



T.C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

VETERİNER FAKÜLTESİ'NDE YETİŞTİRİLEN HAYVANLAR  
VE ÇEVRESEL ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN METİSİLİN  
DİRENÇLİ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA)  
İZOLATLARININ EPİDEMİYOLOJİK YÖNDEN  
İNCELENMESİ

Alperen YÜCEL  
VETERİNER MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Sibel KIZIL

KIRIKKALE-2025



T.C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

VETERİNER FAKÜLTESİ'NDE YETİŞTİRİLEN HAYVANLAR  
VE ÇEVRESEL ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN METİSİLİN  
DİRENÇLİ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA)  
İZOLATLARININ EPİDEMİYOLOJİK YÖNDEN  
İNCELENMESİ

Alperen YÜCEL

VETERİNER MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Sibel KIZIL

KIRIKKALE-2025

Alperen YÜCEL tarafından hazırlanan VETERİNER FAKÜLTESİ'NDE YETİŞTİRİLEN HAYVANLAR VE ÇEVRESEL ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN METİSİLİN DİRENÇLİ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA) İZOLATLARININ EPİDEMİYOLOJİK YÖNDEN İNCELENMESİ" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Sibel KIZIL

Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale Üniversitesi

İmza.....

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.

Başkan : Prof. Dr. Murat YILDIRIM

Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale Üniversitesi

İmza.....

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.

Üye : Prof. Dr. Hamit Kaan MÜŞTAK

Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

İmza.....

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.

Tez Savunma Tarihi: 18/06/2025

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof. Dr. Zeynep TEZEL

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

# ETİK BEYANI

Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Alperen YÜCEL

18.06.2025



# ÖZET

## VETERİNER FAKÜLTESİ'NDE YETİŞTİRİLEN HAYVANLAR VE ÇEVRESEL ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN METİSİLİN DİRENÇLİ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA) İZOLATLARININ EPİDEMİYOLOJİK YÖNDEN İNCELENMESİ

Kırıkkale Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr Sibel KIZIL

Haziran 2025, 96

Birçok bakteri kendisine karşı kullanılan antibiyotiklere direnç geliştirerek, tedavide zorluklara ve dirençli bakterilerin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Bu bakterilerden birisi de dünyada oldukça yaygın olan ve tedavisi güçleşen *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)'dur. *S. aureus* enfeksiyonlarında ve salgınlarında, hayvan hastanelerinde çalışan insanlar dahil, hayvanlarda tür farketmeksizin geçiş yapabilen *S. aureus* klonları saptanmış ve kısa sürede bulaşma ve türler arası geçiş tespit edilmiştir.

Bu araştırmada Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi'nde yetiştirilen hayvanlar (at, koyun, kanatlı) ve çevresel örneklerden European Union Antimicrobial Resistance Reference Laboratory (EURL-AR) ve The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) protokolleri kullanarak, Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) izole ve tanımlanmıştır. Hayvanlardan ve çevresel örneklerden 4 at, 19 koyun, 9 tavuk, 4 bildircin olmak üzere, toplam 36 adet hayvanın üst solunum yolundan (memelilerden burun mukozasından; kanatlılarda koanadan) ve deriden (memelilerden burun çevresinden; kanatlılardan kanat altından), hayvan başına 2 numune olmak üzere, toplam 72 numune ile 28 çevresel örnek (hayvanların yemlik ve suluklarından) steril svap ile alınmıştır. Hayvanlardan ve çevresel örneklerden alınan svaplar, 10 ml % 6.5 NaCl'li Mueller-Hinton Broth içeren tüplere alınarak, 35-37°C'de, 16-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ön zenginleştirme sonrasında, her tüpten 10 µl bir öze dolusu örnek alınıp, MRSA Chromogenic Modified Agar'a yayılarak ekilmiş ve 35-37°C'de 16-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen magenta renkli koloniler kanlı agara pasajlanıp, hemoliz özelliği gösteren 217 adet izolattan 71 adedi (%32.7) gram pozitif ve üzüm salkımı şeklinde görülmüştür. Yirmi altı adet katalaz pozitif ve oksidaz negatif izolat elde edilmiştir (%36.61). Biyokimyasal testler sonucunda 8 adet (%8) *S. aureus* izole ve tanımlanmıştır. Hayvanların üst solunum yolu, derileri ve çevresel örneklerden: 1 adet tavuk derisi, 1 adet tavuk koanası, 3 adet farklı koyun burun mukozası, 1 adet tavuk yemliği, 1 adet at suluğu, 1 adet at yemliğinden izole ve tanımlanmış *S. aureus* izolatlarına disk difüzyon yöntemi ile antibiyogram yapılmış; cefoxitin ve oxacilline karşı dirençlilikleri incelenmiştir. *S. aureus* izolatlarının antibiyotiklere göre duyarlılık oranları şu şekildedir: cefoxitine, oxacilline ve linezolidde %100, rifampine ve amikacine %75, eritromisine %62.5, gentamisin, tobramisin, trimethoprim/sulfamethoxazole ve tetracycline %37.5 duyarlı; ciprofloxacin %100, tobramisine ve trimethoprim/sulfamethoxazole ve tetracycline %62.5, gentamisine ve

eritromisine %37.5, amikacine ve rifampine %25 dirençli tespit edilmiştir. Çeşitli hayvan türlerinde ve çevresel örneklerde antimikrobiyal dirençlilikleri yüksek olan *S. aureus*'lar bulunmaktadır. PZR sonucunda koyun burun mukozasından izole edilen 1 numaralı izolat (KB8-15), phosphate acetyltransferase (pta\_up) ve triosephosphate isomerase (tpi\_up); koyun burun mukozasından izole edilen 2 numaralı izolat (KB10-1), tpi\_up; tavuk yemliğinden izole edilen 8 numaralı izolat (TY1-2), carbamate kinase (Arc\_up) genleri yönünden pozitif tespit edilmiştir. MLST analizi sonucunda pozitif tespit edilen 3 izolattın, MRSA'dan farklı klonlar olduğu saptanmıştır; izole edilen bu 3 izolat Hiper virulent MSSA suşları olarak sınıflandırılmıştır.

Gerek hayvan sağlığı, gerekse insan sağlığı açısından ciddi hastalık ve kontaminasyona neden olan *S. aureus*, rutin olarak takip edilmeli; hayvandan hayvana ve insanlara bulaşmasının önlenmesi için gerekli tedbirlerin alınması, halk sağlığı açısından son derece önemlidir.

Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası 2023/161'dir.

**Anahtar kelimeler:** *Staphylococcus aureus*, at, koyun, kanatlı, MRSA, MSSA.

# ABSTRACT

## EPIDEMIOLOGICAL INVESTIGATION OF METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA) ISOLATES FROM ANIMALS RAISED IN THE FACULTY OF VETERINARY MEDICINE AND ENVIRONMENTAL SAMPLES

Kırıkkale University

Graduate School of Health Sciences

Department of Veterinary Microbiology, Master Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sibel KIZIL

June 2025, 96 page

Many bacteria develop resistance to antibiotics used against them, causing difficulties in treatment and the emergence of resistant bacteria. One of these bacteria is *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), which is quite common in the world and has become difficult to treat. In *S. aureus* infections and outbreaks, *S. aureus* clones that can pass from animals regardless of species, including people working in animal hospitals, have been detected and transmission and interspecies transmission have been detected in a short time. In this study, MSSA was isolated and identified from animals (horses, sheep, poultry) raised at Kırıkkale University, Faculty of Veterinary Medicine and environmental samples using the European Union Antimicrobial Resistance Reference Laboratory (EURL-AR) and The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) protocols. A total of 72 samples and 28 environmental samples (from feeders and waterers of animals) were taken from the upper respiratory tract (nostrils of mammals; choana of poultry) and skin (around the nose of mammals; under the wing of poultry) of 36 animals (4 horses, 19 sheep, 9 chickens and 4 quails) with 2 samples per animal using sterile swabs. Swabs taken from animals and environmental samples were placed in tubes containing 10 ml of 6.5% NaCl Mueller-Hinton Broth and incubated at 35-37°C for 16-24 hours. After pre-enrichment, a 10 µL loopful of sample was taken from each tube and spread onto MRSA Chromogenic Modified Agar and incubated at 35-37°C for 16-24 hours. The obtained magenta colonies were passaged on blood agar and out of 217 isolates showing hemolysis property, 71 (%32.7) were seen as gram positive and in grape cluster shape. Twenty-six catalase positive and oxidase negative isolates were obtained (%36.61). As a result of biochemical tests, 8 (%8) *S. aureus* were isolated and identified. Antibiogram was made by disk diffusion method for *S. aureus* isolates isolated and identified from 1 chicken skin, 1 chicken choana, 3 different sheep nasal mucosa, 1 chicken feeder, 1 horse waterer, 1 horse feeder from the upper respiratory tract, skin and environmental samples of animals; their resistance to cefoxitin and oxacillin was investigated. The susceptibility rates of *S. aureus* isolates according to antibiotics are as follows: 100% susceptible to cefoxitin, oxacillin and linezolid, 75%

susceptible to rifampin and amikacin, 62.5% susceptible to erythromycin, tobramycin, trimethoprim/sulfamethoxazole and tetracycline; 100% resistant to ciprofloxacin, 62.5% resistant to tobramycin and trimethoprim/sulfamethoxazole and tetracycline, 37.5% resistant to gentamicin and erythromycin, and 25% resistant to amikacin and rifampin. There are *S. aureus* with high antimicrobial resistance in various animal species and environmental samples. As a result of PCR, isolate number 1 (KB8-15), phosphate acetyltransferase (pta\_up) and triosephosphate isomerase (tpi\_up) isolated from sheep nasal mucosa; isolate number 2 (KB10-1), tpi\_up isolated from sheep nasal mucosa; isolate number 8 (TY1-2) isolated from chicken feed was detected positive for carbamate kinase (Arc\_up) genes. As a result of MLST analysis, it was determined that the 3 isolates detected positive were clones different from MRSA; these 3 isolates were classified as Hyper virulent MSSA strains. *S. aureus*, which causes serious disease and contamination in terms of both animal health and human health, should be monitored routinely; taking the necessary precautions to prevent transmission from animal to animal and human is extremely important in terms of public health.

This study was supported by Kırıkkale University Scientific Research Projects Coordination Unit. Project number is 2023/161.

**Key words:** *Staphylococcus aureus*, horse, sheep, poultry, MRSA, MSSA.

## TEŞEKKÜR

Bu bilimsel çalışmanın ve yüksek lisans tezinin ortaya çıkmasında en büyük pay sahibi olan, değerli danışman hocam Doç. Dr. Sibel KIZIL'a en derin şükranlarımı sunarım. Kendisi yalnızca akademik rehberliğimle sınırlı kalmayıp, her aşamada gösterdiği anlayış ve içten destek ile bana güven veren bir yol gösterici olmuştur. Bilgi birikimi, titizliği ve bilimsel bakış açısıyla bana ilham kaynağı olmuş; karşılaştığım her zorlukta çözüm üretme konusunda beni yüreklendirmiştir. Bilime olan tutkusunu bana aşıl原因 tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Sibel KIZIL'a sonsuz şükranlarımı sunarım. Araştırmanın bilimsel içeriğine ve akademik gelişimine katkıda bulunan değerli yönlendirmeleriyle yalnızca akademik rehberliğimle sınırlı kalmayıp birçok konuda yardımcı olan Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Murat YILDIRIM'a teşekkür ederim.

Aynı zamanda, yüksek lisans eğitimim süresince beni her zaman maddi ve manevi olarak destekleyen, sevgileri ve sabırlarıyla daima yanımda olduklarını hissettiren annem Dilek YÜCEL'e, babam İlhan YÜCEL'e ve abim Kaan YÜCEL'e sonsuz teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Bu akademik yolculukta katkıda bulunan tüm hocalarıma, lisans üstü öğrencilerine, dostlarıma ve emeği geçen herkese canıgönülden teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vi</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>viii</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>ŞİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>xiv</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. MRSA'nın Tarihçesi .....	9
1.2. <i>S. aureus</i> 'un Genel Özellikleri .....	11
1.3. <i>S. aureus</i> 'un Virulans Özellikleri .....	11
1.4. MRSA'nın Hayvanlarda Yaptığı Enfeksiyonlar ve Klinik Bulguları .....	12
1.5. MRSA'nın Epidemiyolojik Özellikleri .....	13
1.6. MRSA'nın Klonları .....	21
1.7. MLST .....	25
<b>2. MATERYAL VE METOT</b> .....	<b>27</b>
2.1. Örnekler .....	27
2.2. Besiyerleri .....	29
2.2.1. Mueller-Hinton Broth %6.5 NaCl .....	29
2.2.2. MRSA Chromogenic Agar .....	29
2.2.3. Kanlı Agar .....	30
2.2.4. Mueller-Hinton Agar .....	31
2.3. İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON .....	31
2.3.1. Gram Boyama .....	31
2.3.2. Katalaz Testi .....	33
2.3.3. Oksidaz Testi .....	33
2.3.4. Koagülaz Testi .....	34
2.4. ANTİBİYOGRAM .....	35
2.4.1. Antimikrobiyal Duyarlılık Testi (Kirby-Bauer Disk Difüzyon Metodu) .....	35
2.5. MOLEKÜLER TEŞHİS .....	36
2.5.1. PZR .....	36
2.5.2. SPA Tiplendirmesi .....	43
2.5.3. MLST .....	44
<b>3. BULGULAR</b> .....	<b>46</b>
3.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Sonuçları .....	46
3.2. Antibiyogram Sonuçları .....	47
3.3. PZR Sonuçları .....	49
3.4. SPA Tiplendirmesi Sonuçları .....	49
3.5. MLST Sonuçları .....	49
3.5.1. BLAST Analizi Sonuçları .....	51
<b>4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA</b> .....	<b>72</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>75</b>
<b>EKLER</b> .....	<b>93</b>
EK.1. ETİK KURUL ONAYI .....	93
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>96</b>

# ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>ÇİZELGE</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. <i>S. aureus</i> 'un Tarihçesi.....	10
2.1. Hayvanlardan Alınan Örnekler .....	27
2.2. Hayvanların Yetiştirildiği Çevreden Alınan Örnekler .....	27
2.3. MRSA Multiplex PZR-1 Primer Listesi .....	38
2.4. MRSA Multiplex PZR-1 Programı .....	39
2.5. MRSA Multiplex PZR-2 Primer Listesi .....	41
2.6. MRSA Multiplex PZR-2 Programı .....	42
2.7. MLST Analizinde Kullanılan Primerler .....	45



# ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>ŞEKİL</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. <i>S. aureus</i> İzolatinin Genetik İlişisini Gösteren Dendrogram .....	6
1.2. İzolatların Ana Kümesi Arasındaki İlişki.....	7
2.1. Hayvanlardan Toplanan Örneklerin Hayvan Türlerine Göre ve Alınan Bölgelere Göre Dağılımı .....	28
2.2. Çevreden Toplanan Örneklerin Hayvan Türlerine Göre ve Alınan Bölgelere Göre Dağılımı.....	28
2.3. Hayvanlardan ve Çevrelerinden Toplanan, %6.5 NaCl içeren Mueller-Hinton Sıvı Besi Yeri Eklenmiş Svaplar. ....	29
2.4. MRSA Chromogenic Modified (CEFOXITIN MRSA SUPPLEMENT) Ağarda Magenta Ve Mavi-Yeşil Renkli Koloniler. ....	30
2.5. Kanlı ağarda <i>S. aureus</i> 'ların Oluşturduğu Hemoliz Alanları. ....	31
2.6. <i>S. aureus</i> 'un Gram Boyama Sonrasında Işık Mikroskobu Altında, Üzüm Salkımı Şeklindeki Mavi-Mor Görüntüsü.....	32
2.7. İzole Edilen Bakterilerin Koagülaz Testi Görüntüleri. ....	35
2.8. <i>Spa</i> , <i>mecA</i> , <i>scn</i> , CC398 ve PVL'nin Tespiti İçin Multipleks PZR Jel Görüntüsü .....	40
2.9. <i>mecA</i> , <i>mecC</i> ( <i>mecALGA251</i> ), lukF-PV (PVL) ve <i>Spa</i> Tespiti İçin Multipleks PZR Jel Görüntüsü.....	43
2.10. MLST Analizinde Kullanılan Primerler.....	45
3.1. MRSA Chromogenic Modified (CEFOXITIN MRSA SUPPLEMENT) Ağarda Magenta Renkli Kolonilere Yapılan Biyokimyasal Test Sonuçlarının Sütun Grafiği.....	47
3.2. Gram Boyama Sonrasında Yapılan Biyokimyasal Test Sonucunda Elde Edilen Tür Dağılımının Daire Grafiği.....	47
3.3. Toplamda 100 adet, Hayvanlardan Ve Çevresel Örneklerden İzole Edilen Bakteri Türlerinin Daire Grafiği.....	47
3.4. <i>S. aureus</i> İzolatlarının Antibiyogram Sonucu, Oluşan Zon Çapları Ve Dirençlilik Durumu .....	48
3.5. Duyarlı % ve Dirençli % Kümelenmiş Sütun Grafiği.....	48
3.6. Antibiyotiklere Karşı Direnç ve Duyarlılık Dağılımı .....	49
3.7. Kirby-Bauer Disk Difüzyon Duyarlılık Testi Sonrası Oluşan Zon Çapları.....	49
3.8. NIH Veri Sisteminin Belirlediği MRSA Klonları.....	50
3.9. (1)KB8-15, (2)KB10-1, (8)TY1-2 izolatlarının MLST Analizi İçin Yapılan Elektroforez Sonucu Oluşan Jel Görüntüleri.....	51
3.10. BLAST Analizi Sonucunda KB8-15, pta Housekeeping Geni Açısından MRSA Referans Suşlarına Benzerlik Oranı Ve Filogenetik Ağaç .....	52
3.11. BLAST Analizi Sonucunda KB8-15, pta housekeeping geninin <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> TCH60 Tam Genom Dizilimi Benzerlik Şeması.....	53
3.12. BLAST Analizi Sonucunda KB8-15, pta Housekeeping Geninin <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> strain MRSA252 Genom Dizilimi Benzerlik Şeması.....	54
3.13. BLAST Analizi Sonucunda KB8-15, tpi Housekeeping Geni Açısından MRSA Referans Suşlarına Benzerlik Oranı Ve Filogenetik Ağaç .....	55

3.14. BLAST Analizi Sonucunda KB8-15, tpi Housekeeping Geninin <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> strain MRSA252 Genom Dizilimi Benzerlik Şeması. Range 1 .....	56
3.15. BLAST Analizi Sonucunda KB8-15, tpi Housekeeping Geninin <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> strain MRSA252 Genom Dizilimi Benzerlik Şeması. Range 2 .....	57
3.16. BLAST Analizi Sonucunda KB8-15, tpi Housekeeping Geninin <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> TCH60 tam Genom Dizilimi Benzerlik Şeması. Range 1 .....	58
3.17. BLAST Analizi Sonucunda KB8-15, tpi Housekeeping Geninin <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> TCH60 Tam Genom Dizilimi Benzerlik Şeması. Range 2 .....	59
3.18. BLAST Analizi Sonucunda KB10-1, pta Housekeeping Geni Açısından MRSA Referans Suşlarına Benzerlik Oranı Ve Filogenetik Ağaç .....	60
3.19. BLAST Analizi Sonucunda KB10-1, pta Housekeeping Geninin <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> TCH60 Tam Genom Dizilimi Benzerlik Şeması.....	61
3.20. BLAST Analizi Sonucunda KB10-1, pta Housekeeping Geninin <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> strain MRSA252 Genom Dizilimi Benzerlik Şeması.....	62
3.21. BLAST Analizi Sonucunda KB10-1, tpi Housekeeping Geni Açısından MRSA Referans Suşlarına Benzerlik Oranı Ve Filogenetik Ağaç .....	63
3.22. BLAST Analizi Sonucunda KB10-1, tpi Housekeeping Geninin <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> strain MRSA252 Genom Dizilimi Benzerlik Şeması. Range 1 .....	64
3.23. BLAST Analizi Sonucunda KB10-1, tpi Housekeeping Geninin <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> strain MRSA252 Genom Dizilimi Benzerlik Şeması. Range 2 .....	64
3.24. BLAST Analizi Sonucunda KB10-1, tpi Housekeeping Geninin <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> TCH60 Tam Genom Dizilimi Benzerlik Şeması. Range 1 .....	65
3.25. BLAST Analizi Sonucunda KB10-1, tpi Housekeeping Geninin <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> TCH60 Tam Genom Dizilimi Benzerlik Şeması. Range 2 .....	65
3.26. BLAST Analizi Sonucunda TY1-2, pta Housekeeping Geni Açısından MRSA Referans Suşlarına Benzerlik Oranı Ve Filogenetik Ağaç .....	67
3.27. BLAST analizi sonucunda TY1-2, pta housekeeping geninin <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> TCH60 Tam Genom Dizilimi Benzerlik Şeması. Range 1 .....	67
3.28. BLAST Analizi Sonucunda TY1-2, pta Housekeeping Geninin <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> TCH60 Tam Genom Dizilimi Benzerlik Şeması. Range 2 .....	68
3.29. BLAST Analizi Sonucunda TY1-2, pta Housekeeping Geninin <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> strain MRSA252 Genom Dizilimi Benzerlik Şeması. Range 1 .....	68
3.30. BLAST Analizi Sonucunda TY1-2, pta Housekeeping Geninin <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> strain MRSA252 Genom Dizilimi Benzerlik Şeması. Range 2 .....	68
3.31. BLAST Analizi Sonucunda TY1-2, arcC Housekeeping Geni Açısından MRSA Referans Suşlarına Benzerlik Oranı Ve Filogenetik Ağaç .....	70

- 3.32. BLAST Analizi Sonucunda TY1-2, arcC Housekeeping Geninin *Staphylococcus aureus subsp. aureus* strain MRSA252 Genom Dizilimi Benzerlik Şeması. Range 1, Range 2, Range 3 ..... 71
- 3.33. BLAST Analizi Sonucunda TY1-2, arcC Housekeeping Geninin *Staphylococcus aureus subsp. aureus* TCH60 Tam Genom Dizilimi benzerlik şeması. Range 1, Range 2, Range 3 ..... 71



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>Agr</b>	: accessory gene regulator
<b>arcC</b>	: Carbamate kinase
<b>aroE</b>	: Shikimate dehydrogenase
<b>CA-MRSA</b>	: Toplum Kökenli MRSA
<b>CC</b>	: Clonal Complex
<b>CoPS</b>	: Koagülaz Pozitif Stafilokok
<b>GISA</b>	: Glycopeptide-Intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>glpF</b>	: Glycerol kinase
<b>gmk</b>	: Guanylate kinase
<b>HA-MRSA</b>	: Hastane Kökenli MRSA
<b>IEC</b>	: Immune evasion gene culture
<b>LA-MRSA</b>	: Hayvancılıkla İlişkili MRSA
<b>LUK-PV</b>	: Panton-Valentine leukocidin
<b>MHA</b>	: Muller Hinton Agar
<b>MHB</b>	: Mueller Hinton Broth
<b>MLST</b>	: Multi Locus Sequence Type
<b>MRSA</b>	: Metisilin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>MSA</b>	: Mannitol Salt Agar
<b>MSSA</b>	: Metisilin Susceptibility <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>PBP</b>	: Protein Binding Protein
<b>pta</b>	: Phosphate acetyltransferase
<b>PZR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>SCCmec</b>	: Staphylococcal Chromosomal Casette <i>mec</i>
<b>ST</b>	: Sequence type
<b>tpi</b>	: Triosephosphate isomerase
<b>yqi</b>	: Acetyl coenzyme A acetyltransferase

# 1. GİRİŞ

Antibiyotiğin keşfedilmesinden bugüne kadar geçen zamanda birçok bakteri antibiyotiklere direnç geliştirmiştir. Bu durumun sonucunda günümüzde tedavisi olmayan ve tedavide zorluk çıkaran inatçı mikroorganizmaların ortaya çıkmasına sebep olmuştur. Bu bakterilerden birisi de dünyada oldukça yaygın ve tedavi edilemez hale gelen MRSA'dır. MRSA dünyada gün geçtikçe artan veteriner ve halk sağlığı problemidir. MRSA, dünyada üzerinde durulan ve sürekli mercek altında tutulan, güncel olarak takip edilen ve bildirilen bir mikroorganizmadır. Dünyada genelinde yapılan bilimsel çalışmalar sonucunda tespit edilen MRSA enfeksiyonlarında ve salgınlarında, hayvan hastanelerinde çalışan insanlar ve hayvanlarda tür fark etmeksizin geçiş yapabilen MRSA klonları saptanmış ve kısa sürede bulaşma ve türler arası geçiş yapabildiği tespit edilmiştir. Geçmişten günümüze kadar yapılan çalışmalarda saptanan MRSA, cerrahi operasyon sonrası yara bölgesinde sağaltılamayan enfeksiyonlara, entübe edilen hayvan ve insanlarda pnömonilere, spesifik olarak atlarda artritise, çiftlik hayvanlarında mastitise ve metritise eden olmuş ve çeşitli enfeksiyonlarda primer ve sekonder etken olarak rol almıştır. MRSA, bulaştığı hayvanda herhangi bir klinik enfeksiyona sebep olmadan burun ve deride kolonize olmaktadır. Herhangi bir klinik bulgu göstermeyen konakçı hayvandan, immün sistemi zayıflamış veya doğal direnç mekanizmaları zayıflamış hayvanlara bulaşıp, ciddi enfeksiyonlara ve klinik tablolara neden olmaktadır. İnsanlarda burun boşluğu, deri, koltuk altı, genital bölge, tırnak, saç derisi gibi bölgeler MRSA'nın en sık kolonize olduğu yerlerdir. Atlarda burun boşluğu MRSA'nın kolonize olduğu en yaygın bölgedir (Othman vd., 2021).

MRSA kaynaklı enfeksiyonlar epidemiyolojik olarak; Hastane İlişkili MRSA (Hospital Associated-MRSA, HA-MRSA), Toplum İlişkili MRSA (Community Associated-MRSA, CA-MRSA) olmak üzere iki grupta kategorize edilmektedir. Hayvancılıkla İlişkili MRSA (Livestock-Associated-MRSA, LA-MRSA) olmak üzere üçüncü bir grup daha diğerlerine katılmıştır (Price vd., 2012).

Hayvancılıkla İlişkili MRSA (Livestock-Associated-MRSA, LA-MRSA) ilk olarak 1989'da atlarda keşfedilmiştir. O zamandan beri LA-MRSA, insanlarda LA-MRSA enfeksiyonuna ve kolonizasyonuna neden olabilen halk sağlığı üzerinde etkileri olan, atlarda önemli bir patojenik bakteri türü olarak kabul edilmiştir (Khairullah vd., 2022). Burun delikleri (solunum sisteminin başlangıç kısmı), hayvanlarda (atlarda, koyunlarda, kanatlılarda, köpeklerde) LA-MRSA kolonizasyonunun birincil bölgesidir; ancak LA-MRSA kolonizasyonu atlarda gastrointestinal sistemde de meydana gelebilmektedir (Khairullah vd., 2022). Atlarda LA-MRSA enfeksiyonuna bağlı klinik bir semptom, LA-MRSA saptanmasından sadece günler ya da haftalar sonra ortaya çıkabilmektedir (Weese, 2004).

