



T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
MİK-YL-2012-004

**KÖPEKLERİN DERİLERİNDEN STAFİLOKOK  
TÜRLERİNİN İZOLASYONU VE EKSFOLİYATİF TOKSİN  
VARLIĞININ BELİRLENMESİ**

Vet. Hek. C. Şule TÜRKEL (YILMAZ)

DANIŞMAN  
Yrd. Doç. Dr. Serap SAVAŞAN

AYDIN-2012

**T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
MİK-YL-2012-004**

**KÖPEKLERİN DERİLERİNDEN STAFİLOKOK  
TÜRLERİNİN İZOLASYONU VE EKSFOLİYATİF TOKSİN  
VARLIĞININ BELİRLENMESİ**

**Vet. Hek. C. Şule TÜRKEK (YILMAZ)**

**DANIŞMAN  
Yrd. Doç. Dr. Serap SAVAŞAN**

**AYDIN-2012**

**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Vet. Hek. Cemile Şule TÜRKEL tarafından hazırlanan “**KÖPEKLERİN DERİLERİNDEN STAFİLOKOK TÜRLERİNİN İZOLASYONU VE EKSFOLİYATİF TOKSİN VARLIĞININ BELİRLENMESİ**” başlıklı tez, 31/08/2012 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

**Ünvanı, Adı ve Soyadı :**

- 1– Prof. Dr. Osman KAYA  
2– Prof. Dr. K. Serdar DİKER  
3– Yrd. Doç. Dr. Serap SAVAŞAN

**Üniversitesi :**

- ADÜ, Veteriner Fakültesi  
Ankara Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi  
ADÜ, Veteriner Fakültesi

**İmzası:**

.....  
.....  
.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun  
..... Sayılı kararıyla ..... tarihinde onaylanmıştır.

Doç. Dr. Sacide KARAKAŞ  
Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Stafilokoklar doğada yaygın olarak bulunurlar. Temel habitatları memelilerin ve kanatlıların deri, ter bezleri ve müköz membranlarıdır. Vücudun farenks, burun mukozası, meme dokusu, intestinal ve üriner kanallarında da bulunabilirler. Böyle yaygın bir habitata sahip stafilokoklar hayvan ve insan sağlığı açısından zoonotik öneme sahip bakteri türüdür.

İnsanlara en yakın hayvan türü olan köpeklerde deri infeksiyonlarından sorumlu stafilokokların çeşitli antibiyotiklere karşı direnç kazanmasının yanı sıra enfekte köpeklerden sahiplerine geçerek zoonotik infeksiyonlara neden olduklarının çalışmalarla anlaşılması, stafilokokların canie piyodermalardaki rollerinin iyi bilinmesinin gerektiğini göstermektedir. Köpek deri ve burunlarından sıklıkla izole edilen stafilokoklardan eksfoliatif toksin izole edilmesi bu toksinin, insanlarda görülen Staphylococcal Scalded Skin Syndrome (SSSS) hastalığında olduğu gibi canine piyodermalarda da etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle konu ile ilgili olarak daha detaylı araştırma ve denemelerin yapılması gerektiği unutulmamalıdır. Çalışmamız, ADÜ Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından VTF-11024 nolu proje ile desteklenmiştir.

# İÇİNDEKİLER

<b>KABUL VE ONAY SAYFASI</b>	i
<b>ÖNSÖZ</b>	ii
<b>İÇİNDEKİLER</b>	iii
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b>	iv
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>1.1. Stafilokokların Genel Özellikleri</b>	2
<b>1.2. Virulens Faktörleri</b>	5
<b>1.3. Hastalıklar ve Patogenez</b>	10
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	18
<b>2.1. Örneklerin Toplanması</b>	18
<b>2.2. Besiyerleri ve Stafilokok Şüpheli Bakterilerin Belirlenmesi</b>	18
<b>2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)</b>	19
<b>2.3.1. Stafilokokal DNA İzolasyonu</b>	19
<b>2.3.2 Primerler</b>	19
<b>2.3.3 Standart Suş</b>	19
<b>2.3.4. PCR Karışımı</b>	20
<b>2.3.5. Amplifikasyon Koşulları</b>	20
<b>2.3.6. DNA Agaroz Jel Elektroforezi</b>	20
<b>3. BULGULAR</b>	21
<b>3.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları</b>	21
<b>3.2. PCR Sonuçları</b>	22
<b>4. TARTIŞMA</b>	23
<b>5. SONUÇ</b>	27
<b>ÖZET</b>	28
<b>SUMMARY</b>	29
<b>KAYNAKLAR</b>	30
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	37
<b>TEŞEKKÜR</b>	38

## ÇİZELGELER LİSTESİ

<b>Çizelge 1.1.</b>	Micrococcaceae Ailesinin Ayrımı	4
<b>Çizelge 1.2.</b>	Stafilokok Türlerinin Biyokimyasal Özellikleri	4
<b>Çizelge 1.3.</b>	Stafilokok Tür ve Alt Türleri İle Tanımlandıkları Konaklar	9
<b>Çizelge 2.1.</b>	<i>S. aureus</i> eksfoliyatif toksin genlerini ( <i>eta</i> ve <i>etb</i> ) spesifik olarak amplifiye eden primerler	19
<b>Çizelge 3.1.</b>	Sağlıklı ve Deri Lezyonlu Köpeklerden İzole Edilen Stafilokok Dağılımı	21

## 1.GİRİŞ

Stafilokoklar, insan ve hayvanlarda birçok infeksiyonun ve insanlarda oluşabilen stafilokokal intoksikasyonların etkenidirler. Stafilokokal infeksiyonlar, koagulaz pozitif ve koagulaz negatif stafilokoklar tarafından oluşturulabilmektedir. Uzun yıllardır enfeksiyon kaynağı olarak bilinen Stafilokokları ilk kez 1878’de Robert Koch tanımlamıştır. 1880 yılında İskoçyalı bir cerrah olan Alexander Ogston, insanlarda çeşitli piyozjenik hastalıkların etkeni olarak tespit ettiği salkım şeklindeki kokları göstermiştir (Archer 1990). Ogston bu mikroorganizmayı *Staphylococcus* olarak isimlendirmiştir. Yunanca “*staphyle*” üzüm salkımı, “*coccus*” tane, zerre anlamına gelmektedir. Koch ve Pasteur bu morfolojiyi gösteren mikroorganizmaları irin materyalinde gözlemlemişlerdir (Bergdoll, 1989).

İlk kez 1884’de Rosenbach tarafından hastalık örneklerinden izole edilmiştir. Stafilokokları saf kültür olarak üreten ve onların karakteristikleri üzerinde ilk laboratuvar çalışmalarını yapan kişidir. Stafilokokları bir soy olarak düşünmüş ve katı ortamlarda beyaz ve portakal renkli kolonilerin ürediğini gözlemlemiştir. Bu soyun alt türleri olarak pigmentasyona dayalı bir şekilde iki tip stafilokok tanımlamıştır. Portakal renkli koloni oluşturan mikroorganizmaları *Staphylococcus pyogenes aureus*, beyaz koloni oluşturanları ise *Staphylococcus pyogenes albus* olarak adlandırmıştır. Sonradan limon renkli koloni pigmentasyonu veren *Staphylococcus pyogenes citreus* eklenmiştir. Ogston irinli yaralardan elde ettiği stafilokokları farelere enjekte etmiş ve irinli yaraların oluşması da dahil olmak üzere bazı semptomların geliştiğini gözlemlemiştir. Enjeksiyon öncesi ısı işlemi uygulanan veya fenol ile muamele edilen irinden elde edilen kültürün, hastalık oluşturmadığını gözlemlemiştir.

Winslow 1920 yılında, stafilokokları *Micrococcacea* familyasına dahil etmiştir. Evans’ın glikozu anaerobik fermente edebilme yeteneklerini 1957 yılında belirlemesi ile *Staphylococcus* isminde ayrı bir soy olarak sınıflandırılmıştır. Daha sonraları Winslow ve Winslow tarafından ikinci tür olan *Staphylococcus epidermidis* öne sürülmüştür. *S. aureus* 1972’ye kadar bilinen tek türdür ve *Staphylococcus epidermidis* ile arasındaki temel fark, koagulaz üretimine dayanmaktadır. Stafilokoklar, 1957 yılında manitolün aerobik

kullanımı ve koagulaz oluşturma yeteneklerine bakılarak *S. aureus* ve *S. epidermidis* olarak iki tür olarak tanımlanmıştır. 1959 yılında nümerik taksonominin kullanıma girmesiyle *Koagulaz Pozitif Stafilocokların* homojen bir grup olmasına karşın, *Koagulaz Negatif Stafilocokların* heterojen bir grup olduğu saptanmıştır. *Koagulaz negatif stafilocoklardaki* türleri ilk defa Baird-Parker bir şema ile tanımlamıştır (Christensen et al., 1985). 1975 yılında tanımlanan bu şema, Schleifer ve Kloos tarafından modifiye edilmiş ve biyokimyasal özelliklerden yararlanarak tiplendirmeler yapılmıştır (Patrick et al., 1990).

1965’de “Subcommitte on the Taxonomy of Staphylococci and Micrococci” tarafından *Micrococcus saprophyticus*, daha sonra 1971’de yine aynı komite tarafından DNA ve hücre duvarı içeriğindeki farklılık ve anaerobik koşullarda daha yavaş üremesi gibi ayrıcalıklar nedeniyle *Staphylococcus saprophyticus* olarak tanımlanmıştır. Üçüncü tür olan *S. saprophyticus* 1974’te stafilocoklara eklenmiştir. Baird ve Parker 1974 yılında stafilocokları, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus saprophyticus* olmak üzere üç türe ayırmıştır. Tür sayısı 1980’de 13 ve 4, 1984’de ise 20 olmuştur. *S. intermedius* ve *S. hyicus* hariç yeni türlerin tamamı koagulaz negatiftir. DNA homolojisi, immunokimyasal ve biyokimyasal çalışmalarla tür sayısı 25’e ulaşmıştır (Bergdoll, 1989; Baird-Parker, 1990). Ancak günümüzde yapılan genotipik ve kemotaksonomik çalışmalar birçok yeni stafilocok türünün varlığını saptamamıza yardımcı olmaktadır. Günümüzde *Staphylococcus* genusu içinde 40 tür ve 24 alt tür tanımlanmıştır (Euzéby, 2007).

### **1.1. Stafilocokların Genel Özellikleri**

Stafilocoklar Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology’nin son baskısında *Staphylococcaceae* familyasında yer alırlar (Garrity ve Holt, 2000). *Staphylococcus* genusu, *Eubacteriales* takımının, *Micrococcaceae* familyasına ait mikroorganizmalardır.

Stafilocoklar Gram pozitif, katalaz pozitif koklardır. Morfolojik olarak benzer yapıda olan *Micrococcus* soyunun üyelerinden anaerobik olarak üremesi ve obligat aerobik mikrokoklardan farklı fermentasyon ve solunum metabolizmasına sahip olmaları sebebiyle ayrılırlar. Kimyasal ve biyokimyasal karakteristikleri açısından da iki soy oldukça farklıdır.



DNA Guanin ve Sitozin içerikleri ve hücre duvarı yapısı geniş oranda farklıdır (Baird-Parker, 1990).

Stafilokoklar, yuvarlak şekilli, 0.5 – 1.5 µm çapında sferik ya da oval, çoğunlukla düzensiz kümeler şeklinde, gram pozitif, hareketsiz, sporsuz, fakültatif anaerobik ve katalaz aktivitesi pozitif bakterilerdir. Stafilokokların ideal üreme sıcaklıkları 37 ° C civarındadır (Adams ve Moss, 1995; Hayes, 1995). 10-48 ° C arasında toksin oluşturabilirler. Nispeten düşük su aktivitesi değerleri olan  $a_w$  0.83 üreme ve  $a_w$  0.85 toksin oluşturma yetenekleri için limit değerlerdir (Baird-Parker, 1990). Hücreler tek veya çiftler halinde veya üzüm benzeri salkımlar halinde form oluştururlar (Loir ve ark., 2003).

Stafilokokların sınıflandırmasında koagulaz üretimi en önemli biyokimyasal özelliklerdendir. Stafilokoklara laboratuarlarda yapılacak en önemli invitro test de plazma koagulaz testidir. Bunun yanında kümeleştirici faktör (clumping factor) de araştırılabilir. Antijenik yapı olarak serbest koagulazdan farklı olması testin negatif çıktığı durumlarda serbest koagulaz açısından tüp testi ile de kontrolü gerekmektedir (Marples and Cooke, 1988; Kotilainen, 1990 ). Koagulaz pozitif olanlar *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. aureus subsp. anaerobius*, *S. delphini* ve *S. schleiferi subsp. coagulans*'tır. (Jay, 1996).

