreten toplumdan kazanılmış *S. aureus* kaynaklı SSSS salgınını bildirmişlerdir (Lamanna ve ark., 2017). Çalışmamızda

sağlıklı görünen üniversite öğrencilerinin nazal izolatlarında *eta* ve *etb* genleri tespit edilmemiştir bununla birlikte %5,9 oranında yalnızca *etd* geni tespit edilmiştir. Bu bulgu Lim ve arkadaşlarının üniversite öğrencilerinin nazal izolatlarında yalnızca *etd* geni tespiti yönündeki bulgusuyla uyumlu bulunmuştur (Lim ve ark., 2012). Üniversite öğrencileri ile ilgili olarak bir başka çalışmada Champion ve ark., nazal izolatlarda çalışmamızın bulgusundan farklı olarak hem *eta* ve hem de *etb* genlerini %23,5 oranında tespit etmişlerdir (Champion ve ark., 2014). Yine toplum kökenli diğer nazal izolatlarda birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda Abimanyu ve ark., (2013) hastane ortamıyla ilişkili olmayan nazal taşıyıcılık tespit edilen sağlıklı kişilerden izole edilen *S. aureus* suşlarında %3,4 oranında *eta*, %2,5 oranında *etb* geni tespit ettiklerini ancak *etd* geni tespit etmediklerini, Lozano ve ark., (2011) *etb* ve *etd* genlerini tespit etmediklerini, *eta* genini ise %3,8 oranında tespit ettiklerini, Netsvyetayeva ve ark. (2014) ise *eta* genini %4, *etb* genini %10 ve *etd* genini %25 oranında tespit ettiklerini, Schaumburg ve ark., (2011) ise %11,7 oranında *etd* geni tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Sağlık personeli eksfoliyatif toksin üreten *S. aureus* suşlarına bağlı salgınlara kaynak teşkil edebilmektedir (El Helali ve ark., 2005). Nitekim Bell ve Fenton bir çocuk doktoruna bağlı yeni doğanlarda SSSS salgını bildirmişlerdir (Bell ve Fenton, 1993). Bununla birlikte El-Helali ve ark., yenidoğan ünitesinde yardımcı hemşireye bağlı SSSS salgını bildirmişlerdir (El Helali ve ark., 2005). Eğitimleri boyunca eğitim araştırma hastanelerinde hasta bakımına katılan hemşirelik öğrencileri kontamine olabilirler ve hastane ortamında kontaminasyona neden olabilirler. Bu

nedenle hemşirelik öğrencilerinin nasal florası nazokomiyal enfeksiyonların gelişmesinde önemlidir (Akpınar ve ark., 2009). Çalışmamızda hemşirelik öğrencileri nazal *S. aureus* izolatlarında *etd* gen varlığı %10 oranında tespit edilmiştir. Dolayısıyla bu oran, hemşirelik öğrencilerinin hasta bakımları esnasında eksfoliyatif gen taşıyan etkenleri bulaştırma açısından potansiyel öneme sahip olduklarını göstermektedir. Nitekim Fascia ve ark., hemşirelik öğrencileri tarafından verilen bakımla bağlantılı MRSA hastane salgını riskini bildirmişlerdir (Fascia ve ark., 2003). Çalışmamızda hastane ortamına maruz kalmayan üniversite öğrencileri ve hastane ortamına maruz kalan hemşirelik öğrencilerinden izole edilen *S. aureus* suşlarında *etd* gen varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Çalışmamızın bulgusuyla uyumlu olarak Piechowicz ve ark., klinik öncesi ve klinik dönemdeki tıp öğrencilerinde aralarında eksfoliyatif genlerinin de bulunduğu önemli toksin gen varlığını hastane ortamına maruz kalmanın artırmadığını, eksfoliyatif gen varlığı açısından klinik öncesi ve klinik öğrenciler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir (Piechowicz ve ark., 2011). Aynı şekilde Krishnamurthy ve ark., hastane ortamına maruz kalan hemşirelik öğrencileri ve hastane ortamına maruz kalmayan hemşirelik öğrencilerden izole edilen MRSA izolatlarında ekzotoksin varlığı yönünden bir farklılık tespit etmemişlerdir (Krishnamurthy ve ark., 2014). Enfeksiyon kontrol önlemlerine yetersiz uyum nedeniyle hastane, *S. aureus*'un yaygın kaynaklarından biri olmaya devam etmektedir (Ladhani ve ark., 1999). Hastane yüzeylerinin ETA üreten *S. aureus* salgınlarına kaynak teşkil edebilmektedir. Kaplan ve ark.,