MRSA,  $\beta$ -laktam antibiyotiklerin hemen hemen tümüne ve çoğu farklı antimikrobiyal etkenlere karşı da dirençli olan bir *S. aureus* suşudur (Fukunaga vd., 2016). Bu direnç durumu, *Staphylococcal* cassette kromozom *mec* (SCCmec) (Reichmann vd., 2017; Rahmani vd., 2020) üzerinde yer alan *mecA* ve *mecC* genleri tarafından kodlanan, penisilin bağlayıcı proteinin aktivitesi sebebiyle meydana gelmektedir. HA-MRSA'nın hastane ortamında yayıldığı ve salgınlara sebep olduğu dünya çapında bilinmektedir (Fukunaga vd., 2016; Pannewick vd., 2021; Garoy vd., 2019).

MRSA ilk olarak 1972'de hayvanlarda, mastitis olan süt ineklerinde tanımlanmış ve tespit edilmiştir (Gopal ve Divya, 2017); takip eden süreçte çeşitli hayvanlarda sporadik MRSA enfeksiyonları gözlemlenmiştir. 1989'da atlarda ilk defa tanımlanan MRSA enfeksiyonları da dahil olmak üzere (Anzai vd., 1996), günümüzde son olarak bilinen MRSA enfeksiyonlarına dönüşmeye başlamıştır. Çiftlik hayvanlarında (Khairullah vd., 2022; Harijani vd., 2020) ve evcil hayvanlarda (Decline vd., 2020; Yunita vd., 2020) oluşan MRSA, çiftlik hayvanlarıyla ilişkili MRSA (LA-MRSA) (Khairullah vd., 2020a; Khairullah vd., 2020b) olarak bilinmektedir. Avrupa, Kuzey Amerika ve Asya'daki çok sayıda hayvanın klonal kompleks 398 (CC398) ile LA-MRSA suşuna sahip olduğu bulunmuştur (McCarthy vd., 2012). Ayrıca, atlarda ilk LA-MRSA'nın 1989'da bulunmasından bu yana (Turner vd., 2019), yakın zamanda ortaya çıkan LA-MRSA CC398, at popülasyonlarında tanımlanmıştır. LA-MRSA, atlarda enfeksiyona ve LA-MRSA kolonizasyonuna neden olabilen önemli bir patojenik bakteri türü olarak kabul edilmeye başlanmıştır. LA-MRSA ile enfekte hayvanlar yumuşak doku enfeksiyonları, deri enfeksiyonları, osteomyelit, septik artrit, metritis ve pnömoni, bakteriyemi ve omfalit, gibi klinik hastalıklar ortaya

çıkabilir ve bunlar MRSA'nın yapabileceği hastalıklardan sadece bazıları olduğu bilinmektedir (Haag vd., 2019). LA-MRSA izolatları çoğunlukla yemlikler, suluklar, ahır duvarları, gibi hayvanların burun ve burun akıntılarıyla sık temas halinde olan alanlardan izole edilmiştir (Kinross vd., 2017). Hayvan hastaneleri, çiftliklerin çevresinde, LA-MRSA yayılmasında önemli bir bulaş kaynağı olarak kabul edilmemektedir. Ancak hayvan hastaneleri ve çiftliklerin bulunduğu ortam, biyogüvenlik kurallarına uygun şekilde yönetilmiyorsa, LA-MRSA bulaşmasının kaynağı olabilmektedir (Van Balen vd., 2014). Bu nedenle, hayvan hastanelerinde ve çiftliklerde, hayvanların özellikle burunlarıyla sıklıkla temas eden alanlarda temiz bir ortamın sağlanması çok önemlidir (Kinross vd., 2017; Koop, 2016). Sağlıklı atların yaklaşık %10'unun burun boşluğunda LA-MRSA bulunur (Simor vd., 2001). Herhangi bir Klinik semptom göstermeyen, MRSA ile enfekte atlar, LA-MRSA'nın at popülasyonu içerisinde gizlice yayılmasına sebep olmaktadır (Van den Eede vd., 2012).

1999 yılında ABD, Michigan'daki bir hayvan hastanesinde, 13 ay boyunca, 11 atta LA-MRSA görülmüştür (Seguin vd., 1999); hastanedeki üç sağlık personelinin bu atlardan kaynaklanan LA-MRSA kolnu ile enfekte olduğu tespit edilmiştir. Avrupa'da LA-MRSA ST398 klonlarının yanı sıra, atlarda CA-MRSA ST1 ve CA-MRSA ST254 klonları da tanımlanmıştır (Vivas vd., 2019; Maalej vd., 2019; Zarfel vd., 2016).

İngiltere'de yapılan bir çalışmada, 152 attan sadece üçünde MRSA tespit edilmiş; MRSA suşları, LA-MRSA CC398, HA-MRSA CC8 ve HA-MRSA CC22 klonlarına dahil edilmiştir (De Araujo vd., 2021). Almanya'da, insanla ilişkili bir CA-MRSA klonundan bir LA-MRSA CC398 klonuna geçiş 2006 yılında bildirilmiştir (Witte vd., 2007). 2008'de spa tipi t011 (n = 12), t2123 (n = 4) ve t064'ün (n = 1) neden olduğu 17 atta MRSA izolatının bulunduğu başka bir salgın meydana gelmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda 16/170 personel, spa tipi t011 (n = 11) ve t2123 (n = 5) ile MRSA için pozitif çıkmıştır ve atlarla yakın temas halinde olan ama personel olmayan kişilere (1/64) göre daha fazla MRSA pozitifliği gözlenmiştir. Hayvan hastanesine atların kabulü sırasında gerçekleştirilen MRSA taraması sonucunda, %9.3'ünün ağırlıklı olarak spa tipi t011 ile MRSA-pozitif olduğu görülmüştür. Hastanede yatan tüm atlardan, 5 hafta boyunca haftalık kesitsel örneklemeyle, atların %42'sinin, en az bir kez MRSA-pozitifliği gösterilmiştir. Ağırlıklı olarak spa tipi t011 ile nozokomiyal bulaşmanın gerçekleştiğini düşündürmüştür (van Duijkeren vd., 2010).

Chen ve arkadaşları, çiftlik çalışanları ve veteriner hekimler arasında LA-MRSA kolonizasyonu ve enfeksiyonu konusunda sistematik bir inceleme ve meta-analiz yapmışlardır. Aynı araştırmacılar, çiftlik hayvanlarıyla ilişkili MRSA kolonizasyonu ve insanlardaki enfeksiyonunun olasılık oranını hesaplamış ve çiftlik hayvanı üretiminde MRSA kolonizasyonuna sebep olan belirli risk faktörlerini belirlemişlerdir (Chen ve Wu, 2021).

Stull ve arkadaşları, hayvan hastanesine solunum zorluğu şikayeti ile getirilen 6 saatlik bir yeni doğan alpakayı, rutin gözetimde, burun sürüntüsü almışlar ve MRSA tespit etmişlerdir (Stull vd., 2012).

Feuer ve arkadaşları, Almanya'daki köpek ve kedilerde MRSA vakalarının geniş çaplı bir genel görünümünü sunmuş, sürekli gözetim için bir temel oluşturmuşlardır. Bu çalışmada, Ocak 2019 ile Aralık 2021 arasında veteriner kliniklerinden alınan köpeklere ve kedilere ait örnekler, laboratuvarında geniş çaplı analize tabi tutulmuştur. Köpeklerden ve kedilerden alınan örneklerin epidemiyolojik olarak MRSA yaygınlığı karşılaştırmışlardır. Örnekler, Almanya'daki 3491 muayenehane ve kliniklerin %33,1'ini temsil eden, 175.171 adet örnekten alınan bakteriyel muayene sonuçları analiz edilmiş ve bu örneklerin 5526'sında *S. aureus* tespit edilmiştir (%3,2). Klinik örneklerdeki *S. aureus*, kedilerde (%5,6) köpeklerde (%2,0) daha az yaygın olduğu gözlemlenmiştir. *S. aureus* örneklerinin %17,8'inde metisiline direnç bulunmuş olup kedilerde (%15,6, %95CI 14,3-17,0); köpeklerde (%20,4, %95CI 18,9-22,0) bu oran daha yüksekti. MRSA yaygınlığı sırasıyla yüksekten aza doğru, deri/yumuşak doku, solunum yolu ve diğerlerine (<%23) kıyasla köpek yara örneklerinde (%32) bulunmuştur. Ek olarak, veriler Almanya'daki insan MRSA gözetim verileriyle karşılaştırılmıştı. Bilimsel araştırmada ayakta tedavide MRSA yaygınlığından (%5,4) daha yüksek olan %17,8'lik bir MRSA oranı ortaya koymuştur. (Feuer vd., 2024).

Özen ve arkadaşlarının yaptığı bilimsel bir araştırmada, Akdeniz Üniversitesi, Merkez Laboratuvarı'na gönderilen klinik örneklerden izole edilen, toplam 163 *S. aureus* suşunun tanımlanmasında Gram boyama, katalaz, lam ve tüp koagülaz yöntemleri ve BD Phoenix otomatize identifikasyon ve antimikrobiyal duyarlılık sistemi kullanmışlardır. *S. aureus* suşlarında *nuc* ve *mecA* genlerinin varlığı ve 16S RNA, özgül primerler kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemiyle saptanmıştır. *S. aureus* olarak tanımlanan tüm suşların MRSA ID kromojenik agar

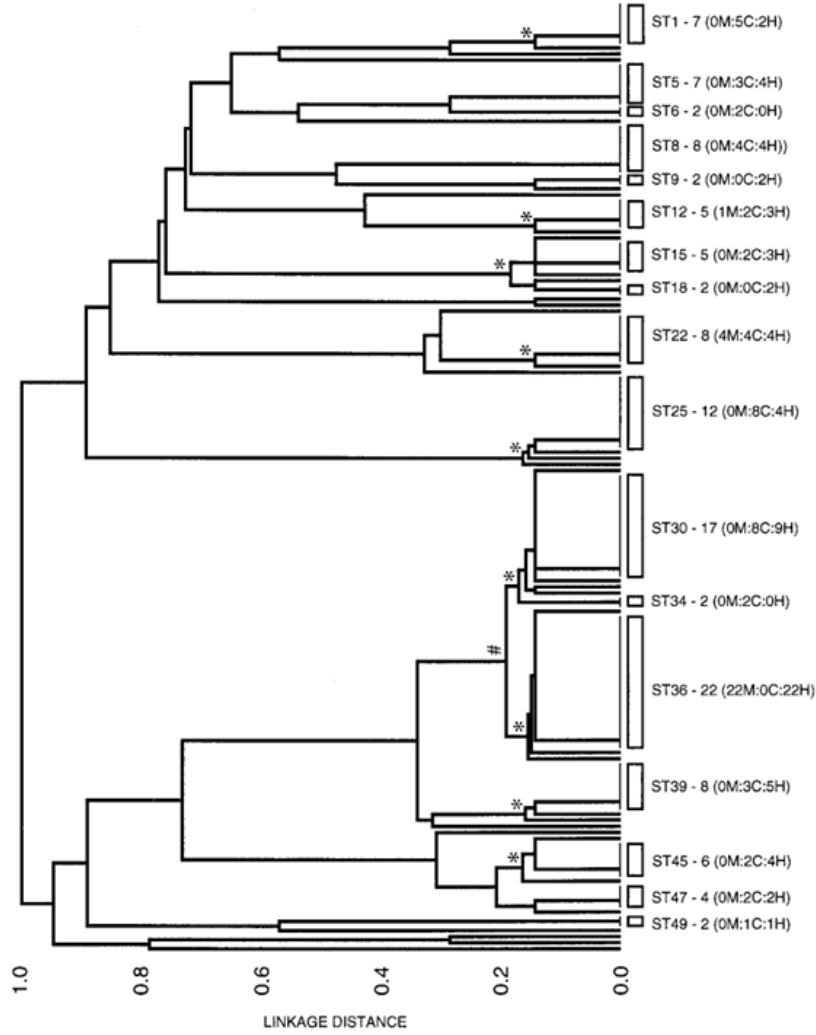
besiyerine ekimi yapılarak, petriyeler 35°C'de aerobik ortamda inkübe edilmiş ve sonuçlar koloni renklerine göre değerlendirilmiştir. Bu çalışmada MRSA ID besiyerinin performansının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. MRSA saptanmasında, MRSA ID besiyerinin 24 saatlik inkübasyon sonrasında duyarlılığı %85.4, özgülüğü ise % 53.7 olarak bulunmuştur. Sonuç olarak MRSA ID, 18-24 saatlik inkübasyon sonucunda MRSA saptanmasında duyarlılığının yüksek olması nedeniyle kullanılabilir bir besiyeri olduğu kararına varmışlardır (Özen vd., 2011).