Stafilokokal DNA düşük oranda Guanin ve Sitozin (G+C) içerir. G+C içeriği % 30-39 mol arasındadır. Bununla beraber *Micrococcus* soyu üyeleri % 68-74 mol arasında G+C içerirler. Stafilokokal hücre duvarı yapısı tipik Gram pozitif mikroorganizma yapısında olup kalındır (30-60 nm). *S. aureus*'un hücre duvarı kalınlığı 120 nm'nin üzerine de çıkabilir. Hücre duvarı peptidoglikan, teikoik asit ve proteinlerden oluşmuştur. Bu komponentlerden proteinler ökaryotik hücrelere bağlanma ve adezyon için önemli fibronektin, fibrinojen, laminin ve kolagen içerirler. Adezyon proteinlerinin bağlanması ile dokulara bakteriyel tutunma mekanizması gerçekleşmiş olur. Antijenik proteinlerden en çok çalışılmış olanı Protein A'dır ve *S. aureus* suşlarının % 90-98'inde mevcuttur (Schleifer ve Kroppenstedt, 1990).

Sporsuz bakteriler içerisinde dış etkenlere ve dezenfektanlara karşı en fazla dayanabilen bakterilerdir. Kültürlerde, + 4 ° C'de 2-3 ay, - 20 ° C'de 3-6 ay kadar canlı kalabilirler. Stafilokok türleri 60 ° C'de ancak yarım saatte, % 2'lik fenolde 15 dakikada

inaktive olup, % 9'luk sodyum klorüre ve sakkarozaya direnç gösterebilmektedirler (Lister, 2000; Marples and Cooke, 1988; Kotilainen, 1990).

**Çizelge 1.1.** Micrococcaceae Ailesinin Ayrımı

	<i>Mikrococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Rothia(Stomatococcus)</i>
Katalaz	Pozitif	Pozitif	Zayıf Pozitif
Oksidaz	Pozitif	Negatif	Negatif
Yapışkan koloniler	Negatif	Negatif	Pozitif

**Çizelge 1.2.** Stafilokok Türlerinin Biyokimyasal Özellikleri

Özellikler	<i>S.aureus</i>	<i>S.epidermidis</i>	<i>S.capitis</i>	<i>S.warneri</i>	<i>S.haemolyticus</i>	<i>S.hominis</i>	<i>S.auricularis</i>	<i>S.saprophyticus</i>	<i>S.hyicus subsp. hyicus</i>	<i>S.simulans</i>	<i>S.intermedius</i>
Pigment	+/w	-	-	d	D	ND	-	ND	-	-	-
Aerop üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Anaerop üreme	+	+	+	+	-/w	-/w	+	+	+	+	+
%10 NaCl'de üreme	+	+/w	+	+	+	+/w	+	+	+	+	+
%15 NaCl'de üreme	+/w	-	-/w	+/w	D	-	+/w	d	-/w	+/w	ND
Aseton oluşturma	+	+	d	+	D	ND	ND	+	-	+/w	-
Sukroz	+	+	+	+	+	+	ND	+	+	+	+
Maltoz	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+/w	+/w
D-Mannitol	+	-	+	d	D	-	-	d	-	+	ND
D-Mannoz	+	+	+	-	-	-	-	-	+	D	+
D-Trehaloz	+	-	-	+	+	ND	+	+	+	D	+
Laktoz	+	ND	-	d	D	ND	-	d	+	D	+
Hyaluronidaz	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND
Üreaz	+/w	+	-	+	-	+	-	+	d	+	+
Koagülaz	+	-	-	-	-	-	-	-	d	-	+
Hemoliz	+	-/w	-/w	d	+	-/w	-	-	-	-/w	ND
Dnase	+	-/w	+/w	d	D	-/w	-/w	-	+	+/w	+
Termonükleaz	+	-/w	-	-	-	-	-	-	+	-/w	+
Novobiocine direnç	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
15 °C' de üreme	+	-/w	-	d	-/w	-/w	-	+	+	+	+
45 °C' de üreme	+	+	+	+	+	-	-	d	-/w	+	+
L-Arabinoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

D-Cellobiose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Raffinoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salicine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Galaktoz	+	ND	-	d	D	d	-	-	+	-/w	+	+
D-Fruktoz	+	+	+	+	D	+	+	+	+	+	+	+
D-Riboz	+	ND	-	d	ND	-	-	-	+	ND	ND	ND
Nitrat redüksiyon	+	+/w	d	-/w	ND	d	ND	-	+	+/w	+	+
Alkalın fosfataz	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+/w	+	+
Arjinin dehidrolaz	+/w	+/w	d	d	+	d	ND	-/w	+	+	-	-
Clumping faktör	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ND

+: % 90 Pozitif

d: % 11-89 Pozitif

-: % 90 Negatif

ND:Hakkında bilgiler net değil

+/w: Haftalık reaksiyonda pozitif

-/w: Haftalık reaksiyonda negatif

## 1.2. Virulens Faktörleri

Stafilokokların hücre duvarı yapısında bulunan peptidoglikan endotoksin benzeri bir aktivite gösterebilir. Makrofajlardan sitokinlerin salınımı, komplement aktivasyonu ve trombositlerin agregasyonunu stimüle edebilir (Kessler ve ark. 1991).

Ribitol teikoik asit peptidoglikana kovalent olarak bağlıdır ve hücre duvarının önemli bir bileşenidir. Lipoteikoik asit ise hücre duvarı yapısının başka bir bileşeni olup sitoplazmik membranla bağlantılıdır (Lowy, 1998).

Birçok stafilokok türünün mikrokapsül üretebildiği saptanmıştır. Serolojik olarak 11 tip mikrokapsül belirlenmiştir. Tip 5 ve tip 8 en sıklıkla belirlenen tiplerdir. Antifagositik bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Lee, 1996).

Protein A mikroorganizmanın peptidoglikandan oluşan komponentidir. Membrana bağlı ve salgılanmış formda olabilir. Üreme boyunca ortama salınabilir. Mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber, konakçı polimorf nükleer hücreleri tarafından patojenin eliminasyonunun antifagositik bir etkiyle inhibe edilmesini sağladığı ileri sürülmüştür. Bu etkinin Immunglobulinlerin Fc porsiyonuna bağlanma aktivitesi ile oluşabileceği bildirilmiştir (Graille ve ark., 2000; Sardel veMcKillip, 2004). Serbest veya bağlı (Clumping faktör, Fibrinojene Bağlanma Proteini) koagulaz diğer önemli virülens faktörleridir. Mikroorganizmanın fibrin ile kaplanması sonucu opsonizasyondan ve fagositozdan korunabildiği bildirilmiştir (Halphin-Donhalek ve Marth, 1989).

Termonükleaz (Stafilokokal nükleaz), endo ve ekzonükleolitik özellikleri olan fosfodiesteraz yapısında bir enzimdir. Konakçı hücrelerin DNA ve RNA'sını hidrolize edebilir ve ısıya dirençlidir. Hiyaluronidaz, hücreler arası mukopolisakkaritleri parçalayarak konakçı dokularında stafilokokların yayılmasına ve gelişmesine katkıda bulunur.

Lipaz ekstrasellüler bir enzim olup logaritmik üreme fazı boyunca sentezlenir. Birçok stafilokokal suşun virulensinin artısında önemli rol oynar. Plazma ve yağ dokularına etki ederek vücut yüzeyinde etkenin akümüle olmasını sağlar (Sardel ve McKillip, 2004; Halphin-Donhalek ve Marth, 1989).

Fibrinolizin (Stafilokinaz (SAK)), birçok *S. aureus* suşu tarafından sentezlenir. Plazminojen aktivatörüdür ve fibrin pıhtısının çözülmesine neden olur, ayrıca fagositoz için önemli komponentler olan IgG ve C5 gibi opsoninlerin parçalanmasını sağlayarak antiopsonik bir etki gösterdiği ve bakteriyi fagositozdan koruduğu bildirilmiştir (Rooijackers ve ark, 2005).

Alfa ( $\alpha$ ) hemolizin, birçok suş tarafından yüksek oranda sentezlenir. Tavşan eritrositlerine karşı etkilidir ayrıca dermonekrotik ve nörotoksiktir. Bu toksinin salınımı *agr* (accessory gene regulator) kontrolü altında olup *hla* geni tarafından kodlanır. Ökaryotik hücrelere özellikle de eritrositlere karşı lize edici etkisi vardır. Geç ekspanensiyal faz boyunca üretilir, maksimum ekspresyonu 42 ° C'de gerçekleşir (Dinges ve ark., 2000). Alfa toksin birçok hücre tipine zarar verebilir. Düz ve iskelet kasları paralizisi ve sentral sinir sistemine toksik etki yapabilir (Arbutnott ve ark.,1990).

Beta ( $\beta$ ) hemolizin (Sfingomiyelinaz C), kromozomal olarak yerleşmiş *hly* geni tarafından kodlanır. Beta hemolizin, koyun eritrositlerini lize edici ancak tavşan eritrositleri için hemolitik değildir. Hastalıklardaki rolü açık değildir.

Gama hemolizin ( $\gamma$ ) ve Pantan-Valenine (PV) Lökosidin *S. aureus* tarafından sentezlenebilen toksinlerdir. Gama hemolizin hemen tüm *S. aureus* suslarıncı sentezlenirken, PV-Lökosidin *S. aureus* suslarının % 2-3'ü tarafından sentezlenebilmektedir. Nötrofil ve makrofajlar üzerine etkirler. Gama hemolizin ayrıca memeli eritrositlerini lize edebilir. Delta ( $\delta$ ) hemolizinin memelilerin eritrositleri ve diğer

hücreleri üzerine lize edici etkisi vardır ilave olarak dermonekrotik etkiside saptanmıştır (Dinges ve ark., 2000).

Epidermolitik toksin (Eksfoliyatif Toksin), deri yüzeyinde, genellikle çocuklarda değişik lezyonlara neden olur. İnsanlarda oluşturduğu hastalık SSSS (Staphylococcal Scalded Skin Syndrome) olarak adlandırılmıştır. Epidermisin stratum granulosum tabakasında çeşitli oranlarda çatlaklarla karakterizedir. ETA (Eksfoliyatif Toksin A) ve ETB olarak iki serotipi vardır. ETA kromozomal, ETB plazmid tarafından kodlanır (Arbuthnott ve ark., 1990). Önceleri, esas olarak faj litik grup II *S.aureus*'ların eksfoliyatif toksin üretiminden sorumlu oldukları düşünülmekteydi ancak günümüzde bütün faj gruplarının eksfoliyatif toksin üretebileceği anlaşılmıştır (LADHANI, 2001).

Eksfoliyatif toksinler, geniş eksfoliasyonlardan ufak su kabarcıklarına kadar çok geniş bir yelpazede hastalık oluşturabilmektedirler. Bunlardan dermatitis eksfoliativa, pemfigus neonatorum, Lyell hastalığı ve Ritter hastalığı en iyi bilinenlerdir. Eksfoliyatif toksinin yapmış olduğu en yaygın hastalık, Staphylococcal Scalded Skin Syndrome (SSSS) (Stafilokokkal Haşlanmış Deri Sendromu) adı ile anılan hastalık tablosudur. SSSS çocuklarda nadiren, büyüklerde ise ciddi hastalık tablolarıyla beraber seyrettiğinde %50 oranında mortaliteye neden olabilir. Ancak toksinin yapısı ve etkilerinin araştırılmasıyla hastalığa karşı yeni tedavi yöntemleri geliştirilmektedir (LADHANI, 2003).

1970 yılında Melish ve Glasgow, *S.aureus*'un salgıladığı bir ekzoproteinini yenidoğan farelerde eksfoliasyondan sorumlu olduğunu ortaya koyana kadar, SSSS ile *S.aureus* arasındaki ilişki açıklığa kavuşmamıştır. Bu toksin daha sonra izole edilmiş, sekans analizi yapılmış, karakterize edilmiş ve başka bir bakteride (*E. coli*) klonlanmıştır (LADHANI, 2001). ETA, 242 aminoasitlik, 26950 kDa moleküler kütleyle sahip, ısıya dirençli bir toksin olup ETA geni kromozomlarda lokalize halde bulunmaktadır. ETB ise 246 aminoasitlik, 27274 Da moleküler kütleyle sahip, ısıya duyarlı bir toksindir ve geni plazmid lokalizasyonuna sahiptir. *S.aureus*, bunların yanında eksfoliyatif toksin C (ETC) ve D (ETD) toksin tiplerini de sentezlemektedir. ETC, 27 kDa'luk, ısıya duyarlı bir toksin olup, bir ata bulunan deri infeksiyonundan izole edilmiştir. Bunun yanında ETC'nin, yeni doğan farelerde ve civcivlerde intraepidermal çatlaklar oluşturduğu gözlenmiştir. ETD ise ilk defa, klinik *S.aureus* izolatlarına ait genomların, ETA ve ETB genleri için problemlerle görüntülenmesi sırasında bulunmuştur. ETD, 27 kDa'luk bir protein olup, ETA ile %40,

ETB ile %59 ve ETC ile %13 oranında bir benzerlik taşımaktadır. Ancak araştırmacılar, ETD ile SSSS arasında kuvvetli bir ilişkinin olmadığını, ETD'nin daha çok derinin epitelial bariyerinin bozulması ve bakterinin lokal dokulara bu sayede invaze olarak, rahatça üreyebilmesine olanak sağlaması konusunda yardım ettiğini öne sürmektedirler. ETA ve ETB toksinleri yapılarında benzer olarak 2 bölgeye sahiptir (S1 ve S2). Her bölge 6 iplikli  $\beta$  yumağına ve C-terminal  $\alpha$ -heliksine sahiptir. Toksinlerin S1 bölgesinin N-terminal kısmının ortasında ise treonin ve histidin aminoasitleri bulunmaktadır (LADHANI, 2001).