ETA üreten epidemik *S. aureus* suşlarının hastane yüzeylerinde yaygın olduğunu bildirmişlerdir (Kaplan ve ark., 1986). Ayrıca Hsu ve ark., Tayvan'da bir şehirde, hastane ortamından izole edilen *S. aureus* izolatlarında *eta* geni %100 oranında tespit ettiklerini, *etb* genini ise tespit etmediklerini, aynı araştırmacılar bir başka şehirde hastane ortamından izole edilen *S. aureus* izolatlarında ise *eta* genini yine %100 oranında tespit ettiklerini *etb* genini ise %25 oranında tespit ettiklerini bildirmişlerdir. (Hsu ve ark., 2021) Bu bulguların aksine Neylon O ve ark., bir yeni doğan ünitesinde meydana gelen SSSS salgınında hastane odalarında *S. aureus* yönünden yapılan çevresel taramada *S. aureus* tespit edememişlerdir. (Neylon ve ark., 2010) Çalışmamızda hastane yüzeyi izolatlarında eksfoliyatif gen varlığı tespit edilmedi. Yapılan literatür taramalarında hastane yüzeylerinden farklı oranlarda eksfoliyatif gen varlığı tespit edildiği, bu izolatların salgınlara kaynak teşkil edebildiği bu bulguların aksine bir başka çalışmada salgın durumunda etkenin hastane yüzeylerinden izole edilemediği bildirilmektedir. (Ladhani ve ark., 1999; Kaplan ve ark., 1986; Hsu ve ark., 2021; Neylon ve ark., 2010) Dolayısıyla hastane yüzeylerinin muhtemel eksfoliyatif gen taşıyan *S. aureus* enfeksiyonu salgınlarına kaynak teşkil edeceği tartışmalıdır. Nitekim başka çalışmalarda böyle salgınlara sağlık personelinin ve hemşirelik öğrencilerinin kaynak teşkil edebileceği bildirilmiştir (El Helali ve ark., 2005; Bell ve Fenton, 1993; Fascia ve ark., 2003). Hem toplumda hem de hastane ortamlarında dolaşan klonların virülans gen profillerinin ve moleküler karakterizasyonunun daha iyi anlaşılması, stafilokokkal enfeksiyonları için daha etkili yönetim planları ve

kontrol stratejileri geliştirilmesine yardımcı olacağı tahmin edilmektedir. (Lamanna ve ark., 2017; Hsu ve ark., 2021; Khairalla ve ark., 2017) Çalışmamızda *S. aureus* izolatlarının eksfoliyatif toksin gen profilleri (47 suş - *eta⁻/etb⁻/etd⁻*; 3 suş - *eta⁻/etb⁻/etd⁺*) ile yalnızca *etd* geni taşıyan üç suşun Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) ile klonal ilişkisi ortaya konulmuştur (Çizelge 2). *etd* geni taşıyan *S. aureus* suşları, çeşitli enfeksiyonlarda enfeksiyonu şiddetlendirmek için dokuya saldırma ve bakterinin yayılmasına yardım ederek epitel bariyeri tahrip etme gibi daha geniş patojenik rol oynamaktadır. (Yamaguchi ve ark., 2002) Ayrıca *etd* geni taşıyan *S. aureus* suşları ülke içi (Yamasaki ve ark., 2006) ve ülkeler arası (Yamaguchi ve ark., 2002; Paul ve ark., 2014) klonal yayılma gösterebilmektedir. Nitekim çalışmamızda epidemiyolojik olarak ilişkisiz *etd* geni taşıyan izolatların klonal ilişkili olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla *etd* geni taşıyan *S. aureus* suşlarına bağlı enfeksiyonların epidemiyolojisinin aydınlatılmasına yönelik kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır. Hemşirelik öğrencilerinin uygulama yerlerinde enfeksiyon kontrol