Rozgonyi, MRSA suşlarının MSSA suşlarından daha virülan olduğu hipotezini desteklememektedir. Çelişkili sonuçların önemli nedeni, muhtemelen dirençli popülasyonun heterojen yapısından kaynaklanmaktadır. Genetik arka plan, virülansın fenotipik ifadesiyle ilişkilendirmek için konjenik MRSA ve MSSA suşlarıyla daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Sonuç olarak, bir MRSA alt popülasyonu baskın hale gelebilir, bu durum da daha sonraki klinik tabloyu belirlemektedir. Canlı hayvan modelleri, konjenik MRSA ve MRSA hücreleri arasındaki karakteristik farklılıkları da ortaya çıkarabilir. Balb/c farelerinde konjenik MSSA hücrelerinin neden olduğu ölüm oranıyla aynı ölüm oranına neden olmak için daha fazla sayıda MRSA hücresine ihtiyaç duyulmuştur (Tozgonyi vd., 1984). Buna karşılık, hayatta kalan farelerin organlarında MRSA hücrelerinin kalıcılığı konjenik MSSA hücrelerinin iki katıydı (Majoros vd., 1996) Bu sonuçlar, her iki bakteri popülasyonunun da fareler için virülant olduğunu, ancak MRSA ve MSSA enfeksiyonlarının patogenezi mekanizmasının/mekanizmalarının farklı olabileceğini göstermektedir (Rozgonyi vd., 2007)

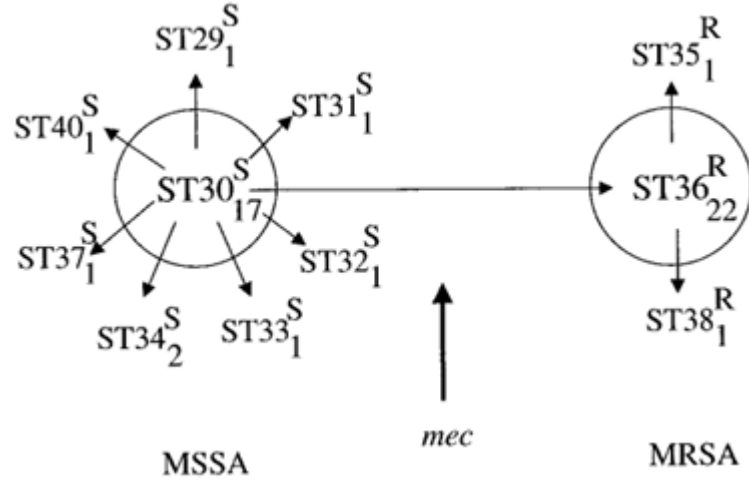
MRSA'ya dönüşmesi muhtemel olan Hiper virulent MSSA klonları, insan kökenli iki özellikle virulent MSSA grubu, LA-MRSA CC398'in insanlara yeniden adaptasyonunu yansıtmaktadır: (i) *spa* tipi t571 sergileyenler; ve (ii) Panton-Valentine lökositini kodlayan *luk-PV* genlerini içerenler. PVL, özellikle derin köklü cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları ile invazivlikle ilişkilidir. MSSA C398, t571, insan alt popülasyonuna atfedilmektedir (Musser vd., 1992; Speller vd., 1997).

ST36 (klon EMRSA-16), Oxford bölgesinde invaziv hastalıkla ilişkili olan, ana MSSA klonuyla (ST30) çok yakından ilişkili bulunmuştur; bu ST'ler yalnızca yedi lokustan birinde farklılık göstermiştir. Şekil 46'da gösterildiği gibi bir dendrogram, aynı allellik profillerine sahip izolatların kümelerini belirler, ancak benzer allellik profillerine sahip izolatlar arasındaki ilişkileri her zaman doğru bir şekilde temsil edememektedir. Şekil

1, tek bir lokusta ST30 veya ST36'dan farklı olan izolatlar arasındaki ilişkileri göstermektedir. Bu klonal kompleksteki izolatların allellik profillerini ve metisiline karşı dirençlerini veya duyarlılıklarını ilişkilendirmenin en doğru yolu, ST30'un birkaç tek lokus varyantından birinin metisiline dirençli hale gelerek EMRSA-16'ya (ST36) yol açtığını ve bunun daha sonra hastane kaynaklı invaziv hastalığın yaygın bir nedeni haline gelerek metisiline dirençli tek lokus varyantlarını (ST 35 ve 38) ortaya çıkardığını göstermektedir. EMRSA-16'nın invaziv hastalıkla ilişkili büyük bir izolat kümesinin parçası olması (ST 29 ila 38) ve Oxford bölgesindeki invaziv hastalığı olan hastalardan kurtarılan izolatların %31'ini içerdiği tespit edilmiştir. Hem hastane hem de toplu ortamlarında invaziv hastalığın başlıca nedeni olan bir bakteri klonundan (ST30) EMRSA-16'nın gelişmesi, EMRSA-16'nın hastane ortamında invaziv hastalığa neden olduğunu göstermektedir (Enright vd; 2000).



Şekil 1.1. *S. aureus* izolatının genetik ilişkisini gösteren dendrogram (Enright vd., 2000).



Şekil 1.2. İzolatların ana kümesi arasındaki ilişki

Şekil 2’de bir diyez işaretiyle gösterilen düğümle tanımlanan büyük klonal kompleks içindeki ST’ler (ST’ler 29 ila 38) gösterilmektedir; her ST’deki izolat sayısı alt simgeyle ve metisiline duyarlılık (S) veya direnç (R) üst simgeyle gösterilmektedir. Daireler kümedeki iki ana ST’yi göstermektedir ve bu iki ana ST’den yalnızca tek bir lokusta farklılık gösteren ST’ler oklarla gösterilmiştir. ST36 (klon EMRSA-16), ST30’da yalnızca tek bir lokusta farklılık gösterir ancak yalnızca MRSA izolatlarını içerir. ST36’nın, yatay gen transferi ile *mec* determinantını edinen ve daha sonra hafifçe çeşitlenerek tek lokus varyantları ST35 ve ST38’e yol açan ST30’un küçük bir varyantı olarak ortaya çıktığı varsayılmaktadır, bunlar da MRSA’dır. Oklarla birbirine bağlı olmayan tüm izolatlar birden fazla lokusta farklılık gösterir. ST37, hem ST30’dan hem de ST36’dan tek bir lokusta farklılık gösterir (üç ST’nin de farklı pta allelleri vardır) ancak, tutumluluk gerekçesiyle, metisiline duyarlı olduğu için ST30’dan türetildiği düşünülür. ST40, tek bir lokusta ST30’dan farklı olduğu için dahil edilmiştir, ancak bu, UPGMA kullanıldığında anormal şekilde kümelenmediği için belirgin değildir (Enright vd., 2000).

1959’da metisilin keşfinden sonra (Grubb, 1998) (12) MRSA izolatlarının *mec*’i yeni MSSA soylarına yatay gen transferi yoluyla ortaya çıktığı düşünülmektedir (Musser vd., 1992). Bu nedenle, MRSA izolatlarının MSSA atalarından ayırt edilecek housekeeping genlerinde dizi çeşitliliği oluşturmaları kısıtlı bir zamanda gerçekleşmiştir. Bu nedenle bazı MRSA klonlarının MSSA atalarıyla aynı veya allelik profil açısından çok yakından ilişkili olması beklenmektedir. Alternatif bir olasılık ise, MRSA klonlarının bazılarının *mec* genlerinin kaybolduğu veya inaktif hale geldiğidir.

Bu olasılığı göz ardı etmek zor olsa da, MRSA izolatlarıyla aynı allell profillerine sahip MSSA izolatlarının hiçbiri *mecA* genine sahip olmamışlığı tespit edilmiştir (Enright vd; 2000).

Oxford'da yapılan bir araştırmada, MRSA ve GISA'nın neden olduğu enfeksiyon kontrol sorunları ve sınırlı tedavi seçenekleri hastaneler için büyük bir endişe kaynağı olsa da, hastanelerde edinilen *S. aureus* enfeksiyonlarının çoğunluğu ile toplum içinde edinilen *S. aureus* enfeksiyonlarının neredeyse tamamı metisiline ve diğer çođu antibiyotik sınıfına duyarlı suşlar (metisiline duyarlı *S. aureus* [MSSA]) tarafından meydana gelmektedir. Birkaç alışmada, MSSA izolatları karakterize edilmiştir (Trzciński vd., 1997; Na'Was vd., 1998) ve toplum içinde (veya hastanelerde) dolaşan bazı MSSA klonlarının ciddi enfeksiyonlara neden olma (hipervirülan klonlar) ve uluslararası dağılıma sahip olup olmadığı belirsizdir. Ayrıca bu önemli patojenin popülasyonunun temel özellikleri ve evrimsel biyolojisi hakkında da bilgi bulunmamaktadır. Bu durum MSSA'ların normal bir *S. aureus*'a göre daha çok virulent olduğunu göstermekte ve ilerleyen zamanlarda kaçınılmaz bir şekilde, MRSA'ya dönüşebileceği farklı çalışmalarda bildirilmiştir (Enright vd; 2000). Aynı allelik profillere sahip MSSA izolatları, MRSA ile çok yakından ilişkilidir. Bu durum, MSSA izolatlarının, direnç geni olan *mec*'I, yatay gen transferi yoluyla edinerek, MRSA'ya dönüştüğu şeklinde açıklanmaktadır (Enright vd; 2000). MSSA klonlarının çođu hem toplum kaynaklı invaziv hastalığı olan hastalardan, hem de hastane kaynaklı invaziv hastalığı olan hastalardan elde edilmiştir. Toplum kaynaklı invaziv *S. aureus* hastalığına neden olan izolatların, bir istisna dışında MSSA olduğu tespit edilmiştir. Bu izolatlar daha önce sağlıklı bireylerde hastalığa neden olmuş ve toplum kaynaklı invaziv hastalıkla ilişkili yaygın ST'ler (örneğin, toplum kaynaklı hastalık vakalarının %35'ine neden olan ST 1, 25 ve 30) özellikle virülan MSSA klonlarını belirleyebilmektedir (Enright vd; 2000). MSSA izolatlarının analizi, metisiline duyarlı izolatlar bu çalışmada, toplanan invaziv *S. aureus* izolatlarının çoğunluğunu oluşturmaktadır (126 izolat; %81) ve toplum kaynaklı tüm enfeksiyonların %98'inden ve %70'inden sorumlu bulunmuştur. MSSA izolatlarının çoğunluğu (%71) allelik profillere sahip olduğu, en azından bir diğer MSSA izolatınıninkiyle aynı olan 17 ST'nin 14'ünün birden fazla izolat içerdiği görülmüştür. Hastanede edinilen ve toplumdaki edinilen MSSA izolatları arasında belirgin bir fark tespit edilmemiştir. En az üç MSSA ile temsil edilen 11 ST'nin tamamı, hem hastane kaynaklı hastalardan hem de toplum

kaynaklı hastalardan alınan izolatlar idi. Daha geniş coğrafik bölgeden alınan kaynaklardan izolatları inceleyen çok daha büyük çalışmalar, toplum kaynaklı invaziv hastalığa neden olan *S. aureus* klonlarının varlığını belirlemek için gereklidir. Bu tür çalışmalar halen devam etmektedir. Ancak, *S. aureus* için MLST şemasının kullanımı araştırmacıların MRSA veya GISA izolatlarını kesin olarak tanımlamasına ve bu suşların kökenlerini ve evrimini araştırmasına olanak tanıyacaktır (Enright vd; 2000).

### 1.1. MRSA'nın Tarihçesi

Hayvanlarda ve insanlarda çeşitli hastalıklara yol açabilen Stafilokoklar, ilk kez 1878'de Robert Koch tarafından tanımlanmıştır. Üremeleri sırasında birbirlerinden ayrılmayarak, mikroskopik görüntüleri üzüm salkımına benzeyen düzensiz kümeler oluşturduklarından dolayı bu bakterilere, Yunanca'da üzüm salkımı anlamına gelen "Staphyle" kelimesinden türetilerek *Staphylococcus* ismi verilmiştir (Altemeier vd., 1981). 1880'de Pasteur tarafından sıvı besiyerinde üretilmiş ve 1881 yılında ise Alexander Ogston tarafından fare ve kobaylar için patojen olduğu vurgulanmıştır. Rosenbach tarafından 1884'te üretilen beyaz renkli kolonileri *Staphylococcus albusi* olarak adlandırırken, sarı-turuncu renkli kolonileri ise *Staphylococcus aureus* olarak isimlendirmiştir (Altemeier vd., 1981). Stafilokoklar enfeksiyon etkeni olarak tanımlandıkları 1881 yılından bu yana insan ve hayvanlarda geliştirdikleri hastalıklarla patojen mikroorganizmalar arasında, ilk sıralarda yer almaktadırlar (Çetinkaya vd., 1996; Kapuağası vd., 1997).

1940'ların sonlarında ve antibiyotik çağından günümüze kadar penisilin piyasa sürülmesinden bu yana, *S. aureus*, yeni ilaç türüne dirençli hale gelerek hızla adapte olmuştur (Lyon vd., 1987; Swartz, 1994). Metisilin, insan tıbbına ilk kez 1950'lerde penisiline dirençli stafilokokların tedavisi için uygulanmış; ancak birkaç yıl içinde Birleşik Krallık'ta MRSA izolatları tanımlanmıştır (Williams, 2012). İlk defa 1960'larda tanımlanan MRSA, 1980'lerde hastanelerde önemli versikli bir patojen haline gelmiştir (Jevons vd. 1963).