Domuz yavrularında yapılan araştırmalar sonunda *Staphylococcus hyicus*'un, *S.aureus*'un eksfoliatif toksinine benzer bir grup toksin ürettiği anlaşılmış ve bu toksinlerin deri erozyonları, eksfoliasyon ve su kabarcığı formasyonu ile karakterize eksudatif epidermitis oluşturduğu ortaya konmuştur (LADHANI, 2001).

Amagai ve ark., (2000), eksfoliatif toksinin epidermal hedefi üzerine çalışmalar yaparken; SSSS ile pemphigus foliaceus'un klinik ve histolojik olarak benzer deri lezyonlarına sahip olduklarını ortaya koymuşlardır.

Bazı suşlar stafilokokal pirojenik ekzotoksin C ve stafilokokal enterotoksin F olarak da adlandırılan TSST'ni salgırlar. Süperantijenik yapıda olup stafilokokal pirojenik toksin süper antijenler ailesinde yer alır. Ani çocuk ölümlerine, artritise neden olabilmektedir. Çocuklarda sonradan olusan bir kalp hastalığı olan Kawasaki sendromu gösteren hastaların % 60'ından TSST-1 üreten *S. aureus* izole edilmistir. Toksik şok sendrom; genis bir spektrumda klinik ve histopatolojik bulgularla karakterize akut ve potansiyel ölümcül bir hastalıktır (Dinges ve ark., 2000).

Stafilokoklar insanlar ve diğer hayvanlarda toksin üretmek veya işgal etmek yoluyla geniş bir çeşitlilikte hastalıklara yol açabilirler. Stafilokok toksinleri gıda zehirlenmesi durumlarında ana etkidir. Bakteri uygun olmayan şartlarda saklanan yiyeceklerde ürer. Pişirme süreci onları öldürse de, enterotoksinler ısıya dayanıklıdır ve dakikalarca kaynamaya bile dayanabilirler. Stafilokoklar daha çok su içeriği az olan peynir ve salam, sucuk gibi gıdalarda ürerler. Patojenik türlerinden birisi yaralarda enfeksiyona yol açabilen *Staphylococcus aureus*'dur. Bu bakteri kuru yüzeylede yaşar ve geçirgenliği artırır. Bu türden olan Metisiline-dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) hastaneden

kazanılan enfeksiyonlarda ana etken olmuştur ve de toplumdan kazanılan enfeksiyonlarda ortaya çıkışı ve sıklığındaki artışı sonucu bu özelliği anlaşılmıştır. *S. aureus* ayrıca toksik şok sendromundan da sorumlu olabilir. 1980'ler boyunca bazı tamponlar *S. aureus*'un hızla üremesine yol açmış ve bu şekilde kana karışan toksinler salınmıştır. Herhangi bir *S. aureus* enfeksiyonu stafilokokal haşlanmış cilt sendromuna yol açabilir. Bu durum ise derinin kana karışan ekzotoksine verdiği reaksiyon ile oluşur. Ayrıca Piyemi diye adlandırılan bir çeşit septisemiye de yol açabilir.

Evcil köpek ve kedilerin cildine yerleşip zaman zaman onları enfekte eden ve koagülaz pozitif olan stafilokok türü bakteri ise *Staphylococcus intermedius*'dur. Bu organizma da çoklu bakteri direnci oluşturabilen genetik materyali taşır. Nadiren insanlarda zoonotik olabilir.

*S. epidermidis*, bir koagülaz-negatif stafilokok türüdür ve cilt üzerinde doğal olarak bulunması yanında santral venöz kateter takılı hastalarda ciddi hastalıklara yol açabilir. Geçmiş yıllarda *S. lugdunensis*, *S. schleiferi*, ve *S. caprae* gibi bazı diğer Stafilokok türlerinin de insanlarda enfeksiyona yol açtığı saptanmıştır. Stafilokoklar parmak uçlarında da bulunabilirler. Genellikle işaret ve başparmakta felon adlı hastalığa yol açarlar ve bu durum diğer birçok stafilokok enfeksiyonu gibi çok acı vericidir.

**Çizelge 1.3** Stafilokok Tür ve Alt Türleri İle Tanımlandıkları Konaklar

<b>TÜRLER ve ALT TÜRLER</b>	<b>KONAKLAR</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	insan, memeli türleri, kus
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	insan, evcil hayvanlar
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	insan, memeli türleri
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	insan, evcil hayvanlar, maymun türleri
<i>Staphylococcus warneri</i>	insan, evcil hayvanlar, maymun türleri
<i>Staphylococcus hominis</i>	İnsan
<i>Staphylococcus simulans</i>	insan, memeli türleri
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	İnsan
<i>Staphylococcus capitis</i>	
<i>S.capitis subsp. capitis</i>	insan
<i>S.capitis subsp. ureolyticus</i>	insan, maymun türleri
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	
<i>S.schleiferi subsp. schleiferi</i>	insan
<i>S.schleiferi subsp. coagulans</i>	köpek
<i>Staphylococcus pasteurii</i>	insan, memeli türleri

<i>Staphylococcus auricularis</i>	insan, maymun türleri
<i>Staphylococcus cohnii</i> <i>S. cohnii subsp. cohnii</i> <i>S. cohnii subsp. ureolyticum</i>	insan insan, maymun türleri
<i>Staphylococcus xylosus</i>	insan, memeli türleri, kus
<i>Staphylococcus saccharulyticus</i>	İnsan
<i>Staphylococcus caprae</i>	insan, keçi
<i>Staphylococcus pulvereri</i>	insan, tavuk
<i>Staphylococcus intermedius</i>	memeli türleri, kuş
<i>Staphylococcus hyicus</i>	Domuz, keçi, sığır
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	Sığır, at, keçi
<i>Staphylococcus sciuri</i>	memeli türleri, kuş
<i>Staphylococcus gallinarum</i>	Kümes hayvanları, kuş
<i>Staphylococcus lentus</i>	Evcil hayvanlar, yunus
<i>Staphylococcus felis</i>	Kedi
<i>Staphylococcus muscae</i>	Evcil hayvanlar
<i>Staphylococcus piscifermentus</i>	Balıklar
<i>Staphylococcus vitilis</i>	memeli türleri, balina, et ürünleri
<i>Staphylococcus equorum</i>	At
<i>Staphylococcus dephini</i>	Balık
<i>Staphylococcus carnosus</i>	Et ve balık ürünleri
<i>Staphylococcus caseolyticus</i>	Süt ve süt ürünleri, balina, sığır
<i>Staphylococcus kloosii</i>	memeli türleri
<i>Staphylococcus arlettae</i>	memeli türleri, kuş

### 1.3 Hastalıklar ve Patogenez

Stafilokoklar memelilerin derisinde geçici kontaminant olabilirler, kısa süre kalıcı olabilirler ya da uzun süre kolonize olabilirler. Çoğu enfeksiyonlar deri ya da mukoz membranların çeşitli yollarla zedelenmesi sonucu oluşur. Stafilokok enfeksiyonları sıklıkla keratinize, mukozal ya da konjunktival epitel bariyerlerinde bozulma ile başlar ve kateter, dikiş ipliği ve hatta debris dibi yabancı cisimler enfeksiyonun ortaya çıkmasını kolaylaştırır.

Evcil hayvanlar için stafilokokların virulansı hemen daima birden fazla faktöre bağlıdır, fakat hayvan konakları ile etkileşim genellikle birkaç adımı kapsar. Onlar organizmanın temel adhezinlerini içeren adhezif matriks moleküllerini tanıyan mikrobik yüzey bileşenleri üretirler ve kollajeni bağlayan protein, fibronektini bağlayan proteinler, fibrojini bağlayan protein, elastini bağlayan protein, kümelenme faktörü ve matriks adezyon faktörü içerir. Diğer 12 yüzey proteini kadar çok membran bağlantı alanı içerebilir



ve büyük olasılıkla MSCRAMMs olarak nitelendirilebilir. Virülansla rol oynadıkları varsayılabilir ancak evcil hayvanların infeksiyonları için doğrulanmamıştır.

Stafilokoklar nötrofiller tarafından öldürülür, bu nedenle virulansla ilişkili birçok özellikleri hücre içi öldürme ya da fagositozdan kurtulma üzerine odaklanmıştır. Bu durum büyük oranla protein ve kapsül üretimi ile sağlanmaktadır. 12 immunotip halinde üretilen kapsüller, antifagositiktir ve tip 1' e ait olanlar virulansı artırma ile ilgilidirler. Tip 1 makrokapsül oluşturmayan suşlar polisakkarid bir mikrokapsül( örneğin mastitiden izole edilen suşlar) oluşturabilirler; kapsülsüz suşlar fagositoza büyük ölçüde daha duyarlıdır ve sığır mastitinde ve diğer in vivo örneklerde daha az virülansdır. *S. aureus* suşlarının çok büyük çoğunluğunun üzerinde bulunan protein A fagositoz için opsonizasyon derecesini sınırlandırarak immunglobulinlere Fc kısımları ile bağlanır. Mutantlar bazı in vivo sistemlerde virulansı azaltmışlardır. Benzer şekilde teikoik asitler ve peptidoglikan parçaları, normalde bakteri yüzeyinde yerleşmek için hazır bulunacak olan kompleman bileşenlerini serbest çözeltiye salan kompleman etkisini önleyen antijenler olarak rol oynayabilirler. Bu bakteri yaklaşımına karşı iki taraflı konak yanıtı vardır; bunlar kompleman aktivasyonuna klasik ya da alternatif yollarla yol açan konak faktörleri ile peptidoglikanın karşılıklı etkileşimi ve nötrofil kemotaksisidir.

Koagulaz trombini aktive ederek fibrinojenin fibrine dönüşmesini sağlar. Bazı stafilokoklar (*S. aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *schlieferi* ssp. *coagulans* ve *Staphylococcus delphini*) koagulaz oluşturmalarına karşın, çoğu oluşturmaz; *Staphylococcus hyicus* değişkendir. Koagulaz negatif stafilokokların yara infeksiyonlarının ve kateter prostetik kalp kapakçıkları, eklem protezleri ve kalp atış hızını ayarlayan elektrodları kapsayan yabancı cisimler ile ilgili enfeksiyonların önemli bir nedeni olduğu anlaşılınca kadar, koagulaz oluşturma özelliğinin, patojen türleri patojen olmayan türlerden ayırttığı düşünülmüştür; bu nedenle koagulaz artık patojenitenin ayrıcalıklı bir göstergesi değildir. Koagulaz mutantlar ve patent suşlar infeksiyonun farklı hayvan modellerinde eşdeğer virulansa sahiptir; bununla birlikte enzimin enfeksiyon bölgesini çepeçevre sararak infeksiyöz süresince katıldığı (lökosit infiltrasyonunu kısıtlayarak ya da organizmaları fagositoza karşı koruyarak) ya da stafilokokları konak proteinlerinde gizlediği ve immun sistem tarafından yabancı olarak tanımlanmasını önlediği düşünülmektedir.

Hücre içinde canlı kalma ve yayılma büyük oranda toksin üretimi aracılığı ile olmaktadır. Bazı membran aktif toksinler mikroorganizmayı konak yanıtından korumakta ve konaktan gıda erişimi sağlamaktadır. Tek bir bakteriyel ürün, hastalığın gelişiminde ender olarak çok fazla öneme sahiptir. Alfa toksin alt birimleri hücre membranlarına bağlanır, oligomerize olur ve nekroza yol açan porlar oluşturur. Prostoglandinler ve diğer yangısal mediyatörler bazı hedef hücrelerden serbest bırakılırlar ve makrofaj fonksiyonu tehlikeye atılır.