deneyimleri ve bu deneyimlerinin etkilerinin nasıl olduğu hakkında çok az makale mevcuttur. (Ward, 2010) Bununla birlikte hasta güvenliği risklerini ve potansiyel tehlikeleri tanımlamada hemşirelik öğrencilerinin rolüne az önem verilmektedir. (Geller ve ark., 2010) Bu çalışma ile hemşirelik öğrencilerinden izole edilen nazal *S. aureus* suşlarında, eksfoliyatif toksinleri kodlayan genlerden *etd* geninin tespit edilmesi, bu öğrencilerin eğitimlerinde konunun öneminin üzerinde durulması, ayrıca eğitimcilerin gerekli tedbirlerin uygulanması noktasında titiz olmaları gereğini ortaya koymuştur. Böylelikle özellikle yenidoğan servisi başta olmak üzere bu öğrencilerden kaynaklanabilecek olası enfeksiyon riski en aza indirilebilecektir.

SONUÇ

Sonuç olarak; eksfoliyatif gen taşıyan *S. aureus* suşlarının hem toplum hem de sağlık hizmetleriyle ilişkili enfeksiyonlara sebep olması nedeniyle böyle suşlardan kaynaklanabilecek enfeksiyonların önlenmesi açısından özellikle hemşirelik öğrencilerinde olmak üzere kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abimanyu, N., Murugesan, S., Krishnan, P. 2013. High prevalence of exfoliative toxins among carrier isolates of *Staphylococcus aureus* from healthy individuals from various communities in Chennai, South India. *Indian journal of microbiology*, 53(3): 288-290.
- Akpınar, R.B., Celebioglu, A., Uslu, H., Uyanık, H.M. 2009. An evaluation of the hand and nasal flora of Turkish nursing students after clinical practice. *Journal of Clinical Nursing*, 18(3): 426-430.
- Amagai, M., Matsuyoshi, N., Wang, Z., Andl, C., Stanley, J. 2000. Toxin in bullous impetigo and staphylococcal scalded-skin syndrome targets desmoglein 1. *Nature medicine*, 6(11): 1275-1277.
- Bell, F., Fenton, P. 1993. Early hospital discharge and cross-infection. *The Lancet*, 342: 120.