Hayvanlarda MRSA, 1972 yılından beri bilinmektedir (Devriese vd., 1972). Hayvanlarda ilk MRSA, 1972'de süt sığırlarında mastitis vakalarından rapor edilmiş olup; ardından atlarda cerrahi sonrası yara enfeksiyonları da dahil olmak üzere çeşitli hayvanlarda sporadik enfeksiyonlar gözlemlenmiştir (Hartmann vd. 1997). İlerleyen

süreçte çeşitli hayvanlarda sporadik MRSA enfeksiyonları gözlemlenmiştir; 1989'da atlarda tanımlanan MRSA enfeksiyonları da dahil olmak üzere, bilinen MRSA enfeksiyonlarına dönüşmeye başlamıştır (Anzai vd. 1996). 1998'de Kore'de evcil köpeklerde MRSA bildirimi yapılmış ve hayvan hastanelerinde çeşitli hastalık tanısı konulan, 12 adet köpekte MRSA izole edilmiştir (Pak vd. 1999). 1999'da, ABD'inde, Michigan Üniversitesi, Hayvan Hastanesi'nde, atlarda LA-MRSA enfeksiyonu vakası bildirilmiştir (Seguin vd., 1999). Kanada'da ve Orta Avrupa'da at hastanelerinde MRSA enfeksiyon salgınları görülmüştür (Seguin vd., 1999; Weese vd., 2004; Weese vd. 2006a). 2003 yılında, Fransa'da izole edilen suşun, Fransa'daki ilk at MRSA vakalarından biri olabileceği bildirilmiştir (Haenni vd. 2010). MRSA'nın tanımlanmasından sonra, metisiline duyarlı suşlar MSSA olarak adlandırılmıştır. 1990'lar sonu MSSA terimi klinik literatürde yaygınlaşmıştır (Lowy, 1998). İlerleyen süreçte MRSA ve MSSA üzerine yapılan çalışmada Hiper Virulent MSSA tanımı da literatüre eklenmiştir (Enright vd; 2000). *S. aureus*'un tarihçesi **Tablo 1.'de** sunulmuştur.

**Çizelge 1.1.** *S. aureus*'un Tarihçesi

TARİH	KİŞİ	
1880	Louis Pasteur	Sıvı besi yerinde üretmiştir.
1881	Alexander Ogston	Fare ve kobaylar için patojen olduğunu belirtmiştir.
1884	Freidrich Julius Rosenbach	Koloni morfolojisine bakarak <i>S. aureus</i> olarak isimlendirmiştir.
1963	Jevons vd.	MRSA'yı tanımlamışlardır.
1972	Devriese vd.	Süt sığırlarında mastitis vakalarında MRSA rapor edilmiştir.
1997	Hartmann vd.	Atlarda cerrahi operasyon sonrası yara enfeksiyonunda MRSA rapor edilmiştir.
1998	Lowy	MSSA terimi klinik literatürde yaygınlaşmıştır.
1998	Pak vd.	Kore'de evcil köpeklerde MRSA bildirimi yapılmıştır.
1999	Seguin vd.	Michigan Üniversitesi, Hayvan Hastanesi'nde Atlarda LA-MRSA enfeksiyonu vakası bildirilmiştir.
2000	Enright vd.	Hiper Virulent MSSA tanımını kullanmıştır.

2000-2002	Seguin vd.; Weese vd.	Kanada'daki ve Orta Avrupa'daki at hastanelerindeki MRSA enfeksiyon salgınları görülmüştür
2003	Haenni vd.	Fransa'da ilk atlarda MRSA bildirilmiştir.

## 1.2. *S. aureus*'un Genel Özellikleri

*S. aureus*, Gram pozitif ve mikroskopik olarak düzensiz, üzüm salkımı benzeri koloni oluşturmaktadır. Hareketsiz, sporsuz ve katalaz pozitif, oksidaz negatiftir. Aerobik koşullarda hızlı bir şekilde gelişmektedir. Genomik DNA'sı, %36'lık bir G+C içeriğine sahiptir (Schleifer vd., 1972). *S. aureus*, genellikle altın rengi bir pigmente sahip, parlak, pürüzsüz, tam, kabarık, yarı saydam S tipi koloniler oluşturmaktadır. Halotolerant bir bakteri türüdür. Saf şekilde izole etmek amacıyla %7.5 sodyum klorür içeren Mannitol Slat Agar'a (MSA) ekim yapılmaktadır (Foster, 1996).

## 1.3. *S. aureus*'un Virulans Özellikleri

*S. aureus*, ciddi toplum kaynaklı ve hastane kaynaklı hastalıklarla ilişkili önemli bir patojendir (Emori ve Gaynes, 1993; Steinberg vd., 1996). Birleşik Krallık'ta *S. aureus*, *Escherichia coli* (*E. coli*)'den sonra kan kültürlerinden en sık izole edilen ikinci türdür ve hastane kaynaklı en yaygın organizmadır (Enright vd., 2000).

*S. aureus*'un bir çok virulans faktörüne sahip olması, çok çeşitli insan ve hayvan enfeksiyonlarında patojen olmasını sağlamaktadır. Sahip olduğu bu virulans faktörleri, konakçı hücrelere bağlanmaya, konakçı bağışıklık sistemini kırmaya, doku yıkımına, sepsise ve toksin aracılı sendromlara sebep olmaktadır. Güçlü konak immün yanıtı olmayan, kalıcı stafilokok enfeksiyonlarının temeli bu virulans faktörlerinden kaynaklanmaktadır (Kim vd., 2016).

Patojenitesini etkileyen bu faktörlere bakıldığında;  $\alpha$  toksin,  $\Upsilon$  toksin ve Leucocidini,  $\epsilon$  toksini,  $\sigma$  toksin, epidermolitik toksin, enterotoksin ve toksik şok sendrom toksin 1 gibi toksinleri olduğu bilinmektedir (Foster, 1996). *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *she*, *sei*, *sej*, *eta*, *etb*, *hla*, *hIb* gibi virulans genlerine sahiptir (Haenni vd. 2010).

## 1.4. MRSA'nın Hayvanlarda Yaptığı Enfeksiyonlar ve Klinik Bulguları

MRSA enfeksiyonuna ilişkin geçmişten günümüze, dünyanın dört bir yanından çok sayıda, halen bildirilen raporlar ve ihbarlar bulunmaktadır. 1997 yılında Hartman vd., bir üniversite hastanesinde, bir atta postoperatif MRSA enfeksiyonu bildirmişlerdir (Hartmann vd., 1997). Yumuşak doku ve deri enfeksiyonları, osteomyelit, septik artrit, bakteriyemi, pnömoni, omfalit, metritis gibi LA-MRSA ile enfekte hayvanlarda olabilecek klinik hastalıklardan sadece bir kaçıdır (Haag vd., 2019).

MRSA, hayvanlardan insanlara tür farketmeksizin, ensizyon veya yara enfeksiyonları, intravenöz kateter enfeksiyonu, bakteriyemi, pnömoni, cerrahi implant enfeksiyonu, septik artrit, omfaloflebit, gluteal apse ve osteomyelit gibi problemlere neden olmaktadır. Yeni doğan tayların burun deliklerinden, kandan ve intravenöz (juguler) kateterden MRSA izole edilmiş; taylarda septik artrit geliştirdiği de bildirilmiştir (Weese vd., 2005). Atların farklı vücut bölgelerinde meydana gelen yara enfeksiyonları, cerrahi alan enfeksiyonları, artrit, pnömoni, osteomyelit, kateter bölgesi enfeksiyonları, metritis ve dermatit gibi vakalar bildirilmiştir (Weese vd., 2005). Hastanede tedavi edilen atlarda, cerrahi enfeksiyonlar baskınken, eklem, deri yarası ve yumuşak doku yarası enfeksiyonları, CA-MRSA enfeksiyonlarda en yaygın olanlardır (Weese vd., 2010).

İnsan ve hayvan hastanelerinde postoperatif cerrahi bölge enfeksiyonları, solunum cihazı ve ekipmanı ile ilişkili pnömoni, septisemi ve eklem replasmanı sonrası enfeksiyonlar gibi hastane enfeksiyonlarına neden olabilmektedir. İnsan alt popülasyonuna atfedilen MSSA C398, t571 (Price vd., 2015; Uhlemann vd., 2012), septisemi ve cilt ve yumuşak dokuların ciddi enfeksiyonu açısından açıkça önemli bir virülans potansiyeline sahiptir (Uhlemann vd., 2012).

Başka bir vakada solunum zorluğu şikayeti ile hayvan hastanesine gelen, 6 saatlik yeni doğan dişi bir alpakadan alınan burun sürüntüsünden MRSA tespit edilmiştir. Yeni doğan alpakada MRSA enfeksiyonuna dair net bir tablo görülmemesine rağmen alpaka yaşamını yitirmiş, doğumdan sonraki 6 saate burun mukozasında MRSA kolonize olabilmesi hayvan ve halk sağlığı açısından dikkat edilmesi gerektiği bildirilmiştir. (Stull vd., 2012)

## 1.5. MRSA'nın Epidemiyolojik Özellikleri

Hayvanlarda LA-MRSA kolonizasyonunun birincil bölgesi burun delikleridir. Hayvanlarda gastrointestinal kanalda da LA-MRSA kolonizasyonu meydana gelebilmektedir (Smith vd., 2010). Sağlıklı hayvanların burun boşluklarının yaklaşık %10'unda LA-MRSA bulunmaktadır (Simor vd., 2001). LA-MRSA ile enfekte atların olduğu popülasyonda, LA-MRSA'nın at popülasyonu arasında yayılması kaçınılmazdır (Van den Eede vd., 2012). Atlarda LA-MRSA enfeksiyonu, spontan olarak veya çiftliklerde ve hayvan hastanelerinde salgınlar halinde ortaya çıkabilmektedir (McCarthy vd., 2012). Çoğunlukla, LA-MRSA izolatları ahırların duvarları, saman, yemlik ve suluklar gibi hayvanların burun boşluğu akıntılarıyla ve bu akıntıyla kontamine olmuş toz ile sıkı temas halinde olan alanlardan izole edilmektedir (Kinross vd., 2017). Hayvan hastaneleri ve hayvan çiftliklerinin çevresi, LA-MRSA bulaşması için önemli bir kaynak olarak kabul edilmez; ancak hayvan hastaneleri ve çiftlikleri ortamı, biyogüvenlik kuralları dahilinde uygun şekilde yönetilmezse LA-MRSA bulaşması için kaynak olabilmektedir (Balen vd., 2014). Bu nedenle, hayvan hastanelerinde ve çiftliklerde, özellikle atla ve diğer çiftlik hayvanlarıyla sıklıkla temas halinde olan alanlarda temiz bir ortamın sağlanması çok önemlidir (Koop, 2016; Kinross vd. 2017).

Hayvanlarda olduğu gibi insanlardan izole edilen MRSA enfeksiyonlarında da inkübasyon süresi klinik semptomata göre değişebilmekte ve hayvanlarda klinik bulgu göstermeden değişik periyotlarda kolonize olabilmektedir. At, kedi, köpek ve diğer evcil hayvanlar arasında asemptomatik MRSA taşıyıcılığı bulunabilmektedir. Bu hayvanlar hem insanlar, hem de diğer hayvanlar için rezervuar olarak görev almaktadır (Scott vd. 1988; Weese vd. 2006). Hayvanlarda MRSA'nın nazal olarak kolonize olabilmesi, MRSA'yı geniş bir konakçı edinim potansiyeli kazandırmaktadır (Weese vd. 2006b).

Araştırmalar, gerek hayvanlarla yakın temas sonrası, gerekse de ev ortamında, hayvan ile hayvan sahibi arasında MRSA bulaşmasını ortaya koymaktadır. Subklinik enfekte olan hayvanlar, enfeksiyon kaynağı olarak çoğu zaman göz ardı edilmekte ve CA-MRSA yaygınlaştıkça bu oran evcil hayvanlara da yansımaktadır. Bu durum bulaşmanın ilk olarak hayvandan mı yoksa hayvan sahibinden mi kaynaklandığının belirlenmesini zorlaştırmaktadır (Kireççi, 2009).

Loeffler vd. 2005'de, hayvan hastanelerinde, hastane çalışanlarının %17,9'unda MRSA taşıyıcılığı saptamışlar ve bu kişilerin bulaşmada rol aldıklarını belirtmişlerdir (Loeffler vd. 2005). MRSA'nın bir taydan hayvan bakıcılarına, kısa süreli (4 saat) temastan sonra, nispeten yaygın şekilde bulaştığına dair bir rapor bildirilmiştir. Atlara mesleki veya hobi amaçlı temasta bulunmanın, toplum sağlığı açısından önemli bir risk faktörü olduğu göz önünde bulundurulmalıdır (Weese vd. 2006). Hayvanlar etkeni nazal olarak bulundurabilmekte ve MRSA geniş bir rezervuar potansiyeline ulaşmaktadır. (Weese vd. 2006).

LA-MRSA suşu, birçok hayvanı enfekte edebilen bakteriyel bir patojendir. LA-MRSA'nın kolonize olduğu bölge, genellikle hayvanların burun boşluğudur. LA-MRSA ile enfekte olmuş hayvanlar genellikle klinik enfeksiyon göstermezler; ancak klinik enfeksiyon gösteren bazı vakalar olmuştur. Hayvan hastanelerinde ve çiftliklerde LA-MRSA bulaşması, büyük olasılıkla LA-MRSA ile enfekte veya kolonize olmuş hayvanlarla temasın bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Sıklıkla hayvanların burnuyla temas eden zemin yüzeyleri ve materyaller de LA-MRSA bulaşmasının kaynaklarıdır. At çiftliği gibi hayvanların bulunduğu yerde çalışanların, hayvan hastanesi çalışanlarının, çiftlik veteriner hekimlerinin, at hastanelerinde çalışan veya atlar üzerine çalışan serbest veteriner hekimlerin, atlardan LA-MRSA ile enfekte olma ya da nazal kolonize olma riski vardır. LA-MRSA'nın yayılması, muhafaza ortamının ve hayvan hastanesinin temizliği sağlanarak kontrol edilebilmektedir (Khairullah vd. 2022).