Piyoderma köpek ve atları etkiler ve derialtı abseleri ve selülite doğru ilerleme olabilir. Piyoderma köpeklerin eritem, vezikül oluşumu, püstül, sarımsı eksudat, sarı-kahverengi kabuklanma ve epidermisin keratinize tabakasının olması ile karakterize, yaygın bir jeneralizederi indeksiyonudur. Bu klinik özellikler, insanlardaki stafilokokal haşlanmış-deri sendromu (SSSS) ve domuzların eksudatif epidermit (EE)' inde görülenlere benzer. *Staphylococcus intermedius* normal köpek derisi üzerindeki koagülaz-pozitif stafilokokların predominant tipidir, ve köpeklerde otitis eksterna ve piyodermanın etkenidir. Veteriner hekimlikte yakın zamanlarda kabul edilmiş koagülaz pozitif bir stafilokok olan *Staphylococcus schlieferi* ssp. *coagulans* köpeklerdeki piyodermanın bir diğer nedenidir. Bu organizma ilk kez piyoderma oluşan köpeklerden izole edilemez ancak hastalığın yinelediği köpeklerde sıklıkla bulunur. Stafilocok peptidoglikanına aşırı duyarlılık, deri mast hücrelerinin IgE sensitizasyonu nedeniyle olur. Stafilocok antijenlerinin varlığında ortaya çıkan degranülasyon, eritem ve kaşıntının eşlik ettiği lokal bir yangısal yanıt sağlar. Klinik özellikleri, insanlardaki SSSS ve domuzlardaki EE' ninkilere benzer. Eksfoliatif toksin (eksfoliatif toksin A; ETA, kromozomal bir lokustan ve eksfoliatif toksin B; ETB, plazmid bir lokustan) granüler tabakadaki ve epidermisin üst dikensi tabakasındaki epidermal hücreleri hedef alan yaklaşık 30 kD'luk proteinlerdir. *Staphylococcus internedius*' un da köpek piyodermasında bir virulans faktörü olarak işlev yapan eksfoliatif bir toksin ürettiği düşünülmektedir.

**Pyoderma:** Pyoderma, derinin bakteriyel enfeksiyonudur. Pyodermalar, küçük hayvan pratiğinde ve özellikle köpeklerde yaygındır. Pyoderma yüzeysel, süperfisial ve derin pyoderma diye sınıflandırılır. Yüzeysel pyodermada bakteriler derinin en dış tabakasında kolonize olmuştur. Süperfisial pyodermada bakteriyel enfeksiyon kıl folüküllerini bozmayacak düzeydedir. Derin pyodermada bakteriyel enfeksiyon kıl folüküllerini

etkilemiş ve daha derinlere kadar ilerlemiştir. Vakaların önemli bir kısmında, deride doğal olarak bulunan *Staph. Intermedius* hastalığa sebep olur. Bazı türlerde yaygın olarak görülen atopy, ektoparazitler, gıda alerjileri, deri travmaları, kötü tımar, seborrhea ve yalanma ve tırmalamaya bağlı akut sulu dermatitis (hot-spot) durumlarında görülür. Klinik bulgu olarak kaşıntı, kızarıklık ve irritasyon bölgeleri belirlenir. Bu bölgelerde sıklıkla kabuklanma, pul pul dökülme ve kepeklenme görülebilir. Süperfisial pyodermada sarı lekelenmeler görülebilir. Bunlar sonradan daha büyük şişliklere ve kabuklara dönüşür.

Pyoderma sıklıkla sekonder olarak meydana gelir. Pyoderma'ya en sık *Staphilococcus* türleri, daha az yaygın olarak da *E.coli* bakterisi sebep olur. Hayvanlarda birçok risk faktörü pyoderma gelişimine zemin hazırlar. Bu risk faktörleri olarak aşırı tımar ya da taramaya bağlı travma, pire ya da uyuz etkenleri gibi parazitler, gıda, kontakt ya da herediter alerjiler, hipotiroidizm gibi hormonal bozukluklar ve immun sistemin zayıflaması sayılabilir. Ayrıca, kısa tüylü, kıvrımlı ya da sertleşmiş bir deriye sahip hayvanlar, pyoderma gelişimine predispozedir.

Hastalık sıklıkla deride ufak kızıl isilikler şeklinde başlar. Bu isilikler genellikle gövde, çene, burun üzeri ve ayaklarda görülür. Yine tüm vücudu etkileyecek düzeyde generalize de olabilir. Deri lezyonları aniden başlayabilir ya da dereceli olarak gelişebilir. Kaşıntı, bazı vakalarda görülebildiği gibi bazı vakalarda da görülmeyebilir. Eğer pyoderma, alerji gibi bir sebebe bağlı olarak görülürse, lezyonlar görülmeden önce kaşıntı oluşabilir. Deri üzerindeki kızarıklık kabartılar ya da lezyonlar, küçük şişlikler ve irin ya da kan dolu sivilceler şeklinde görülebilir. Bunlar, deride kabuklu ve döküntülü renksiz lekeler şeklinde bulunabilir. Deri yangılıdır ve tüy dökülmesi görülür.

Hastalığın tedavisinde öncelikle hayvanların kendi yaralarını kaşıyarak ya da yalayarak enfekte etmesini önlemek gereklidir. Pyodermanın her tipi için farklı şekillerde tedavi uygulanmalıdır. Tedavide ilk olarak primer neden araştırılmalıdır. Aksi ispat edilmedikçe her zaman pireler düşünülmelidir. Enfekte bölgeler temizlenmeli ve deri merhemleri sürülmelidir. Hayvanlar, haftada en az iki kez medikal şampuanlar ile yıkanmalıdır. Hastalığın şiddetine göre uygun sürelerde antibiyotikler kullanılmalıdır.

Hastalığın temelinde hormonal bir bozukluk yatıyorsa, deri problemlerinin yanında aşırı susuzluk hissi, aşırı ürinasyon, sarkık karın, letarji ve kilo gibi problemlerde

görülebilmektedir. Teşhis anamnez, klinik bulgular, deri biyopsisi, kan ve hormonal testlere göre konur. Rutin laboratuvar testleri olarak tam kan sayımı ve kan biyokimyası yapılmalıdır. Deri kazıntısı mikroskopik olarak muayene edilebilir. Şiddetli generalize pyoderma'lı hayvanlar hariç, diğerleri ayakta tedavi edilir. Hastalara gerek görülürse intravenöz (IV) sıvı tedavisi ya da diğer medikal uygulamalar yapılır. Hayvanların günlük banyoları yaptırılır.

Alerjiden şüpheleniliyorsa, hipoallerjik bir diyetle geçilir. Hayvanlara iyi dengelenmiş yüksek kalitede diyetler verilmelidir. Pyoderma'lı hayvanlar birçok antibiyotik ile tedavi edilebilir. Bazı antibiyotikler kusmaya sebep olabildiği için bu yan etki göz ardı edilmemelidir. Hastalığın şiddetine göre antibiyotik tedavisi 10 gün ila 1 ay arasında devam edilir. Antibiyotik tedavisi yanında medikal şampuanla banyolar, lezyonların daha kolay iyileşmesine ve kaybolmasına yardım eder. Yine medikal şampuanlar ile rutin banyolar, nükslerin önlenmesine yardımcı olur. Pyodermalı hayvanlarda prognoz değişkendir. Eğer tedavi dikkatli ve etkili yapılırsa prognoz iyidir. Aksi takdirde nüksler çok sık gözlenir.

**Süperfisial pyoderma:** Süperfisial pyoderma, epiderminin tüm katmanlarının etkilendiği ve bakterinin daha derin invazyonudur. Bu enfeksiyonda kıl folikülleri sarılır ve kıl sapı tüy dökülmesine sebep olabilecek şekilde kırılabilir. Kedi ve köpeklerin pyodermalarında *Staphylococcus* en sık izole edilen bakteridir. Sitoloji ve kültür sonuçları sebep olan mikroorganizmayı göstermeyebilir. Bu durumda non-staphylococcal bir etken ya da bakteriyel pyodermaya benzeyen aseptik pyoderma düşünülmelidir. Köpeklerde aseptik pyoderma ya da pyodermaya benzer durumlar olarak *Pempigus*'lar, *jüvenil steril granulomatöz dermatitis*), *derialtı yağ dokusunun yangısı*, *subcorneal pustuler dermatosis*, *eosinofilik follikulitis* ve *frankulosis*, *steril nodular pyodermatitis*, *linear immunglobulin A pustular dermatosis* ve *steril eosinofilik pustulosis* gibi hastalıklar sayılabilir. Kedilerde süperfisial pyoderma sıklıkla gözden kaçır ve önemsenmez. En yaygın klinik bulgu özellikle lumbosakral bölge üzerinde kabuklanmadır. Bu kabukların kıllar tarafından delinip geçilmesi yaygın bir bulgudur. Hemen hemen her zaman sağlam püstüller bulunur. Kedilerde süperfisial pyoderma'ya genellikle *Staphylococcus intermedius* sebep olur. Süperfisial pyoderma'nın klinik görünümü miliar dermatitis (darı tanesine benzer şişlikler) şeklindedir. Derin pyodermalı kedilerde alopesi, ülserasyonlar, hemorajik kabuklar ve fistüller bulunur. Alerjik hastalıklara bağlı sekonder olarak görülen derin pyoderma'nın

linik görünümünde eosinofilik plaklar bulunur. Kedilerde iyileşmeyen ve sık sık nüks eden derin pyoderma genellikle feline immundefisiensi virus, feline leukemia virus ya da atipik mikobakteri gibi sistemik bir hastalık ile ilişkilidir. Süperfisial pyoderma'nın teşhisi genellikle klinik bulgular (tüy ya da kıl dökülmesi, kabuklanma, eritem, papül, püstül ve epidermal dökülmeler) esas alınarak konur. Bu hastalığın ayırıcı teşhisinde *demodicosis*, *malessezia dermatitis*, *dermatophytosis* ve *pemphigus foliaceus* gibi kabuklanmaya sebep olan follikülitis'in diğer sebepleri dikkate alınmalıdır. Yukarıda tanımlanan dermatolojik lezyonların belirlenmesi, süperfisial pyodermanın kesin olmayan teşhisini sağlar. Bütünlüğü bozulmamış püstüllerden, belirgin kabuklanma bölgelerinden ya da epidermal şişliklerden alınan direk smearlarda çubuk ya da yuvarlak koklar ve yangısel hücre infiltratları belirlenebilir. Tüy yada kıl dökülmesi bulunan bölgeden alınan smear ve kazıntılarda sadece çok sayıda pul pul dökülen keratinositler görülebilir. Lezyonlu bölgelerden smear yapmanın en önemli sebeplerinden birisi, aynı zamanda *malessezia* enfeksiyonu ya da aşırı kolonizasyonların bulunup bulunmadığının belirlenmesidir. Stafilokok ve *malessezia* enfeksiyonları arasında simbiyotik bir ilişki vardır. Her ikisi de vakaların yaklaşık %50'sinde bulunur. Problem, aynı zamanda sistemik antimikrobiyel tedavi yapılmadığı takdirde çözülemez. Multiple derin deri kazıntıları, parazitik enfeksiyonları (özellikle *demodex canis*), ekarte etmek için yapılır. *Dermatophytosis*'i elimine etmek için dermatofit kültürleri yapılmalıdır. Derin pyoderma ve sık sık nüksleri görülen süperfisial pyoderma vakalarında bakteriyel kültür ve hassasiyet testleri zorunludur. Genellikle sağlam püstüllerden ya da derin lezyonlardan örneklerin alınması, en doğru sonuçları verir. Diğer bölgelerden örnek alınması durumunda sonuçlar çok dikkatli yorumlanmalıdır. Çünkü, bu durumda örneklerin kontamine olma riski çok yüksektir. Komplikasyonun olmadığı hafif süperfisial pyoderma vakalarında ampirik antibiyotik tedavisi yapılabilir.

Süperfisial pyoderma'nın bilinen en yaygın tetikleyicileri pireler, pire alerji dermatitis'i, atopi, gıda alerjisi, hipotroidizm, hiperadrenokortizizm, kötü tımar ya da tarama sayılabilir. Bilinen tetikleyicilerin doğru teşhisi ve tedavisi zorunludur. Nüks eden bakteriyel pyodermanın en yaygın sebepleri olarak uygun olmayan antibiyotik tedavisi (düşük doz ve kısa süreli antibiyotik tedavisi), aynı zamanda glikokortikoidlerin kullanılması, yanlış antibiyotik seçimi ve yanlış doz kullanımı sayılabilir.