- Champion, A.E., Goodwin, T.A., Brolinson, P.G., Werre, S. R., Prater, M.R., Inzana, T.J. 2014. Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from healthy university student athletes. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 13(1): 1-11.
- Collery, M.M., Smyth, D.S., Twohig, J.M., Shore, A.C., Coleman, D.C., Smyth, C.J. 2008. Molecular typing of nasal carriage isolates of *Staphylococcus aureus* from an Irish university student population based on toxin gene PCR, agr locus types and multiple locus, variable number tandem repeat analysis. *Journal of Medical Microbiology*, 57(3): 348-358.
- El Helali, N., Carbonne, A., Naas, T., Kerneis, S., Fresco, O., Giovangrandi, Y., . . . Astagneau, P. 2005. Nosocomial outbreak of staphylococcal scalded skin syndrome in neonates: epidemiological investigation and control. *Journal of Hospital Infection*, 61(2): 130-138.
- Fascia, P., Martin, I., Mallaval, F., Grattard, F., Pozzetto, B., Lucht, F., Berthelot, P. 2003. Possible implication of student nurses in the transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* during a nosocomial outbreak. *Pathologie-biologie*, 51(8-9): 479-482.
- Geller, N.F., Bakken, S., Currie, L.M., Schnall, R., Larson, E.L. 2010. Infection control hazards and near misses reported by nursing students. *American journal of infection control*, 38(10): 811-816.
- Hsu, B.M., Chen, J.S., Lin, I.C., Hsu, G.J., Koner, S., Hussain, B., . . . Tsai, H.C. 2021. Molecular and Anti-Microbial Resistance (AMR) Profiling of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from Hospital and Long-Term Care Facilities (LTCF) Environment. *Antibiotics*, 10(6): 748.
- Huang, H., Flynn, N.M., King, J.H., Monchard, C., Morita, M., Cohen, S. H. 2006. Comparisons of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and hospital-associated MSRA infections in Sacramento, California. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(7): 2423-2427.
- Kaplan, M., Chmel, H., Hsieh, H., Stephens, A., Brinsko, V. 1986. Importance of exfoliatin toxin A production by *Staphylococcus aureus* strains isolated from clustered epidemics of neonatal pustulosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 23(1): 83-91.
- Khairalla, A.S., Wasfi, R., Ashour, H.M. 2017. Carriage frequency, phenotypic, and genotypic characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from dental health-care personnel, patients, and environment. *Scientific reports*, 7(1): 1-16.
- Körkoca, H., Gökçeoğlu, E., Dicle, Y., Özçelik, Z., Yurtdaş, D., Dinler, Ö. 2013. Investigation Of Antimicrobial Sensitivity Of Hospital Acquired Nonclinical *Staphylococcus Aureus* Strains. *Muş Alparslan University Journal of Science*, 1(1): 7-16.

- Krishnamurthy, V., Saha, A., Renushri, B.V., Nagaraj, E.R. 2014. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* carriage, antibiotic resistance and molecular pathogenicity among healthy individuals exposed and not exposed to hospital environment. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 8(7): 4-8.
- Ladhani, S., Joannou, C.L., Lochrie, D.P., Evans, R.W., Poston, S.M. 1999. Clinical, microbial, and biochemical aspects of the exfoliative toxins causing staphylococcal scalded-skin syndrome. *Clinical microbiology reviews*, 12(2): 224-242.
- Lam, S.C., Fung, E.S.S., Hon, L.K.Y., Ip, M.P.Y., Chan, J. H. T. 2010. Nursing students' compliance with universal precautions in Hong Kong. *Journal of Clinical Nursing*, 19(21-22): 3247-3250.
- Lamanna, O., Bongiorno, D., Bertocello, L., Grandesso, S., Mazzucato, S., Pozzan, G.B., . . . Brugnaro, P. 2017. Rapid containment of nosocomial transmission of a rare community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) clone, responsible for the Staphylococcal Scalded Skin Syndrome (SSSS). *Italian journal of pediatrics*, 43(1): 1-6.
- Lee, CY., Schmidt, JJ., Johnson-Winegar, AD., Spero, L., Iandolo JJ. 1987. Sequence determination and comparison of exfoliative toxin A and toxin B genes from *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology*, 169(9): 3904-3909.
- Lim, K.T., Hanifah, Y.A., Yusof, M.Y.M., Thong, K.L. 2012. Characterisation of the virulence factors and genetic types of methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* from patients and healthy individuals. *Indian journal of microbiology*, 52(4): 593-600.
- Lozano, C., Gómez-Sanz, E., Benito, D., Aspiroz, C., Zarazaga, M., Torres, C. 2011. *Staphylococcus aureus* nasal carriage, virulence traits, antibiotic resistance mechanisms, and genetic lineages in healthy humans in Spain, with detection of CC398 and CC97 strains. *International Journal of Medical Microbiology*, 301(6): 500-505.
- Mahmoudi, H., Alikhani, M.Y., Fooladi, A.A.I. 2020. Synergistic antimicrobial activity of melittin with clindamycin on the expression of encoding exfoliative toxin in *Staphylococcus aureus*. *Toxicon*, 183: 11-19.
- Mulvey, M., Chui, L., Ismail, J., Louie, L., Murphy, C., Chang, N., . . . Methods†, C. C. f. t. S. o. M. 2001. Development of a Canadian standardized protocol for subtyping methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using pulsed-field gel electrophoresis. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(10): 3481-3485.
- Netsvyetayeva, I., Fraczek, M., Piskorska, K., Golas, M., Sikora, M., Mlynarczyk, A., . . . Iannitti, T. 2014. *Staphylococcus aureus* nasal carriage in Ukraine: antibacterial resistance and virulence factor encoding genes. *BMC Infectious Diseases*, 14(1): 1-9.