Geçtiğimiz 25 yıl boyunca MRSA, HA-MRSA prevalansında dünya çapında bir artış kaydedilmiştir. Ek olarak, MRSA enfeksiyonları hastanelerin dışında ve bağımsız olarak, toplum ilişkili MRSA (CA-MRSA) nedeniyle meydana gelebilmektedir. Almanya'da, bu sporadik enfeksiyonların en az %10'unun başlangıçta LA-MRSA kaynaklandığını bulunmuştur. Bu MRSA vakalarının çoğu klonal kompleks CC398'e atfedilmektedir. LA-MRSA CC398, geleneksel domuz çiftliklerinin yaklaşık yarısını asemptomatik olarak kolonize etmektedir. Domuzlara mesleki maruziyeti olan insanların yaklaşık %77-86'sında nazal kolonizasyon bildirilmiştir. Aynı çiftliklerde yaşayan aile üyeleri arasında %4-5'i nazal MRSA kolonizasyonuna sahip olabilmektedir. Bu grubun ötesine yayılması daha az sıklıkta görülmektedir. Hayvancılıkta LA-MRSA yaygınlığının çiftlik büyüklüğü, çiftçilik sistemleri,

dezenfektan kullanımı ve yemdeki çinko oranı gibi faktörlerden etkilendiği düşünülmektedir (Cuny vd., 2015)

*S. aureus*'un konakçılar arasında bulaşması öncelikle fiziksel temaslar aracılığıyla gerçekleşmektedir MRSA ile kolonize olmuş domuzların bulunduğu ahırlardaki toz, yoğun şekilde MRSA ile kontamine edilmiştir (Schulz vd., 2012). Bu nedenle, bu alanlarda çalışan insanlarda MRSA kolonizasyonunun MRSA ile kontamine tozun solunmasıyla gerçekleşmesi muhtemel görünmektedir (Bos vd., 2016). MRSA pozitif ahırlarda çalışan insanların %77-86'sında, burunlarında MRSA kolonizasyonu tespit edilmiştir (Cuny vd., 2009; Van Den Broek vd., 2009). MRSA kolonizasyonunun canlıda bulunma durumu ve devamlılığı, maruziyet süresine ve hayvan temaslarının yoğunluğuna bağlı gibi görünmektedir (Graveland vd., 2011). Çiftçilerin önemli bir kısmı tatil veya seyahat gibi durumlar nedeniyle ahırla teması kesintiye uğradığı halde bile MRSA kolonizasyonunun devam ettiği bildirilmiştir (van Cleev vd., 2011; Köck vd., 2012). Bu çiftliklerde yaşayan ama hayvanlarla ilgilenmeyen diğer kişilerdedaha az sıklıkla kolonize olmuştur (%4-5 (Cuny vd., 2009)).

Belçika, Danimarka ve Hollanda'da gerçekleştirilen karşılaştırmalı bir çalışmada, çiftçilerin hane halkı üyeleri arasında MRSA taşıyıcılığı için en önemli belirleyicinin domuz teması olduğunu ortaya koymuştur. (Belçika %29, Danimarka %0, Hollanda %6). Belçika'daki hane halkı üyelerinde gözlemlenen artan MRSA taşıyıcılık oranı, domuz maruziyetindeki ülkeye özgü farklılıklarla bağlantılı gibi görünmektedir (Gracia-Graells vd., 2013). Hollanda'da gerçekleştirilen başka bir çalışmada, MRSA pozitif damızlık dişi domuzlara sahip bir çiftçinin kendisinde MRSA pozitif olduğu ve hane halkı üyelerinde de MRSA taşıyıcılığı olduğu sonucuna varılmıştır (Van Cleeff vd., 2015).

Almanya'da domuzlarda, domuz çiftliklerinde çalışan insanlarda ve hane halkı üyelerinde MRSA kolonizasyonuna ilişkin bir çalışma yapılmıştır; bu çalışmaya katılan çiftliklerde antibiyotik kullanımında %44'lük azalmanın, hayvan temasından bağımsız olarak domuzlarda MRSA yaygınlığının ve insanlarda LA-MRSA yaygınlığının azalmasıyla ilişkili olduğunu göstermiştir (Dorado-García vd., 2015).

Tayvan'da LA-MRSA ST9'un domuzların burnunda kolonize olması, büyük çiftliklerde %34 ve küçük çiftliklerde %7 oranında olduğu tespit edilmiştir. Bu durum büyük çiftliklerde küçük çiftliklere kıyasla daha yüksek oranda, domuzların burnunda

MRSA kolonizasyonu olduğunu göstermektedir. Domuzlarla mesleki temas halinde olan insanlarda da benzer bir durum gözlenmektedir. Büyük domuz çiftliklerinde çalışan insanların %36,8'i MRSA ile kolonize iken, küçük domuz çiftliklerinde çalışan insanların %9,1 MRSA ile kolonize olduğu tespit edilmiştir (Fang v., 2014).

LA-MRSA ile burun kolonizasyonu ayrıca mezbaha işçilerinde tespit edilmiştir (Van Cleef vd., 2010; Mulders vd., 2010), Almanya'daki veteriner hekimlerde (Cuny vd., 2009; Hermes vd., 2012) ve Belçika'daki veteriner hekimlerde (Gracia-Graells vd., 2012) de tespit edilmiştir; burada hayvanların veteriner hekimler tarafından bulunduğu yerde ziyaret edilmesi, önemli bir risk faktörü olarak belirlenmiştir. Veteriner hekimlerden hanehalkının da MRSA tarafından kolonize edildiği bulunmuştur (Cuny vd., 2009; Verkade vd., 2014). Veteriner hekim ailelerinde LA-MRSA kolonizasyonunu incelemek için tüm genom haritaları kullanılmıştır; bunun sonucunda hayvanlarla temas halinde olmasına rağmen veteriner hekimlerin ailesindeki kişilerin LA-MRSA ile kolonize olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak LA-MRSA'nın insanlar arasında kolaylıkla yayılabildiği gösterilmiştir (Bosch vd., 2015).

Bu verilerin çoğu geleneksel çiftliklerde yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. LA-MRSA CC398, Almanya'daki organik çiftliklerde domuzlarda ve insanlarda yapılan MRSA tarama çalışmaları sonucunda bulunamamıştır (Cuny vd., 2012) ve Hollanda'daki geleneksel çiftliklere kıyasla organik çiftliklerdeki domuzlarda LA-MRSA'nın açıkça daha az yaygın olduğu görülmüştür (Van de Vijver vd., 2014). LA-MRSA'nın çiftlikler dışında insanlar arasında yayılması, Almanya'nın kuzeybatısındaki domuz çiftliklerinin fazlaca bulunduğu bölgedeki okul öğrencileri üzerinde yapılan bir çalışmada öne sürüldüğü gibi nadir görülmektedir (Cuny vd., 2009). Bununla birlikte, hastaların hastane yatışı sırasında taranması sonucunda, LA-MRSA yaygınlığı Almanya'nın kuzeybatısında tüm Almanya'dan önemli ölçüde daha yüksek olduğu görülmüştür (Köck vd., 2013). Bu durum Hollanda'daki çalışmaların sonucuyla örtüşmektedir (Feingold vd., 2012). Domuz ahırlarından çıkan havadaki LA-MRSA emisyonu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Ahırlardan rüzgar yönünde 350 metreye kadar havada ve 500 metreye kadar uzakta, toprak yüzeyinden MRSA tespit edilmiştir (Friese vd., 2013). LA-MRSA ayrıca tavuk çiftliklerinden alınan gübrede ve bu gübre ile gübrelenen toprakta da tespit edilmiştir (Friese vd., 2013). Toprakların tavuk dışkısıyla gübrelenmesine bağlı olarak, Avusturya'daki kargaların dışkı örneklerinde LA-MRSA'nın gösterilmesi ilgi çekicidir (Loncaric vd., 2013).

Almanya'nın Aşağı Saksonya eyaletinde yapılan bir çalışmada, evleri hayvancılık çiftliklerine yakın olan insanların yaklaşık %1'inde LA-MRSA CC398 ile burun kolonizasyonu bulunmuştur (Bisdorff vd., 2012). Özellikle ilgi çekici olan, ABD'nin Pensilvanya eyaletinde yapılan kapsamlı bir epidemiyolojik çalışmanın sonuçlarıdır; bu çalışmada, geleneksel çiftliklerden gelen gübre ile gübrelenen tarlaların yakınında yaşayan insanlarda, MRSA sebepli deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının daha sık olduğu tespit edilmiştir. Ne yazık ki bu çalışmada hem hayvan gübresi kökenli MRSA izolatının hem de insan kökenli yeterli sayıda MRSA izolatının tiplendirilememesinden dolayı karşılaştırmalı olarak ayrıntılı bir sonuca ulaşamamıştır (Casey vd., 2013). LA-MRSA CC398'in köpeklerde ve kedilerde bildirildiği için, insanlara ve diğer hayvanlara bulaşması muhtemel görünmektedir ve evlerde ve çiftliklerde temel hijyenin önemini hatırlatmalıdır (Idelevich vd., 2016).

LA-MRSA CC398'in yapılan bazı çalışmalarda, insandan insana bulaşmasının daha nadir olduğu görülmüştür. Ancak, İspanya'da (Benito vd., 2014) ve Almanya'da (Deiters vd., 2015) yapılan araştırmalar sonucunda hayvanlarla teması olmayan insanlarda LA-MRSA enfeksiyonlarına ilişkin güncel veriler mevcuttur. Hollanda'da, tüm LA-MRSA CC398 insan vakalarının %15'inde kişilerin domuzlar veya sığırlarla doğrudan temas kurmadığı gözlemlenmiştir (Lekkerkerk vd., 2015).

İnsandan insana bulaşma ve çevresel maruziyetin yanı sıra, LA-MRSA'nın kontamine et ürünleriyle temas yoluyla da bulaşabildiği tespit edilmiştir. Özellikle profesyonel gıda işletmelerinde bu durum daha da yaygın olabilmektedir. Çünkü Hollanda'da yapılan bir çalışmada, kümes hayvanlarını düzenli bir şekilde tüketen kişilerde LA-MRSA tarafından kolonize olma riskinin istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur (van Rijen vd., 2013).

LA-MRSA CC398, genel olarak insanlardan elde edilen *S. aureus* ile aynı virülans potansiyeline sahiptir. LA-MRSA'nın ve *S. aureus*'un aynı ve çok çeşitli klinik tablolarla ilişkili olduğu bilinmektedir. Hastane ortamının dışında, bunlar çoğunlukla cerrahi müdahaleler gerektiren cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarıdır. Etkilenen hastalar çoğunlukla hayvanlara mesleki olarak maruz kalan ve onlarla ara sıra temas eden kişilerdir. LA-MRSA, MRSA ile bağlantılı şiddetli cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarının yaklaşık %13'ünü temsil eder (Layer vd., 2012).

Uygun tedaviye ihtiyaç duyan ve LA-MRSA'nın neden olduğu enfeksiyonu olan hastalar veya burun kolonizasyonu olan hastalar aracılığıyla bu etken insan ve hayvan hastanelerine girmektedir. Devamında, cerrahi bölge enfeksiyonlarına, eklem artroplastisi sonrası enfeksiyonlara, ventilatörle ilişkili pnömoni veya septisemi gibi hastane enfeksiyonlarına yol açabilmektedirler (Witte vd., 2007; van Cleef vd., 2011). Almanya'nın Brandenburg eyaletinin güneyinde, hayvancılık çiftliklerinin düşük yoğunlukta olduğu bir bölgede hastanede yatan insanlarda, MRSA kolonizasyonu üzerine yapılan bir araştırmada, araştırılan 13.855 birey arasında %0,08'inde LA-MRSA CC398 ile kolonizasyon olduğu bildirilmiştir (Juretzek vd., 2011). Hayvan çiftliklerinin önemli bir yoğunluğa sahip olduğu Kuzey Ren Vestfalya federal eyaletinin Ems-Dollart bölgesinde, hastane yatışında tarama ile tespit edilen tüm MRSA'lar arasındaki LA-MRSA CC398 oranı, tüm bireylerin toplam %1,6'sını kapsamaktadır. Bu oran 2008'de %14'ten, 2011'de %23'e yükselmiştir. Buna uygun olarak, yara enfeksiyonlarından kaynaklanan MRSA'lar arasındaki LA-MRSA oranı aynı zaman diliminde %7'den %10'a yükselmiştir (Feingold vd., 2012). Bu bölgede septisemi kaynaklı MRSA'lar arasındaki LA-MRSA oranı yaklaşık %10 iken, tüm Kuzey Ren Vestfalya'da önemli ölçüde daha düşük olduğu görülmüştür (%1,8); bu da tüm Almanya için bildirilen orana karşılık gelmektedir (Layer vd., 2012).

İnsanlarda kolonizasyon ve enfeksiyonlardan kaynaklanan tüm MRSA izolatları arasındaki LA-MRSA oranları, genel MRSA yaygınlığıyla ilişkili olarak değerlendirilmelidir. Elbette, Genel MRSA oranı Hollanda gibi HA-MRSA yaygınlığının düşük olduğu ülkelerde LA-MRSA oranları daha yüksektir. Hastanede yatan ve taranan hastalar arasında %9,7'sinin MRSA açısından pozitif olduğu bulunmuştur. MRSA pozitif bulunan hastaların %78'inin LA-MRSA ve %22'sinin LA-MRSA olmadığı saptanmıştır (van de Sande-Bruinsma vd., 2015).