Süperfisial pyodermanın primer tedavisinde en az 21 gün ya da uygun olanı 30 gün uygun bir antibiyotik kullanılmalıdır. Antibiyotik kesilmeden en az 7 gün önce tüm klinik lezyonlar (dökülen kıl ya da tüylerin tamamen geri çıkması ve hiperpigmentli alanların düzelmesi hariç) iyileşmiş olmalıdır. Kronik nüks eden ya da derin pyodermanın tedavisinde, klinik lezyonların tamamen düzelmesi için en az 8-12 haftalık bir süre gereklidir. İlk zamanlarda bakteriyel pyoderma için ampirik antibiyotik tedavisi ( linkomisin, klindamisin, eritromisin, trimetoprim-sülfa, kloramfenikol, sefalosporin, amoksisilin, ormetoprim-sulfadimethoxine) denenebilir. Ancak, amoksisilin, penisilin ve tetrasiklin, süperfisial ya da derin pyoderma'nın tedavisinde uygun bir seçim değildir. Çünkü, bu antibiyotikler vakaların %90'ında etkisizdir. Fluoroquinolon'lar ampirik tedavide kullanılmamalıdır. Şiddetli derin pyoderma, nüks eden pyoderma ya da kısa sürede tedaviye cevap vermeyen pyodermalarda, kültür ve hassasiyet testleri esas alınarak tedavi edilmelidir. Fokal süperfisial pyodermanın tedavisinde topikal antibiyotikler yardımcı olabilir. %2'lik mupiricin merhem, deriden iyi penetre olur ve derin pyodermanın tedavisine yardımcı olabilir. Bu merhem, sistemik absorbe edilmez ve kontakt hassasiyeti bilinmemektedir. Bu ilaç, sistemik bir antibiyotik olarak kullanılmaz. Çünkü istenmeyen kros reaksiyonlara sebep olabilir. Gram (-) bakterilere karşı çok etkili değildir. Bu merhem, kedilerde herhangi bilinen ya da şüpheli renal hastalık durumunda propilen glikol içerdiği için kullanılmamalıdır. Neomisin, diğer topikal ilaçlardan daha fazla kontakt alerjiye sebep olabilir. Nemomisin, gram (-) bakterilere karşı değişken etkiye sahiptir. Basitrasin ve polimiksin B diğer topikal antibiyotikler ile kıyaslandığında gram (-) bakterilere karşı daha etkilidir. Fakat purulent eksudatlarda etkisizdir.

Süperfisial ya da derin pyodermanın tedavisinde hayvanların tımarı ve taranması çok dikkatli bir şekilde yapılmalı ve sert hareketlerden kaçınılmalıdır. Derin pyodermalı hastalarda kıl ya da tüyler kesilmelidir. Bu durumda lezyonlu bölgelerin temizliği ve topikal uygulamaları daha kolay yapılabilir. Süperfisial pyodermalı köpekler tedavinin ilk iki haftasında haftada 2-3 kez banyo yaptırılmalı ve daha sonra da hastalık iyileşene kadar haftada 1-2 kez banyo yaptırılmalıdır. Derin pyodermalı köpeklerde günlük hidroterapi yapılmalıdır. Medikal şampuanlar, uygulamadan önce köpürme, yayılma ve yıkanmayı kolaylaştırmak için 1:2 ila 1:4 oranında sulandırılmalıdır. Uygun antibakteriyel şampuanlar benzol peroksit klorheksidin, klorheksidin-ketokonazol, etil laktat ve triklosan içerirler. Bu şampuanlar bakteri, kepeklenme ve kabuklanmayı giderirler. Pyoderma ile ilişkili kaşıntı,

koku ve yağlanmayı azaltır. Süperfisial pyodermanın klinik olarak düzelmesi en az 14-21 güne kadar belli olmayabilir ve iyileşme umulduğu gibi hızlı olmayabilir.

**İmpetigo (superficial pustular pyoderma):** Bu hastalıktan daha çok 1 (bir) yaşından küçük yavrular etkilenir. Hastalık sıklıkla *Stafilokok* enfeksiyonları sonucu görülür. Klinik bulgu olarak özellikle karın bölgesinde küçük püstüller görülür. Ayrıca kabuklanma ve kepeklenme görülür. Teşhis anamnez, klinik muayene ve bakteriyel kültür sonucuna bakarak konur. Tedavide topikal olarak hidrojen peroksit, klorhexidin ya da benzol peroksit şampuanlar kullanılır. Eğer problem ciddi ise antibiyotikler kullanılmalıdır. Hastalık yavrularda zamanla iyileşebilir.

## 2.GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Örneklerin Toplanması

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi kliniklerinde, İzmir Bornova ve Karşıyaka köpek barınaklarında ve İzmir’ de hizmet veren iki adet özel veteriner kliniğinde farklı ırk, yaş ve cinsiyetteki toplam 100 adet sağlıklı ve de deri lezyonu bulunan köpeğin derilerinden jelli swaplar kullanılarak hasta hayvanlarda lezyonlu, sağlıklı hayvanlarda ise az kıllı bölgeler örnek almak için tercih edildi. Bu bölgelere swaplar sürülerek alınan örneklerin en kısa sürede Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Rutin Teşhis laboratuvarına getirilmesi sağlanmıştır.

### 2.2. Besiyerleri ve Stafilocok Şüpheli Bakterilerin Belirlenmesi

Laboratuvara ulaştırılan örnekler % 5-7 koyun kanlı agara ekim yapılarak 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda üreyen bakterilerin oluşturdukları kolonilerin yapıları ve hemoliz özellikleri de incelenerek stafilocok şüpheli kolonilerden Gram boyama yapıldı.

Gram pozitif, kok formasyonundaki bakterilere % 30’luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile katalaz testi yapıldı. Katalaz testi pozitif olan bakterilere koagulaz testi uygulandı. Toplanan materyallerden izole edilen Stafilocok şüpheli koloniler, makroskopik ve mikroskopik morfolojileri ve biyokimyasal özellikleri değerlendirilerek belirlendikten sonra kontaminasyonu önlemek ve saf koloniler elde etmek amacı ile aynı besiyerine pasajları yapılarak inkübasyona bırakıldı. Üreyen bakteriler makroskopik ve mikroskopik morfolojileri ve biyokimyasal özellikleri tekrar değerlendirilerek *Staphylococcus sp.* olarak doğrulandı. Bu suşlara daha sonra tavşan serumu ile koagulaz testi yapıldı. Lamda aglütinasyon gözlenen suşlar belirlendi.

İdentifiye edilen Stafilocok türlerinde eksfoliatif toksin varlığı PCR tekniği uygulanarak belirlenmek üzere Tryptic Soy Agara pasajları yapılana kadar +4°C’ de muhafaza edildi.



## 2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

### 2.3.1. Stafilokokal DNA İzolasyonu

İzole edilen stafilokoklardan DNA izolasyonu için kaynatma yönteminden yararlanıldı. Bu amaçla stafilokok suşları Trypticase Soy Agar (TSA)'a ekilerek bir gece 37°C'de üretildikten sonra biz öze dolusu saf koloni alınarak, 500 mikrolitrelik DNase-RNase free ependorf tüpünde fizyolojik tuzlu su ile süspanse edildi. Süspansiyen 100 derecede 10 dk kaynatıldıktan sonra 10 000 rpm de 10 dk santrifüj edildikten sonra üstte kalan sıvı alınarak PCR amplifikasyonunda hedef DNA olarak kullanılmak amacı ile -20°C'de bekletilmiştir.

### 2.3.2 Primerler

ETA ve ETB genlerinin sırasıyla 119 ve 200 bp'lik segmentlerini spesifik olarak amplifiye eden primerler Çizelge 2.1'de gösterilmiştir

**Çizelge 2.1.** *S. aureus* eksfoliatif toksin genlerini (*eta* ve *etb*) spesifik olarak amplifiye eden primerler (Johnson ve ark., 1991).

Primer	Sekans (5'-3')	PCR ürünün büyüklüğü (bp)
<i>Eta</i>		
ETA-1	CTA GTG CAT TTG TTA TTC AA	119
ETA-2	TGC ATT GAC ACC ATA GTA CT	
<i>Etb</i>		
ETB-1	ACG GCT ATA TAC ATT CAA TT	200
ETB-2	TCC ATC GAT AAT ATA CCT AA	

### 2.3.3 Standart Suş

ETA ve ETB pozitif *Staphylococ spp* suşları Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim dalından temin edilmiştir.

#### **2.3.4. PCR Karışımı**

PCR 50 µl'lik final hacimde, final konsantrasyonları: 1X PCR buffer, 1,5 mM magnesium chloride, % 0,01 jelatin, her bir dATP, dCTP, dGTP ve dTTP'den 200 µM, her bir primer'den 10 pmol, 2,5 U DNA polimeraz (Taq polimeraz, Fermentas, Litvanya) olacak şekilde eklenerek PCR karışımı hazırlandı. ETA ve ETB için hem multiplex hemde tekli PCR lar yapıldı.

#### **2.3.5. Amplifikasyon Koşulları**

PCR amplifikasyonu, 94°C'de 2 dakika denaturasyon, 55°C'de 2 dakika primer bağlanması ve 72°C'de 1 dakika ekstensiyon aşamasını içeren 30 siklustan oluştu (Johnson ve ark., 1991).

#### **2.3.6. DNA Agaroz Jel Elektroforezi**

Örnekler 20 cm'lik % 3'lük agaroz (Prona, EU) jelde, 90 Volt'ta 60 dakika elektroforez edildi.

### 3.BULGULAR

#### 3.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları

Stafilokok izolasyonu için, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinikleri, İzmir Bornova ve Karşıyaka köpek barınakları ile İzmir’de hizmet veren iki adet özel veteriner kliniğinden, sağlıklı (deri lezyonu bulunmayan) ve hasta (deri lezyonlu) toplam 100 adet köpekten toplanan örnekler kullanıldı. Örnekler Deri lezyonu bulunan köpeklerin lezyonlu bölgelerinden, deri lezyonu bulunmayan sağlıklı köpeklerin ise karın ve koltukaltı bölgelerinden swap alınarak toplandı. Bu örnekler Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Rutin Teşhis Laboratuvarında incelendi.

Besi yerlerine ekimleri yapıldıktan sonra 37 °C’de 24 saat inkubasyona bırakılarak izole edilen Stafilokok şüpheli kolonilerin identifikasyonu için gram boyama ve katalaz testi yapıldı. Pozitif olarak değerlendirilen suşlar saflaştırılarak PCR da kullanılmak üzere kaldırıldı. Sağlıklı ve deri lezyonlu köpeklerin derilerinde üreyen stafilokok türü bakterilerin lezyon bulunup bulunmamasına göre değerlendirilmesi Çizelge 3.1’ de verilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Sağlıklı ve Deri Lezyonlu Köpeklerden İzole Edilen Stafilokok Dağılımı

	Deri Örnekleri		Toplam
	Sağlıklı (66 örnek)	Lezyonlu (34 Örnek)	
<i>Staphylococcus sp.</i>	4	13	17
<i>Koagulaz pozitif</i>	2	4	6
<b>TOPLAM</b>	<b>6 (%11)</b>	<b>17 (%50)</b>	<b>23</b>

Sağlıklı ve deri lezyonlu köpeklerden toplanan 100 adet örneğin 23 tanesi *Staphylococcus sp.* olarak izole edilmiştir. Stafilokok olduğu belirlenen 23 örnekten 6 tanesi koagulaz testi ile pozitif bulundu. Sağlıklı hayvanlardan toplam izole edilen 6 adet

örneğe karşılık lezyonlu köpek deri örneklerinden toplam 17 adet stafilokok izole edilmiştir. 6 örnekten 2 tane ve 17 örnekten ise 4 tane olmak üzere toplam 6 adet koagülaz pozitif *Staphylococcus sp.* gözlenmiştir. Bu durum sağlıklı köpek derilerinde izole edilebilen stafilokok sayısının 2.8 katı kadar fazla sayıda lezyonlu köpekten stafilokok izole edilebildiğini göstermiştir. Lezyonlu hayvanlarda riskin daha fazla olduğu anlaşılmıştır.

### 3.1.2. PCR Sonuçları

*Staphylococcus sp.* eksfoliyatif toksin genlerinin (*ETA* ve *ETB*) sırasıyla 119 ve 200 bp'lik segmentlerini spesifik olarak amplifiye eden primerler kullanılarak yapılan PCR sonucunda 23 adet *Stafilokok suşunun* template DNA'sından 21 tanesi *ETA* yönünden negatif olarak sonuç verirken, 2 adet *Staphylococcus sp.* template DNA'sı *ETA* yönünden pozitif olarak değerlendirildi. Yine 23 izolatin template DNA'sının 21 tanesi *ETB* yönünden negatif ve 2 tanesi *ETB* yönünden pozitif olarak bulundu.