- Neylon, O., O'Connell, N.H., Slevin, B., Powell, J., Monahan, R., Boyle, L., . . . Kearns, A.M. 2010. Neonatal staphylococcal scalded skin syndrome: clinical and outbreak containment review. *European journal of pediatrics*, 169(12): 1503-1509.
- Ömeroğlu, Ö. 2013. Investigation of bacteria in nursing students nasal *Staphylococcus aureus*. (Master Thesis). Muş Alpraslan Üniversitesi, Muş. (350313)
- Paul, S.K., Ghosh, S., Kawaguchiya, M., Urushibara, N., Hossain, M.A., Ahmed, S., . . . Ahmed, A.A. 2014. Detection and genetic characterization of PVL-positive ST8-MRSA-IVa and exfoliative toxin D-positive European CA-MRSA-Like ST1931 (CC80) MRSA-IVa strains in Bangladesh. *Microbial Drug Resistance*, 20(4): 325-336.
- Piechowicz, L., Garbacz, K., Wiśniewska, K., Dąbrowska-Szponar, M. 2011. Screening of *Staphylococcus aureus* nasal strains isolated from medical students for toxin genes. *Folia microbiologica*, 56(3): 225-229.
- Santosaningih, D., Santoso, S., Setijowati, N., Rasyid, H.A., Budayanti, N.S., Suata, K., Damayanti, D. 2018. Prevalence and characterisation of *Staphylococcus aureus* causing community-acquired skin and soft tissue infections on Java and Bali, Indonesia. *Tropical Medicine International Health*, 23(1): 34-44.
- Schaumburg, F., Köck, R., Friedrich, A.W., Soulanoudjingar, S., Ngoa, U.A., von Eiff, C., Peters, G. 2011. Population structure of *Staphylococcus aureus* from remote African Babongo Pygmies. *PLoS neglected tropical diseases*, 5(5): e1150.
- Tasneem, U., Mehmood, K., Majid, M., Ullah, S. R., Andleeb, S. 2022. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: A brief review of virulence and resistance. *JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association*, 72(3): 509-515.
- Tenover, F.C., Arbeit, R.D., Goering, R.V., Mickelsen, P.A., Murray, B.E., Persing, D.H., Swaminathan, B. 1995. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *Journal of Clinical Microbiology*, 33(9): 2233-2239.
- Toshkova, K., Annemüller, C., Akineden, Ö., Lämmler, C. 2001. The significance of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* as risk factor for human skin infections. *FEMS microbiology letters*, 202(1): 17-24.
- Ward, D.J. 2010. Infection control in clinical placements: experiences of nursing and midwifery students. *Journal of advanced nursing*, 66(7): 1533-1542.
- Weber, D. J., Anderson, D., Rutala, W.A. 2013. The role of the surface environment in healthcare-associated infections. *Current opinion in infectious diseases*, 26(4): 338-344.
- Yamaguchi, T., Nishifuji, K., Sasaki, M., Fudaba, Y., Aepfelbacher, M., Takata, T., . . . Sugai, M. 2002. Identification of the *Staphylococcus aureus* etd pathogenicity island which encodes a novel exfoliative toxin, ETD, and EDIN-B. *Infection and immunity*, 70(10): 5835-5845.

Yamasaki, O., Tristan, A., Yamaguchi, T., Sugai, M., Lina, G., Bes, M., . . . Etienne, J. 2006. Distribution of the exfoliative toxin D gene in

clinical *Staphylococcus aureus* isolates in France. *Clinical microbiology and infection*, 12(6): 585-588.