Çiftlik hayvanlarıyla temas eden çiftçiler ve veteriner hekimler için hastane kabulünde MRSA kolonizasyonu taraması yapılması önerilmektedir. Yeterli hijyenin olmadığı durumlarda HA-MRSA için tipik olan hastane içi yayılma, bugüne kadar LA-MRSA için yalnızca nadiren gözlemlenmiştir. Almanya genelinde hastane enfeksiyonlarından kaynaklanan tüm MRSA'lar arasında LA-MRSA oranı yaklaşık %3'tür.

LA-MRSA CC398'in geleneksel olarak yetiştirilen domuzlarda kolonize olmasına ilişkin ilk raporlar sırasıyla, Hollanda, Danimarka, Almanya, Fransa, İtalya (European Food Safety Authority [EFSA], 2009) gibi belirgin geleneksel çiftçiliğe sahip Avrupa

lkelerinden ve daha sonra Kuzey Amerika'dan (Molla vd., 2012), Kuzey Afrika'dan (Chairat vd., 2015), Asya'dan (Chuang ve Huang, 2015) ve Avustralya'dan (Groves vd., 2014) gelen çeşitli raporlar izlemektedir. Başlangıçta LA-MRSA CC398 domuzları, daha sonra sığırları (Graveland vd., 2009) ve kümes hayvanlarını (Nemati vd., 2008) ilgilendirmekteydi. LA-MRSA CC398 ayrıca süt sığırlarında (Vanderhaeghen vd., 2010) ve hindilerde (Richter vd., 2012) de bildirilmiştir. LA-MRSA CC398'in hayvanlarda neden olduğu enfeksiyonlar çok nadirdir (Tenhagen vd., 2009). Çiftlik hayvanlarında LA-MRSA'nın ortaya çıkması çiftlik büyüklüğü (Alt vd., 2011; Graveland 2011) , geleneksel ve alternatif çiftçilik sistemleri (Cuny vd., 2012; Van de Vijer vd., 2014), dezenfektan kullanımı ve yemde inko (Slifierz vd., 2015) ile alakalı olduğu görünmektedir. LA-MRSA'nın çiftlikler arasında yayılması genellikle hayvan ticareti, yani uzmanlamı üreticiler tarafından satılan domuz yavruları aracılığıyla gerçekleşmektedir (Broens vd., 2011). Beklendiği ve neredeyse engellenemediği üzere, çiğ et ürünleri işleme sırasında kontamine olabilmektedir. Hollanda'da, 2217 et rneği kontrol edildiğinde, domuz etinin %10,7'sinde, sığır etinin %15,2'sinde, dana etinin %15,2'sinde, kuzu etinin %6,2'sinde ve hindi etinin %35,3'nde MRSA kontaminasyonu bulunmuştur (de Boer vd., 2009). Almanya'da yapılan bir araştırma, MRSA kontaminasyonun domuz eti son ürünlerinin %2,8'inde olduğunu göstermiştir (Beneke vd., 2011). 2010 yılında, hindi etinde %32'lik bir MRSA kontaminasyon oranı bildirilmiştir (Vossenkuhl vd., 2014). Benzer kontaminasyon oranları Kanada ve Amerika Birleşik Devletleri'nden (Pu vd., 2009; Weesse vd., 2010) ve Tayvan'dan bildirilmiştir. MSSA/MRSA CC398'in gıda zehirlenmesine dahil olduğu bugüne kadar bildirilmemiştir ve bu klonal komplekse atfedilen izolatlar nadiren enterotoksin genleri içeriyor olduğu görünmektedir (Argudn vd., 2011; Kadlec vd., 2009). Bu durum, MRSA CC398'in profajlar tarafından tutulan ve insanlarda *S. aureus* için tipik olan bağışıklık kaçınma gen kümesini (Immune Evasion Gene Cluster((IEC)) yeniden edinebilmesiyle değişebilmektedir. Belirli IEC tipleri *sea* veya *sep* genlerini içerebilir (Van Wamel vd., 2006). IEC, insanlarda LA-MRSA CC398 enfeksiyonlarının %19'unda (n = 99) bulunmuştur; bu izolatlardan yalnızca biri *sea* genini içeriyordu (Cuny vd., 2015). Domuzlardan elde edilen IEC içeren izolatlar şimdiye kadar tanımlanmamıştır; ancak atlardan ve bakıcılarından kaynaklanan at kliniğiyle ilişkili alt popülasyona atfedilen izolatlar arasında daha sık olduğu grlmtir. Bu izolatlardan birinin *sea* içerdiği bulunmuştur (Cuny vd., 2015). Tank sütünde LA-MRSA CC398'in bulunması,

Almanya'daki süt sığırlarında MRSA'nın meme kolonizasyonunu ve muhtemelen subklinik mastitis vakalarını düşündürmektedir (Tenhagen vd., 2014). LA-MRSA CC398, endüstriyel tavşan çiftliklerine de ulaşmıştır (Agnoletti vd., 2014) ve bir evcil tavşanda gözlemlenmiştir (Loncaric ve Künzel, 2013).

LA-MRSA'nın insanlara yeniden adapte olabileceği ve hayvanlara yeniden bulaşabileceği, burada sık sık kolonize olabileceği ve daha sonra tekrar insanlara bulaşabileceği ve belirgin bir yayılma kapasitesine sahip olabileceği bir durumun erken tanınmasına özellikle dikkat edilmelidir. İnsanlara adapte olmuş *S. aureus* varyantları genellikle, LA-MRSA'nın insana adapte olmuş atasından evrimleşmesiyle kaybolan bağışıklık kaçınma gen kümesi IEC'yi içermektedir (Kadlec vd., 2009). İnsanlardaki MRSA enfeksiyonları arasında IEC içeren önemli bir LA-MRSA bölümünün bulunması, LA-MRSA suşlarının insanlara yeniden adaptasyon sağlaması riskini taşımaktadır. IEC'nin at kliniğiyle ilişkili MRSA CC398 alt popülasyonunun izolatları arasında gözlemlenmesi, veteriner hekimleri kolonize ederken ve atlara yeniden transfer ederken IEC edinildiğini göstermektedir (Cuny vd., 2015). LA-MRSA CC398'in IEC'ye sahip olması, insanlarda invaziv enfeksiyonlara neden olması için gerekli olmamaktadır. McCarthy ve Lindsay'in önerdiği gibi, *S. aureus*'un her soyu çeşitli mekanizmalarla konak bağışıklık tepkilerinden kaçınmaktadır. IEC'nin insanlarda kalıcı kolonizasyon ve enfeksiyondaki kesin rolü henüz gösterilmemiştir. Stafilokinaz, insanlarda nazal kolonizasyonunun ilk adımı için gerekli görünmese de, nazal kolonizasyonu sürdürmek için önem teşkil edebilmektedir. İnsan kökenli özellikle iki virülan MSSA grubu, LA-MRSA CC398'in insanlara yeniden adaptasyonunu yansılgı çekici olmuştur: Bunlar (i) *spa* tipi t571 sergileyenler; ve (ii) Panton-Valentine lökositini kodlayan *luk*-PV genlerini içeren gruplar olduğu gözlemlenmiştir. PVL, özellikle derin köklü cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları ile invazivlikle ilişkilidir. MSSA C398, t571, insan alt popülasyonuna ilişkilendirilir (Price vd., 2012; Uhlemann vd., 2012), septisemi ve cilt ve yumuşak dokuların ciddi enfeksiyonu açısından açıkça önemli bir virülans potansiyeline sahip olduğu bilinmektedir (Uhlemann vd., 2012).

MRSA enfeksiyonları New York bölgesinde ve Fransa ve Belçika'da bildirilmiştir; Almanya'da şimdiye kadar nadir görülmüştür (Cuny vd., 2013). Karşılaştırmalı genom analizlerinde önemli veriler olmasına rağmen (Fitzgerald, 2012), hangi genom değişikliklerinin bu izolatları özellikle virülan hale getirdiğinin gösterilmesi

gerekmektedir. *Luk*-PV içeren MSSA CC398 ilk olarak Çin'de (Cuny vd., 2013) ve daha sonra İskandinav ülkelerinde (Zhao vd., 2012) tanımlanmıştır.

Ayrıca Almanya'da, MRSA CC398 *luk*-PV enfeksiyonları kaynaklı sporadik salgınlar meydana gelmiştir. Bunlar ilk (ata) alt popülasyonu ile ilişkilendirilmiştir ve *luk*-PV edinen LA-MRSA'yı temsil etmemektedir (Cuny vd., 2015). LA-MRSA'nın insandan insana bulaşmasına ilişkin ilk gözlemler, söz konusu izolatların genomik tabanlı daha fazla analizini ve insan ve veterinerlik kurumlarıyla yakın işbirliği içinde hedefli gözetimi gerektirmektedir.

## 1.6. MRSA'nın Klonları

2012'de hayvanlarda, MRSA izolatları arasında Klonal kompleks 398 (CC398) olarak adlandırılan yeni bir klon saptanmış ve bu klonun insanlarda da kolonize olduğu ve enfeksiyonlara neden olabildiği tespit edilmiştir. (Price vd. 2012). Avrupa'da, LA-MRSA'nın CC398 klonu, çeşitli hayvan türlerine (domuz, kümes hayvanları, sığır), bakıcılarına ve veteriner hekimlere yayılmıştır. Bu klon, potansiyel türler arası ve zoonotik yayılımıyla bilinmekte, bu da hayvanları ve onların bakıcılarına, karşılıklı bulaşmasına ve enfeksiyon riskinin artmasına neden olmaktadır (Catry vd. 2010; Weese vd. 2010). Atlarda MRSA taşıyıcılığı, hem atlarda hem de zoonotik bulaşma ve enfeksiyon riski taşımaktadır. Avrupa'da CC398, hayvancılıkla ilişkili LA-MRSA, at kliniklerinde atlarda ve veteriner hekimlerde oldukça yaygındır. (Van den Eede vd. 2012).

2005 yılından bu yana, domuzlar, evcil hayvanlar, atlar ve insanlar arasında yaygın olarak bulaşan ST398 klonunun ortaya çıkması ve sahip olduğu konak çeşitliliğinden dolayı üzerinde durulmaktadır (Cuny vd. 2010). Kuzey Avrupa'da oldukça yaygın olduğu bildirilen ST398'in 2009 yılında tespit edilememiş olması, bu klonun at popülasyonuna daha yeni yayılmış olmasından kaynaklanmaktadır (Van den Eede vd. 2009). Fransa ve Hollanda'da domuz çiftliklerinde, insanlara kolonize olabilen Sequence tip 398 (ST398) ilk olarak 2000'li yılların başında tespit edilmiştir (Kahanna vd. 2008; Lewis vd. 2008; Baba vd. 2010; Wulf vd. 2011). Tüm genom analizi ile ST398'in insan MSSA izolatlarından köken aldığını ve evcil hayvanlar arasında yayılarak metisiline ve tetrasikline direnç genlerini kazanırken insanlara kolonize olma, bulaşma ve virülens kapasitelerinin azaldığı tespit edilmiştir (Price vd. 2012).

*Spa* tipi t064 olarak tanımlanan 3 MRSA izolatı, sırasıyla 2003, 2004 ve 2006 yıllarında, 10-12 günlük taylardan izole edilmiştir. *Spa* tipi t064 genellikle, önce insanlarda, sonra hayvanlarda ve daha spesifik olarak atlarda tanımlanan klonal komplekse (CC)8'e ait olduğu saptanmıştır (Holtfreter vd. 2007; Julia M-L Sung vd. 2008; Cuny vd. 2010).

LA-MRSA ST8 (USA500) ile enfekte taylarla temas eden çiftçiler, tayda LA-MRSA'a sebep olan suşunun neden olduğu bir deri enfeksiyonu semptomları göstermiştir (Algammal vd. 2020).

Yaklaşık 50 yıl önce, *S. aureus* izolatlarının insanlardan ve çiftlik hayvanları da dahil olmak üzere çeşitli hayvan türlerinden fenotipik karakterizasyon yoluyla daha fazla farklılaştırılması, *S. aureus*'un farklı ekovarlarının (biyotiplerinin) ayırt edilmesini sağlamıştır. Kullanılan metodoloji ile belirli bir konakçıya atfedilemeyen biyotipler de bulundu. Günümüzde, insanlarda MRSA kolonizasyonlarından ve enfeksiyonlarından kaynaklanan *S. aureus* izolatlarının %87'sinin yaygın olarak bulunan 11 klonal komplek bilinmektedir: CC1, CC5, CC8, CC12, CC15, CC22, CC25, CC30, CC45, CC51 ve CC121. Klonal kompleksler CC8, CC15, CC22, CC30, CC45, CC30, CC45 ve daha nadir klonal kompleksler CC80 ve CC152, öncelikle insanlardan alınan izolatlarla ilişkilidir.

MRSA uzun zaman önce evcil hayvanlarda tespit edilmiştir (Cuny vd., 2010). Bu konudaki ilk çalışmalarda *S. aureus* ve MRSA'nın genetik geçmişi ve antimikrobiyal direnci, çiftlik hayvanlarında konak özgüllüğü ile ilişkilendirilmiştir. Bu görüş, karşılaştırmalı genom analizine dayanan çalışmalar nedeniyle değişmiştir. Dahası, CC130 ve CC398'e atfedilen düşük konak özgüllüğüne sahip MRSA ortaya çıkmıştır. CC97, CC133, CC522 klonal kompleksleri ve klonal soy hattı ST151 esas olarak ruminantlardan elde edilen izolatlar tarafından temsil edilirken; klonal soy hattı ST385 esas olarak kümes hayvanlarından elde edilen izolatlar tarafından temsil edilmektedir (Köck vd., 2014; Cuny vd., 2010; Espinosa\_Gongora vd., 2014). İnsanlardan ve kümes hayvanlarından ST5'e atfedilen MSSA izolatlarının ve CC398'in MSSA / MRSA'sının genomlarının karşılaştırmalı analizi, bu klonal komplekslerin çiftlik hayvanı alt popülasyonlarının insanlardaki atalardan kaynaklandığını ortaya koymuştur (Pirecve vd. 2012; Lowder vd., 2009). Öte yandan, ST91'e atfedilen insanla ilişkili izolatlar açıkça ruminantlardan kaynaklanmıştır (Harmsen vd., 2003). Hayvanlar genellikle insanla ilişkili genotipler tarafından kolonize edilmekte (Walther vd., 2012); ancak

bazı çalışmalar konak özgüllüğünü belirleyen kolonizasyon faktörlerini tanımlamaktadır (Pantosti, 2012). Avrupa'da serbest yaşayan vahşi hayvanlarda MRSA tespiti, LA-MRSA ve CA-MRSA genotiplerinin düşük yaygınlığını ortaya koymuştur.