*ETA* ve *ETB* yönünden pozitif olan suşlar farklı örneklerde görüldü. Çalışmamızda izole ettiğimiz 23 Stafilokok suşuna uygulanan PCR prosedüründen sonra Karşıyaka köpek barınaklarından alınan 30 örnek içinden 1 adet *ETA* pozitif ve 1 adet de *ETB* pozitif olarak bant oluşumu izlenmiştir. Her iki örnek de deri lezyonu mevcut köpeklerden alınmış örneklerdir. Bu köpeklerden swap örneği alınırken muayene sonucu Dermatit sorunu olduğu saptanmıştır. İzmir Asya Veteriner kliniğine getirilen 2 yaşlı erkek Golden Retriever ırkı köpekten sol temporal bölgeden alınan swap örneği, yapılan PCR sonucuna göre *ETB* pozitif olarak bulunmuştur. Bu hastaya daha sonra pyoderma teşhisi konulmuş ve tedaviye alınmıştır. İzmir Bornova köpek barınaklarından toplamda 40 adet köpekten swap örneği alınmıştır. Örnekler arasında herhangi bir deri lezyonu bulunmayan 1 adet köpekten alınan örnek *ETA* pozitif bulunmuş 39 adet köpeğe ait diğer swap örneklerinde rastlanamamıştır. Bu sonuçlara göre *ETA* ya da *ETB* pozitifliği bulunan köpeklere ait deri swap örneklerinin büyük çoğunluğunun deri problemleri olan köpeklerde pozitiflik sonucu bulunmuştur.

## 4.TARTIŞMA

Köpeklerde görülen stafilokokal deri infeksiyonlarının epidemiyolojisini anlamak için, köpeklerin deri florasında bulunan stafilokokların özelliklerini ve buldukları vücut bölgelerindeki populasyon büyüklüklerinin bilinmesi gerekmektedir (Sasaki ve ark., 2005). Ancak bu konu ile ilgili yeteri kadar çalışma bulunmamaktadır (Biberstein ve ark., 1984; Devriese ve De Pelsmaecker, 1987). Köpeklerde stafilokokal deri infeksiyonlarının teşhisi ve tedavisi, stafilokokların çeşitli antibiyotiklere karşı direnç kazanmasının yanı sıra enfekte köpeklerden sahiplerine geçerek zoonotik infeksiyonlara neden olduklarının anlaşılması ile daha fazla önem kazanmıştır (Tanner ve ark.,2000; Manian, 2003; Guardabassi ve ark., 2004).

Biberstein ve ark. yaptıkları çalışmada, *S. intermedius*'un köpek deri infeksiyonlarından ve sağlıklı köpek derisinden en çok izole edilen stafilokok türü olduğunu göstermiştir (Biberstein ve ark., 1984; Ihrke, 1987). *S. intermedius* köpek derisinde bulunabildiği gibi, dış kulak yolunda, anal mukozada ve burun boşluğunda da bulunabilmektedir (Sasaki ve ark., 2005). *S. aureus* ise yine köpek deri florasında bulunan ve suppuratif infeksiyonlara neden olabilen diğer bir stafilokok türüdür (Kloos, 1980). *S. schleiferi*, *S. sciuri*, *S. xylosum*, *S. capitis*, *S. chromogenes* ve *S. lentus* köpek derisinden yapılan izolasyonlarda tespit edilen diğer önemli stafilokok türleridir (Nagase ve ark., 2002; Frank ve ark.,2003).

Biberstein ve ark. (1984) yaptıkları bir çalışmada farklı hayvan türlerindeki koagülaz pozitif stafilokokları araştırmışlar ve köpeklerin farklı vücut bölgelerinden (idrâr yolu, pürülan eksudatlar, solunum yolu, iskelet sistemi, üreme sistemi, deri ve kan) elde ettikleri 195 stafilokok izolatından % 91,8'inin *S. intermedius*, % 8,2'sinin *S. aureus* olduğunu saptamışlardır.

Devriese ve De Pelsmaecker (1987) *S. intermedius*'un, daha çok sağlıklı köpeklerin anal ve nazal bölgelerinden izole edildiğini ortaya koymuşlar ve bu vücut deliklerinden özellikle anüsün, *S. intermedius* florasının kaynağını oluşturduğunu öne sürmüşlerdir.

Nagase ve ark. (2002) ise sağlıklı hayvanların derilerinde stafilokok türlerinin varlığını araştırmışlar ve 25 adet ev köpeğinin 10'unda sağlıklı sırt derisinden stafilokok izole etmişlerdir. Köpek piyodermalarında *S. intermedius*' un primer etken olduğu fikrini ortaya çıkarmışlardır.

Hoekstra ve Paulton (2002), farklı yaş ve cinsiyetteki 2206 köpeğin farklı bölgelerinden (burun, göz, kulak, genital bölge, abse, deri ve boğaz) elde ettikleri 867 *S. aureus* ve 1339 adet izolatının lokalizasyon, yaş, cinsiyetle ilişkisi ve antibiyotik duyarlılıklarını araştırdıkları bir çalışmada deri lezyonlu köpeklere ait 325 burun izolatından 153'ünün *S. aureus*, 172'sinin *S. intermedius* olduğunu ortaya koymuşlardır. Aynı çalışmada deri 47 lezyonlu köpeklere ait 311 deri izolatından 54'ü *S. aureus* olarak bulunurken, 257'sinin *S. intermedius* olduğu saptanmıştır.

Bu araştırmada, deri lezyonu bulunan köpeklerin lezyonlu bölgelerinden, sağlıklı köpeklerin ise tüysüz bölgelerinden swap örnekleri toplandı. 34 adet deri lezyonu mevcut olan toplam 100 adet köpekten alınan deri örneklerinden 23 adedi *Staphylococcus* sp. olarak belirlendi.

*S. intermedius*'un primer etkeni olduğu bilinen kanin piyoderma, özellikle süperfisiyal piyoderma, eritem, vezikül formasyonu, sarımsı eksudat, sarıkahverengi kabuklanmalar ve epidermisin üst katmanlarının soyulmasıyla karakterize derinin generalize bir infeksiyonudur (Ihrke, 1987; Hill ve Moriello, 1994). Bu tarz klinik bulgular insanlarda görülen SHDS ve domuzlarda görülen (EE)'te şekillenen semptomlara benzer bulgulardır (Melish ve Glasgow, 1970; Hesselbarth ve ark., 1994; Terauchi ve ark., 2003b). Bu yüzden SHDS'nin ve EE'nin etiolojisinde yer alan eksfoliatif toksinin köpek piyodermalarda da rol alıp almadığı tartışma konusu olmuştur (Hesselbarth ve ark., 1994; Terauchi ve ark., 2003b).

Günümüze kadar insanlarda *S. aureus*'a ait; ETA, ETB (Kondo ve ark., 1973, 1974), ETC (Sato ve ark., 1994) ve ETD (Yamaguchi ve ark., 2002; Prevost ve ark., 2003), domuzlarda *S. hyicus*'a ait; SHETA, SHETB (Sato ve ark., 1991, 1999) ve SHETC (Prevost ve ark., 2003), yine domuzlarda *S. chromogenes*'e ait; SCET (Sato ve ark., 2004) eksfoliatif toksin tipleri tanımlanmıştır.

Köpeklerde ilk defa Terauchi ve ark. (2003b) *S. intermedius*'un eksfoliatif toksinini (SIET) piyodermal köpeklerin derilerinden izole ettikleri 60 *S. intermedius* suşundan elde etmeyi başarmışlardır.

Köpeklerde eksfoliatif toksin izolasyonu ile ilgili başka bir çalışmada da (H. Kaan MUSTAK ve ark.) eksfoliatif toksin izolasyonu için Terauchi ve ark. (2003)'larının kullandığı yöntemi benimsemişlerdir. İzole edilen diğer stafilokok türlerinden, eksfoliatif toksin izolasyonu için de aynı yöntemi kullanmışlardır. Çalışmanın moleküler kısmı için izole edilen türlerden sadece *S. aureus*'un eksfoliatif toksin tiplerine (*etb* ve *etb*) spesifik primerler kullanmışlardır. 50 adet deri lezyonlu ve 50 adet sağlıklı hayvanların, deri ve burunlarından izole ettikleri 54 *S. intermedius*, 12 *S. aureus*, 2 *S. chromogenes* ve 1 *S. capitis* izolatının eksfoliatif toksin varlığı yönünden araştırılmasını sağlamışlardır. *S. chromogenes* ve *S. capitis*'in eksfoliatif toksin sentezlediğine ilişkin bir bulguya rastlamamış ancak incelenen *S. intermedius* izolatlarının tamamında fenotipik olarak, eksfoliatif toksin varlığı; hayvan deneyinde, hücre kültüründe (farklı sulandırmalarda), SDS-PAGE'de ve histopatolojik incelemeden aldıkları pozitif sonuçlar ile ortaya koymuşlardır. İnceledikleri *S. intermedius*'un eksfoliatif toksinini kodlayan gen olan *siet*'i amplifiye eden spesifik primer dizaynının geliştirilmesi gerektiğini ortaya koymuşlardır. Köpeklerden izole edilen *S. aureus* 'ların tamamının sadece ETB sentezlediği görmüşlerdir. İlk defa köpek derisinden izole edilen *S. aureus* izolatlarının eksfoliatif toksin sentezlediği gösterilmiştir.

SHDS'li hastalardan izole edilen *S. aureus*'larda ETA ve ETB varlığının araştırılması ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır (Hayakawa ve ark., 1998). Ancak, sadece insan izolatları mı yoksa hayvan *S. aureus* izolatları da ETA ve ETB sentezleyebilir mi sorusu halen açıklığa kavuşmamıştır. Hayvanların eksfoliatif toksin üreten stafilokokları taşıyabileceklerini ve insanlarda, özellikle çocuklarda görülen stafilokokal infeksiyonların rezervuarı olabileceklerini bazı araştırmacılar göstermişlerdir.

Murono ve ark. (1988) SHDS'li insanlardan izole ettikleri 26 *S. aureus* suşunun 24'ünün eksfoliatif toksin sentezlediğini bildirmişler. Hayakawa ve ark. (1998) mastitisli sığırların sütlerinden izole ettikleri 328 *S. aureus*'un hiçbirinde ETB'ye rastlamazlarken, 3'ünde ETA saptamışlardır.

Manian (2003), diabetli bir erkek hasta ve eşinde tekrarlayan metisilin-dirençli *S. aureus* infeksiyonu tespit etmiş ve aile köpeklerinin burnundan yaptığı izolasyonda; erkek hastanın burnundan, eşinin ise yarısından yapılan izolasyonlarda identifiye edilen metisilin-dirençli *S. aureus* suşuna rastlamıştır. Benzerliği Pulsed-Field Jel Elektroforezi ile tespit eden Manian (2003), köpeğin burnundaki metisilin-dirençli *S. aureus*'u eradike ettikten sonra ailenin tekrarlayan metisilin-dirençli *S. aureus* infeksiyonunu ortadan kaldırmıştır. Buna benzer çalışmalarda *S. aureus* ve *S. intermedius*'un hayvanlardan insanlara geçebildiği gösterilmiştir (Tanner ve ark., 2000; Guardabassi, 2004).

Çalışmamızda İzmir ve Aydın bölgesinde özel veteriner klinikleri ve köpek barınakları olmak üzere 4 ayrı yerden izole ettiğimiz 23 Stafilokok suşuna uygulanan PCR prosedüründen sonra 2 adet köpek barınağı ve 1 adet özel veteriner kliniğinden alınan örnekler arasından, 4 ayrı suş içinde 2' şer adet suş ETA ve ETB pozitif olarak bulunmuştur. Bir köpek barınağından alınan toplam 30 örnek içinden 1 adet ETA pozitif ve 1 adet de ETB pozitif olarak bant oluşumu izlenmiştir. Her iki örnek de deri lezyonu mevcut köpeklerden alınmış örneklerdir. Bu köpeklerden swap örneği alınırken muayene sonucu Dermatit sorunu olduğu saptanmıştır. Özel veteriner kliniğine getirilen 2 yaşlı erkek Golden Retriever ırkı köpekten sol temporal bölgeden alınan swap örneği, yapılan PCR sonucuna göre ETB pozitif olarak bulunmuştur. Bu hastaya daha sonra pyoderma teşhisi konulmuş ve tedaviye alınmıştır. Toplamda 40 adet köpekten swap örneği alınan bir diğer barınakta, herhangi bir deri lezyonu bulunmayan 1 adet köpekten alınan örnek ETA pozitif bulunmuş 39 adet köpeğe ait diğer swap örneklerinde rastlanamamıştır. Bu sonuçlara göre ETA ya da ETB pozitifliği bulunan köpeklere ait deri swap örneklerinin büyük çoğunluğunun deri problemleri olan köpeklerde pozitiflik sonucu bulunmuştur. Tüm bu çalışmalar ışığında stafilokokların köpekler için olduğu kadar insan sağlığı için de öneminin ne derece büyük olduğu anlaşılabilir. Zoonoz infeksiyonlara neden olabilecekleri yadsınamaz bir gerçektir.



## 5.SONUÇ

İnsanlara en yakın hayvan türü olan köpeklerde deri infeksiyonlarından sorumlu stafilocokların çeşitli antibiyotiklere karşı direnç kazanmasının yanı sıra enfekte köpeklerden sahiplerine geçerek zoonotik infeksiyonlara neden oldukları birçok çalışma ile kanıtlanmıştır. Pyodermalardaki rollerinin iyi bilinmesinin önlem ve tedavi için önemini orta koymak adına çalışmalar çeşitlendirilmelidir. Köpek deri ve burunlarından sıklıkla izole edilen stafilocoklardan eksfoliatif toksin izole edilmesi bu toksinin, insanlarda görülen SHDS'lerde olduğu gibi canine pyodermalarında etkili olup olmadığını göstermek için çalışmalar mevcuttur.

Epidermolitik toksin olarak da bilinen eksfoliatif toksin, stafilocok enfeksiyonlarının vezikuler ve eksfoliyatif deri lezyonlarından sorumlu olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya çıkmıştır. Haşlanmış deri sendromu da bu toksinle oluşur. Eksfoliyatif toksinin iki farklı şekli olan ETA ve ETB nin her ikisi de hastalık yapabilir. ETA ısıya dirençli ve geni kromozomaldır. ETB ise ısıya duyarlı ve plazmid aracılıdır (Bilgehan H. 2004). Ultrastrüktürel çalışmalar, serin proteazlar olan bu toksinlere maruz kalma sonucunda epidermisin stratum granulosum tabakasındaki intrasellüler köprüler (desmozomlar)'in ayrılmasının gerçekleştiğini göstermiştir. Bu olayın tam mekanizması hala bilinmemektedir. Epidermisin toksine maruz kalması sonucu koruyucu nötralizan antikorlar gelişir. ETA ve ETB, duyarlı yenidoğanların epidermisinde bulunup büyük çocuk ve erişkin epidermisinde bulunmayan GM4 benzeri glikopeptidlere bağlanır. (Livermore 2000).

Çalışmamızda 3 farklı yerden izole ettiğimiz 23 adet *Staphylococcus sp.* suşlarının template DNA'sını ETB ve/veya ETA açısından incelediğimizde 21 tanesi ETA negatif olarak sonuç verirken, 2 tanesi ETA yönünden pozitif ve 23 adet *Staphylococcus sp.* suşlarının template DNA'sından farklı 2 adet suş template DNA'sı da ETB yönünden pozitif, 21 adet ise negatif sonuç verdiği görüldü.

## ÖZET

### **Köpeklerin Derilerinden Stafilokok Türlerinin İzolasyonu ve Eksfoliatif Toksin Varlığının Belirlenmesi**

Stafilokoklar doğada; tozda, toprakta, hayvanların deri, mukoza dokularında ve salgılarında yaygın olarak bulunan, insanların deri, burun boşluğu ve lezyonlarında çoğalan bakterilerdir. Bu bakterilerin insanlarda en sık deri enfeksiyonlarına neden oldukları bilinmektedir. Köpeklerde de neden oldukları deri problemlerinin başında pyoderma gelmektedir. Pyodermalarda, insanlardaki SHDS vakalarından sorumlu eksfoliatif toksin ETA ve ETB' nin rol alabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, farklı ırk, yaş ve cinsiyetteki toplam 100 adet sağlıklı ve deri lezyonu bulunan köpeğin derilerinden izole edilen stafilokok türlerinde eksfoliatif toksin varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır. İzolasyonu yapılan Stafilokok suşlarında eksfoliatif toksin varlığı PCR tekniği uygulanarak belirlenmiştir. Toplanan 100 adet örnekten 23 tanesi *Staphylococcus* olarak saptanmıştır. Bu örneklerden 23 adet *Staphylococcus sp.* template DNA'sından 21 tanesi ETA negatif olarak sonuç verirken, 2 adet *suş* template DNA'sı ETA yönünden pozitif sonuç vermiştir. Aynı şekilde bu 23 suшта ETB incelendiğinde ise yine 21 suş ETB negatif farklı 2 adet suшта ETB yönünden pozitif olarak bulunmuştur. ETA pozitif ve ETA negatif suşlar farklı örneklerde tesbit edilmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada izole edilen *Staphylococ*'ların eksfoliatif toksin sentezleyebildikleri gösterilmiş olup yüksek izolasyon oranlarından dolayı canine pyodermaların etiolojisinde rol aldıkları gözlenmiştir.

**Anahtar sözcükler:** stafilokok, eksfoliatif toksin, pyoderma

## **SUMMARY**

### **Isolation of Staphylococcus spp from dogs skin and Determining the Existence of Exfoliative Toxin**

Staphylococci are widely found in nature, mucosa and skin of yeh animals and also grow in the nasal cavity and lesions of human. This bacteria is known to cause skin infections in human. In the dogs, this bacteria causes pyoderma. In pyoderma infections, ETA and ETB takes role in SHDS cases in human.

In our study, it is aimed to detect exfoliative toxin from 100 dogs from healthy and infected dogs with differend breed, age and gender. The exfoliative toxins of Staphylococci was detected by PCR technique. 23 samples were detected as Staphylococci out of 100 samples. Out of these 23 samples, 21 of them were ETA negative for template DNA, 2 of them were ETB positive. for template DNA 2 of strains were negative for ETA, and positive for ETA. When ETB was examined from these 23 strains 21 of them were ETA negative for template DNA, 2 of them were ETB positive.

As a result, in this study, it is presented that Staphylococci could produce exfoliative toxin and high isolation ratios could take role in canine pyoderma aetiology.

**Keywords:** staphylococci, exfoliative toxin, pyoderma

## KAYNAKLAR

**Adlam C, Easmon CSF** (1983) Immunity and hypersensitivity to staphylococcal infection. In *Staphylococci and Staphylococcal infections*. pp. 275–323 Academic Press

**Alen S, Koneman E, Janda W, Schreckenberger P, Winn W, Woods G, Procop G.** The gram-positive cocci: Part I: *Staphylococci* and related organisms. In *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, eds. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. p. 539-576.

**Akan, M.** (2006). Staphylococcus infeksiyonları. In: *Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar)*, Ed.: N. Aydın, J. Paracıkoğlu, Ankara: İlke-Emek Yayınları, Bölüm 2.

**Algan, T.,** (1995). Değişik Hasta Materyallerinden İzole Edilen Stafilokokların Cins ve Tür Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans, *Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Trabzon, 1-41

**Amagai, M., Yamaguchi, T., Hanakawa, Y., Nishifuji, K., Sugai, M., Stanley, J.R.** (2002) Staphylococcal exfoliative toxin B specifically cleaves desmoglein 1. *J. Invest. Dermatol.* **118**, 845–850

**Arbuthnott, J.P., Coleman, D.C., De Azavedo, J.S.** (1990). Staphylococcal Toxins İn Human Disease. *J. Appl. Bacteriol. Sym. Suppl.* 101s- 107s.

**Arbuthnott, J. P., J. Kent, A. Lyell, C. G. Gemmell.** (1972). Studies of staphylococcal toxins in relation to toxic epidermal necrolysis (the scalded skin syndrome). *Br. J. Dermatol.* **86**:35–39.

**Archer GL.** (1990). *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase negative *Staphylococci*. In: Mandel GL, Douglas RG, Bennett JE (eds.). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 3rd ed., Melbourne, Churchill Livingstone,; 1511-1517.

**Aydın N, İzgür M, Diker KS, Yardımcı H, Esenal Ö, Paracıkoğlu J, Akan M.** *Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar)*. ANKARA: İlke-Emek Yayınları; 2006. P. 5-13.

**Bailey, C. J., M. B. Redpath.** 1992. The esterolytic activity of epidermolytic toxins. *Biochem. J.* **284**:177–180.

**Bannerman TL.** (2003). Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase positive cocci that grow aerobically. In *Manual of Clinical Microbiology*, Murray PR, Baron EJ, Tenover FC, Tenover JC, eds. 8th ed.. Washington, DC: ASM Press. p. 384-404.

**Bayles, K. W., J. J. Landolo.** (1989). Genetic and molecular analyses of the gene encoding staphylococcal enterotoxin D. *J. Bacteriol.* **171**:4799-4806.

**Bergdoll, M. S.** (1983). Enterotoxins, Staphylococci and staphylococcal infections. Academic Press, Inc. New York., p.559-598.

**Biberstein, E.L., Jang, S.S., Hirsh, D.C.** (1984). Species distribution of coagulase-positive staphylococci in animals. *J. Clin. Microbiol.*, **19**: 610-615.

**Bilgehan H** (2002) *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. İzmir, Barış Yayınları, 3.Basım.;35-5.

**Brooks GF, Butel JS, Morse SA** (2004). The staphylococci, pp: 223-230. In: Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology., 23rd ed. McGraw-Hill Co. International Edition, USA.

**Cengiz SA.** *Koagülaz Negatif Stafilokoklar*. Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji. Cengiz AT, editör. Ankara: Güneş Kitabevi, TÜRKİYE; 2004. s: 351-60.

**Colin A.** (2002) *Staphylococcal vaccines trends in Immunology* Vol.23 No.9 September:461-462

**Devriese, L.A.** (1990). Staphylococci in healthy and diseased animals. *J. Appl. Bacteriol. Sym. Suppl.* 71S- 80S.

**Devriese, L.A., De Pelsmaecker, K.** (1987). The anal region as a main carrier site of *Staphylococcus intermedius* and *Streptococcus canis* in dogs. *Vet. Rec.*, **121**: 302-303.

**Duquette RA, Nuttall TJ** (2004) *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in dogs and cats: an emerging problem?* J Small Anim Pract;45(12):591-97.

**Farrell AM.** (1999) Staphylococcal scalded-skin syndrome. *Lancet*;354:880-1.

**Fleischer, B., C. J. Bailey.** (1992). Recombinant epidermolytic (exfoliative) toxin A of *Staphylococcus aureus* is not a superantigen. *Med. Microbiol. Immunol.* **180**:273-278.

**Francois P, Schrenzel J, Stoerman-Chopard C, Favre H, Hermann M, Foster TJ, Lew DP, Vaudaux P** (2000) *Identification of plasma proteins adsorbed on hemodialysis tubing that promote Staphylococcus aureus adhesion.* J Lab Clin Med;135:32-42.

**Frank, L.A., Kama, S.A., Hnilca, K.A., Wilkes, R.P., Bemis, D.A.** (2003). Isolation of *Staphylococcus schleiferi* from dogs with pyoderma. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **222**: 451-454.

**Fukuda, S., Tokuna, H., Ogawa, H., Sasaki, M., Kishimoto, T., Kawano, J., Shimizu, A., Kimura, S.** (1984). Enterotoxigenicity of *Staphylococcus intermedius* strains isolated from dogs. *Zentralb. Bacteriol. Microbiol. Hyg.* **258**: 360-367.

**Gemmell CG.** (1995) Staphylococcal scalded skin syndrome. *J Med Microbiol*;43:318-27.

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

**Guardabassi, L., Loeber, M.E., Jacobson, A.** (2004). Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. *Vet. Microbiol.*, **98**: 23-27.

- Hanakawa, Y., Schechter, N.M., Lin, C., Garza, L., Li, H., Yamaguchi, T., Fudaba, Y., Nishifuji, K., Sugai, M., Amagai, M., Stanley, J.R.** (2002). Molecular mechanisms of blister formation in bullous impetigo and staphylococcal scalded skin syndrome. *J. Clin. Invest.* 110, 53–60
- Hartmann, F.A., White, D.G., West, S.E.H., Walker, R.D., Deboer, D.J.** (2005). Molecular characterization of *Staphylococcus intermedius* carriage by healthy dogs and comparison of antimicrobial susceptibility patterns to isolates from dogs with pyoderma. *Vet. Microbiol.*, **108**: 119-131.
- Hebert GA, Cooksey RC, Clark NC, Hill BC, Jarvis WR, Thornsberry C.** *Biotyping Coagulase-Negative Staphylococci.* J Clin Microbiol; 1988. 26: p. 1950–6.
- Hesselbarth, J., Flachsbarth, M.F., Amtsberg, G.** (1994). Studies on the production of an exfoliative toxin by *Staphylococcus intermedius*. *J. Vet. Med.*, **41**: 411-416.
- Hill, P.B., Moriello, K.A.** (1994). Canine pyoderma. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **204**: 334-340.
- Hoekstra, K.A., Paulton, R.J.L.** (2002). Clinical prevalence and antimicrobial susceptibility *Staphylococcus aureus* and *Staph. Intermedius* in dogs. *J. Appl. Microbiol.*, **93**: 406-413.
- Ihrke, P.J.** (1987). An overview of bacterial skin disease in the dog. *Br. Vet. J.*, **143**: 112-118.
- Kloss, W.E.** (1980). Natural populations of the genus *Staphylococcus*. *Annu. Rev. Microbiol.*, **34**: 559-592.
- Kloos WE, Smith PB.** *Staphylococci.* In: Lenette, E.H, Balows, A., Hausler, W.J., Shadomy, H.J. (eds): *Manuel of Clinical Microbiology.* 4th ed., Washington D.C., ASM Press; 1994. p. 143-153.
- Kondo, I., Sakurai, S., Sarai, Y.** (1973). Purification of exfoliatin produced by *Staphylococcus aureus* of bacterio-phage group 2 and its physicochemical properties. *Infect. Immun.*, **8**: 156-164.
- Kondo, I., Sakurai, S., Machida, K.** (1974). New type of exfoliatin obtained from staphylococcal strains, belonging to phage groups other than group 2, isolated from patients with impetigo and Ritter's disease. *Infect. Immun.*, **10**: 851-861.
- Ladhani, S., Joannou, C.L., Lochric, D.P., Evans, R.W., Poston, S.M.** (1999). Clinical, microbial and biochemical aspects of the exfoliative toxins causing staphylococcal scalded skin syndrome. *Clin. Microbiol. Rev.*, **12**: 224-242.
- L'Ecuyer, C., K. Jercho.** (1966). Exudative epidermitis in pigs: etiological studies and pathology. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 30:94-101.
- Lee, C.Y., Schmidt, J.J., Johnson-Winegar, A.D., Spero, L., Iandolo, J.J.** (1987) Sequence determination and comparison of the exfoliative toxin A and toxin B genes from *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* **169**, 3904–3909.

- Leonard FC, Abbott Y, Rossney A, Quinn PJ** (2006) *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated from a veterinary surgeon and five dogs in one practice.* Vet Rec.;158(5):155-59.
- Lilenbaum W, Nunes EL, Azeredo MA** (1998) *Prevalence and antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from the skin surface of clinically normal cats.* Lett Appl Microbiol;27(4):224-28.
- Lillibridge, C. B., M. E. Melish, L. A. Glasgow.** (1972). Site action of exfoliative toxin in the staphylococcal scalded skin syndrome. Pediatrics **50**:728–738.
- Lockley, R. M.,** (1998). “*Staphylococcal Infections*”, In Braunwald, E., Isselbacher, K. J., Petersdorf, R. G., Wilson, J. D., Principles of Internal Medicine, *Mc Grow- Hill Book Company*, New York, 1: 539-543
- Machida, K., S. Sakurai, I. Kondo, S. Ikawa.** (1988). Relationship between susceptibility and immune response to staphylococcal exfoliative toxin A in mammalian species. Microbiol. Immunol. 32:1079-1084.
- Manian, F.A.** (2003). Asymptomatic nasal carriage of mupirocin-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a pet dog associated with MRSA infection in household contacts. *Clin. Infect. Dis.*, **36**: 26-28.
- Marrack, P.,J. Kappler.** (1990). The staphylococcal enterotoxins and their relatives. Science 248:705-711.
- Mason WJ, Blevins JS, Beenken K, Wibowo N, Ojha N, Smeltzer MS** (2001) *Multiplex PCR protocol for the diagnosis of staphylococcal infection.* J Clin Microbiol.;39(9):3332-8.
- May, E.R., Hnilca, K.A., Frank, L.A., Jones, R.D., Bemis, D.A.** (2005). Isolation of *Staphylococcus schleiferi* from healthy dogs and dogs with otitis, pyoderma, or both. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **227**: 928-931.
- Medleau, L., Long, R.E., Brown, J., Miller, W.H.** (1986). Frequency and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* species isolated from canine pyodermas. *Am. J. Vet. Res.*, **47**: 229-231.
- Melish, M. E., L. A. Glasgow, M. D. Turner.** (1972). The staphylococcal scalded-skin syndrome: isolation and partial characterization of the exfoliative toxin. *J. Infect. Dis.* 125:129-140.
- Monday, S. R., G. M. Vath, W. A. Ferens, C. Deobald, J. V. Rago, P. J. Gahr, D. D. Monie, J. J. Iandolo, S. K. Chapes, W. C. Davis, D. H. Ohlendorf, P. M. Schlievert, G. A. Bohach.** (1999). Unique superantigen activity of staphylococcal exfoliative toxins. *J. Immunol.* **162**:4550–4559.
- Morlock, B. A., L. Spero, A. D. Johnson.** (1980). Mitogenic activity of staphylococcal exfoliative toxin. *Infect. Immun.* **30**:381–384.

**Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller PA** (2005) *Medical Microbiology; 4th ed.* Philadelphia: Elsevier:203-12;221-36.

**Neeling AJ, van den Broek MJ, Spalburg EC, van Santen-Verheuevel MG, Dam-Deisz WD, Boshuizen HC** (2007) *The case of Staphylococci.* *Vet Microbiol*;122:366.72.

**Nagase N., Sasaki, A., Yamashita, K., Shimizu, A., Wakita, Y., Kitai, S., Kawano, J.** (2002). Isolation and species distribution of staphylococci from animal and human skin. *J. Vet. Med. Sci.*, **64**: 245-250.

**Öztürkcan S, Şahin MT.**(2005) Piyodermalar. Pediyatrik dermatoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; s. 581-4.

**Papageorgiou, A. C., L. R. W. Plano, C. M. Collins, K. R. Acharya.** Structural differences in *Staphylococcus aureus* exfoliative toxins A and B as revealed from their crystal structures. *Protein Sci.*, in press.

**Patrick CCP.** Coagulase negative *Staphylococci*: pathogens with increasing clinical significance. *The Journal of Pediatrics*; 1990. 116: 497-507.

**Prevost G., Couppie, P., Monteil, H.** (2003). Staphylococcal epidermolysins. *Curr. Opin. Infect. Dis.*, **16**: 71-76.

**Prevost, G., S. Rifai, M. L. Chaix, S. Meyer, Y. Piemont.** (1992). Is the His72, Asp120, Ser195 triad constitutive of the catalytic site of staphylococcal exfoliative toxin A? *FEMS Symp.* **23**:488–489.

**Pre'vost, G., S. Rifai, M. L. Chaix, Y. Pie'mont.** (1991). Functional evidence that the Ser-195 residue of staphylococcal exfoliative toxin A is essential for biologic activity. *Infect. Immun.* **59**: 3337–3339.

**Rago J.V., Vath, G.M., Tripp, T.J., Bohach, G.A., Ohlendorf, D.H., Schlievert, P.M.** (2000) Staphylococcal exfoliative toxins cleave alpha- and beta-melanocyte stimulating hormones. *Infect. Immun.* **68**, 2366–2368

**Ren K., Jason D. Bannan, Vijaykumar P., Ambrose L.C, John C. Robbins, Vincent A. Fischetti, John B. Zabriskie** (1994). Characterization and Biological Properties of a New Staphylococcal Exotoxin. *Laboratory of Bacterial Pathogenesis and Immunology, The Rockefeller University, New York 10021*

**Rifai S., V. Barbancon, G. Prevost, Y. Piemont.** (1989). Synthetic exfoliative toxin A and B DNA probes for detection of toxigenic *Staphylococcus aureus* strains. *J. Clin. Microbiol.* **27**:504-506.

**Sakurai, S., H. Suzuki, I. Kondo.** (1987). Cloning of the gene for staphylococcal exfoliative toxin A and its expression in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett.* **42**:63-67.



- Sakurai, S., H. Suzuki, S. Saito, Y. Konishi, K. Machida, M. Kohno.** (1998). New evidence that the Tyr-157 and Tyr-159 residues of staphylococcal exfoliative toxin B are essential for its toxicity. *Microbiol. Immunol.* **42**: 829–836.
- Sasaki, A., Shimizu, A., Kawano, J., Wakita, Y., Hayashi, T., Ootsuki, S.** (2005). Characteristics of *Staphylococcus intermedius* isolates from diseased and healthy dogs. *J. Vet. Med. Sci.*, **67**: 103-106.
- Sato, H., Matsumori, Y., Tanabe, T., Saito, H., Shimizu, A., Kawano, J.** (1994). A new type of staphylococcal exfoliative toxin from a *Staphylococcus aureus* strain isolated from a horse with phlegmon. *Infect. Immun.*, **62**: 3780-3785.
- Şentürk, S., Özel, E., Sen, A.** (2005). Clinical efficacy of rifampicin for treatment of canine pyoderma. *Acta. Vet. Brno.*, **74**: 117-122.
- Stepan, J., Pantucek, R., Doskar, J.** (2004). Molecular diagnostics of clinically important staphylococci. *Folia. Microbiol.*, **49**: 353-386.
- Takiuchi, I., M. Kawamura, T. Teramoto, D. Higuchi.** (1987). Staphylococcal exfoliative toxin includes casein-hydrolyzing activity. *J. Infect. Dis.* **156**:508–509
- Tanabe, T., Sato H., Kuramoto M., Saito H.** (1992). Purification of Exfoliative Toxin Produced by *Staphylococcus hyicus* and Its Antigenicity. Kitasato University, Towada, Aomori 034, Japan
- Tanner, M.A., Everett, C.L., Youvan, D.C.** (2000). Molecular phylogenetic evidence for noninvasive zoonotic transmission of *Staphylococcus intermedius* from a canine pet to a human. *J. Clin. Microbiol.*, **38**: 1628-1631.
- Terauchi, R., Sato, H., Hasegawa, T., Yamaguchi, T., Aizawa, C., Maehara, N.** (2003). Isolation of exfoliative toxin from *Staphylococcus intermedius* and its local toxicity in dogs. *Vet. Microbiol.*, **94**: 19-29.
- Vath, G. M., C. A. Earhart, D. D. Monie, J. J. Iandolo, P. M. Schlievert, D. H. Ohlendorf.** (1999). The crystal structure of exfoliative toxin B: a superantigen with enzymatic activity. *Biochemistry* **38**:10239–10246.
- Vath, G.M., Earhart, C.A., Rago, J.V., Kim, M.H., Bohach, G.A., Schlievert, P.M., Ohlendorf, D.H.** (1997) The structure of the superantigen exfoliative toxin A suggests a novel regulation as a serine protease. *Biochemistry* **36**, 1559–1566
- Wiley, B. B., L. A. Glasgow, M. Rogolsky.** (1976). Staphylococcal scalded-skin syndrome: development of a primary binding assay for human antibody to the exfoliative toxin. *Infect. Immun.* **13**: 513–520.
- Wiley, B. B., M. Rogolsky.** (1977). Molecular and serological differentiation of staphylococcal exfoliative toxin synthesized under chromosomal and plasmid control. *Infect. Immun.* **18**: 487–494.

**Yamaguchi, T., Nishifuji, K., Sasaki, M., Fudaba, Y., Aepfelbacher, M., Takata, T., Ohara, M., Komatsuzawa, H., Amagi, M., Sugai, M.** (2002). Identification of the *Staphylococcus aureus* *etd* pathogenicity island which encodes a novel exfoliative toxin, ETD, and EDIN-B. *Infect. Immun.*, **70**: 5835-5845.

**Younger, JJ., Christensen GD, Bartley DL, Simmons JCH, Barrett FF.** *Coagulase negative Staphylococci* isolated from cerebrospinal shunts: importance of slime production, species identification and shunt removal to clinical outcome. *The Journal of Infectious Diseases*; 1987. 156: 548-554.

**Zollner, T. M., M. E. Munk, T. Keller, V. Nuber, W.-H. Boehncke, S. H. E. Kaufmann, A. M. Duijvestijn, W. Sterry, R. Kaufmann.** (1996). The superantigen exfoliative toxin induces cutaneous lymphocyte-associated antigen expression in peripheral human T lymphocytes. *Immunol. Lett.* **49**: 111– 116.

## ÖZGEÇMİŞ

C. Şule YILMAZ, 1982 yılında Aydın' da doğdu. 2001 yılında girdiği Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 2007 yılında mezun oldu. Ekim 2009'den bu yana, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimini sürdürmektedir. 2007 yılından bu yana Ata Fen Veteriner Hizmetleri ve Hayvancılık Sanayi ve Ticaret A.Ş.' de Deney Hayvanları Birim Sorumlusu olarak mesleğini sürdürmektedir. Evli olup, yabancı dil olarak "İngilizce" bilmektedir.

## TEŞEKKÜR

Tez çalıőmamda ilgi, yardım ve hoőgörösünü eksik etmeyen ADÜ Veteriner Fakóltesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Baőkanı Prof. Dr. Osman KAYA'ya ve araőtırmanın her aőamasında yardımlarını esirgemeyen danıőmanım Yrd. Doç. Dr. Serap SAVAŞAN'a ve Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri ile Araştırma Görevlilerine, Atafen Veteriner Malzemeleri Hayvancılık ve Ticaret Anonim Őirketi iőveren ve çalıőanlarına, ayrıca tüm aileme destek ve anlayıőlarından dolayı sonsuz teşekkür ederim.