Hayvanların konakçılara adaptasyonla ilişkili genetik değişiklikler, çekirdek genomdan ziyade aksesuar genomla ve profajlar ve genomik patojenite adaları gibi hareketli genetik elemanlarla daha fazla ilişkili olduğu bilinmektedir (Pirecve vd. 2012; Lowder vd., 2009; Uhlemann vd., 2012; Utter vd., 2014). Bu genetik ilişkilere rağmen, LA-MRSA CC398 insanlarda enfeksiyona neden olma kapasitesini korumuştur (Witte vd., 2007). Şimdiye kadar tanımlanan LA-MRSA suşları arasında CC398 en yaygın olanıdır. İkinci en sık görülen LA-MRSA klonal soyu, dünya çapında yayılmış olan ve özellikle Asya'daki çeşitli hayvan türleri arasında yaygın görülen klonal kompleks CC9 tarafından temsil edilmektedir (Chuang ve Huang, 2015). ST5'e atfedilen MRSA, yakın zamanda ABD'deki domuzlarda bildirilmiştir (Molla vd., 2012). Ayrıca, CC1'e atfedilen MRSA'nın düşük bir konak özgüllüğüne sahip olduğu görülmektedir. Birçok ülkede insanlardaki enfeksiyonlardan tespit edilmiştir ve özellikle Romanya'daki hastane enfeksiyonlarından izole edilenler arasında yaygın olduğu bilinmektedir (Grundmann vd., 2014). Luk-PV (Panton Valentine Lökosidin, PVL) içeren MRSA CC1, 1990'ların sonunda ABD'de ortaya çıkmıştır ve dünya çapında birçok ülkede bildirilmiştir (Deurenberg ve Stobberingh, 2009). MRSA CC1 (PVL negatif) ilk olarak Macaristan'daki sığırlarda görülen bir subklinik mastitis vakasında bildirilmiştir (Juhász-Kaszanyitzky vd., 2007). Daha sonra hayvan hastanelerine kaldırılan atlardaki enfeksiyonlarda tanımlanmıştır (Cuny vd., 2008), İtalya'daki çiftlik domuzlarından sıklıkla izole edilen bir MRSA kolonizasyonu, diğer Avrupa ülkelerindeki domuzlarda daha az sıklıkla görülmüştür (Alba vd., 2015). Tip özellikleri ve virülansla ilişkili genlere sahip olma açısından İtalya'da sığır sürülerinden ve insanlardan izole edilen izolatların yüksek genetik yakınlığı özellikle ilgi çekmektedir (Alba vd., 2015).

Geçtiğimiz beş yıl boyunca, *mecA* yerine homolog *mecC*'yi içeren CC130'a atfedilen MRSA dikkat çekmektedir. Bu klonal kompleks için konak özgüllüğünün sınırlı olduğu bilinmektedir. CC130'a atfedilen izolatlar, özellikle sığır, koyun, keçi, köpek ve kedi olmak üzere evcil hayvanlardan ve ayrıca geyik, dağ keçisi (MSSA), kahverengi sıçan, fok (Paterson vd., 2012; Walther vd., 2012; Loncaric vd., 2013;

Paterson vd., 2014) ve hatta tavşan (esaret altında mara) (Espinosa-Gongora vd., 2015) gibi vahşi yaşamdan bildirilmiştir. İlginç bir şekilde, MRSA CC130, aynı yaşam alanını paylaşan evcil ruminantların yanı sıra vahşi yaşamda da gözlemlenmiştir ve bu da karşılıklı MRSA alışverişini düşündürmektedir (Loncaric vd., 2014). MRSA CC130 insanlarda da enfeksiyonlara neden olabilese de (Paterson vd., 2014), bu vakalara şimdiye kadar nadir olarak rastlanmıştır (Cuny vd., 2011). Homolog *mecC* geni, süt sığırlarında mastitise nedeni olarak ortaya çıkan ve insan enfeksiyonlarında da tanımlanan ST425'e atfedilen MRSA klonunda da mevcut olduğu görülmüştür (García-Álvarez vd., 2011). Ayrıca, ST425'e atfedilen MSSA'nın, ST133'e atfedilen izolatların yanı sıra yaban domuzlarının burun kolonizasyonundan da rapor edildiği bildirilmiştir (Meemken vd., 2013).

Hayvan kliniklerine getirilen, salgın HA-MRSA suşları, küçük hayvan bölümlerinde MRSA ST22 için bildirildiği gibi hastane enfeksiyonlarının ortaya çıkmasına sebep olabilmektedir (Harrison vd., 2011; Walther vd., 2009a) İlk olarak Kanada'da at kliniklerinden izole edilen ve o zamandan beri dünyanın diğer bölgelerinde bildirilen MRSA ST8, *spa* tipi t064, HA-MRSA ST8 alt popülasyonuna bağlı olduğu konusundan şüphe uyandırmıştır (Weese vd., 2006). İlginç bir şekilde, bu tip özelliklerine sahip MRSA, Kanada deniz parkında deniz memelilerinden (yunuslar, orkalar, beluga balinaları ve morslar) de elde edilmiştir (Faires vd., 2009). Kuzey Almanya ve Birleşik Krallık'ta gözlemlenen MRSA ST254, at hastanelerindeki enfeksiyon vakalarında bildirilmiştir ve HA-MRSA ile benzer genetik özellikleri paylaştıkları görülmüştür (Cuny vd., 2008; Walther vd., 2009b) CA-MRSA, Iowa'da yapılan bir çalışmada bir pamuk kuyruklu tavşan türünde *spa* tipi t008 (CC8); daha küçük sarıbacak kuşlarında *spa* tipi t002 (CC5) gösteren izolatlar hakkındaki rapor, yaban hayatına da MRSA'nın yayılabildiğini göstermiştir (Wardyn vd., 2012).

Darbeli alan jel elektroforezi (PFGE), MRSA'nın yerel ve küresel epidemiyolojilerinin incelenmesi için en yaygın kullanılan moleküler tipleme yöntemidir (Bannerman vd., 1995). Bu yöntemin, hastane kaynaklı salgınların araştırılmasında oldukça başarılı olduğu kanıtlanmıştır (Cox vd., 1998; Dominquez vd., 1994; Richardson ve Reith, 1993) ve ayrıca büyük salgınlara neden olma ve ulusal ve uluslararası alanda yayılma konusunda özel bir yeteneğe sahip olan MRSA klonlarını tanımlamak için de kullanılmıştır (salgın MRSA klonları; EMRSA (De Sousa vd., 1998; Roman vd., 1997). PFGE'de DNA'ların jelde yürütülmesi sonucu jelde oluşan görüntülerin, birbirinden

farklı laboratuvarlarda farklı ortam, koşul ve materyaller kullanılmasına bağlı olarak tamamen birbirinin aynı sonuçlar elde edilememektedir. Bu durum sonuçların optimal bir şekilde birbiri ile karşılaştırılmasını ciddi derecede zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, farklı laboratuvarlar tarafından tanımlanan EMRSA klonlarının genetik akrabalığı konusunda önemli bir karışıklık meydana gelmektedir. EMRSA klonlarının ve virülen MSSA klonlarının referans suşlarını değiştirmeye gerek kalmadan tanımlanmasına izin veren bir yöntem gerekmektedir. Bu yöntem MLST'dir. (Enright vd., 2000)

## 1.7. MLST

MLST, yedi housekeeping genin *arcC* (Carbamate kinase), *aroE* (Shikimate dehydrogenase), *glpF* (Glycerol kinase), *gmk* (Guanylate kinase), *pta* (Phosphate acetyltransferase), *tpi* (Triosephosphate isomerase), *yqi* (Acetyl coenzyme A acetyltransferase)) 450 bp'lik dahili parçalarını dizilerine dayanarak bakteri izolatlarını karakterize eden oldukça ayırt edici bir yöntemdir (Maiden vd., 1998). Her gen parçası için, farklı diziler, ayrı alleller olarak atanır ve her izolat, yedi housekeeping lokusun her birindeki alleller tarafından tanımlanır (Allel profili veya dizi tipi [ST] (sequence type)). Yedi lokusun her birinde birçok allel olduğu için, izolatların şans eseri aynı allellik profillere sahip olma olasılığı oldukça düşüktür ve aynı allellik profiline sahip izolatlar aynı klonun üyeleri olarak atanabilir (Maiden vd., 1998; Spratt, 1998; Enright vd., 2000).

*S. aureus* türünün popülasyon yapısı büyük ölçüde klonaldır; yani farklı suşlar arasında genomların parçalarının rekombinasyonel değişimi nadirdir. Bu nedenle, yedi housekeeping geninin allelik profillerini ve ortaya çıkan dizi tiplerini (ST'ler) içeren çok lokuslu dizi tiplemesi (MLST), MRSA'nın evrimsel kökenini ve yayılmasını izlemek için güvenilir bir yöntemdir. Yedi MLST allelinden en az beşini paylaşan izolatlar klonal kompleksler (CC'ler) olarak gruplandırılmaktadır (Feil vd., 2003). Spa tiplemesi dünya çapında birinci basamak tipleme aracı olarak kullanılır. Spa geninin X bölgesinin dizi polimorfizmlerine dayanır ve ayrıca CC'lere ön atıf yapılmasına izin vermektedir (Harmsen vd., 2003; Cuny vd., 2015).

MLST sonucu elde edilen bakteriyel gen dizi verileri laboratuvarlar arasında kolayca karşılaştırılabilir. MLST'nin en büyük avantajlarından biri, farklı çalışmalarda elde edilen sonuçların internet üzerinden karşılaştırılabilmesidir. Ayrıca MLST

tarafından elde edilen veriler, bakteri türlerinin evrimsel ve popülasyon biyolojisi hakkındaki temel soruları ele almak için kullanılabilir (Feil vd., 1999; Spratt, 1998). MLST, *Neisseria meningitidis*'in hipervirülan soy hatlarının tanımlanması (Maiden vd., 1998) ve *Streptococcus pneumoniae* suşlarının majör hipervirülan klonlara (Enright ve Spratt, 1998; Enright vd., 1999) ve majör penisiline dirençli ve çoklu antibiyotik dirençli klonlara (Enright vd., 1999; Shi vd., 1998) atanması için geliştirilmiştir.

Bu araştırmada Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi'nde yetiştirilen hayvanlar (koyun, at, tavuk ve bildircin) ve çevresel örneklerden European Union Antimicrobial Resistance Reference Laboratory (EURL-AR) ve The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) protokolleri kullanarak *S. aureus* izole ve identifiye edilmesi, metisilin dirençliliği ve MRSA klonlarıyla epidemiyolojik yönden ilişkisinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1.Örnekler

Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi'nde yetiştirilen hayvanlar ve hayvanların yetiştirildiği çevreden alınan örnekler EURL-AR prensiplerine göre toplanıp Kırıkkale Üniversitesi, Mikrobiyoloji ana bilim dalı'nda laboratuvarında işlenmiştir. Hayvanlardan alınan örnekler, sayıları ve hayvanların hangi bölgelerinden alındığı Tablo 2'de gösterilmiştir. Hayvanların yetiştirildiği çevreden alınan örnekler, sayıları ve hayvanın bulunduğu çevrenin hangi bölgesinden alındığı Tablo 3'te gösterilmiştir.

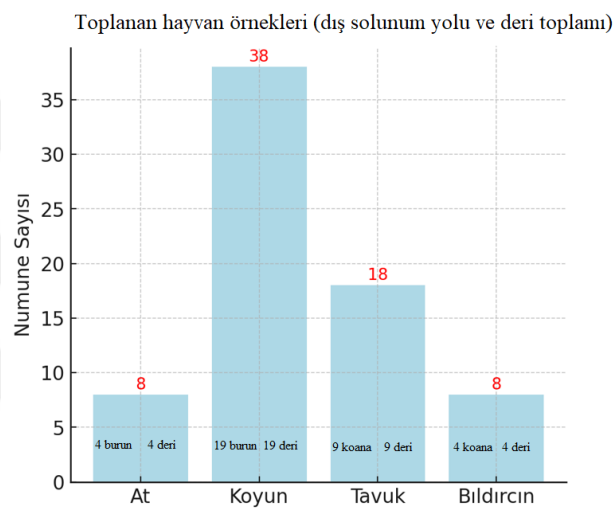
Çizelge 2.1. Hayvanlardan Alınan Örnekler

Hayvanlar	Örnek alınan hayvan sayısı	Burun Mukozası/ Koana	Deri / Kanat altı derisi	Hayvanlardan alınan toplam örnek sayısı
At	4	4	4	8
Koyun	19	19	19	38
Tavuk	9	9	9	18
Bıldırcın	4	4	4	8
Örnek alınan bütün türler	36	36	36	72

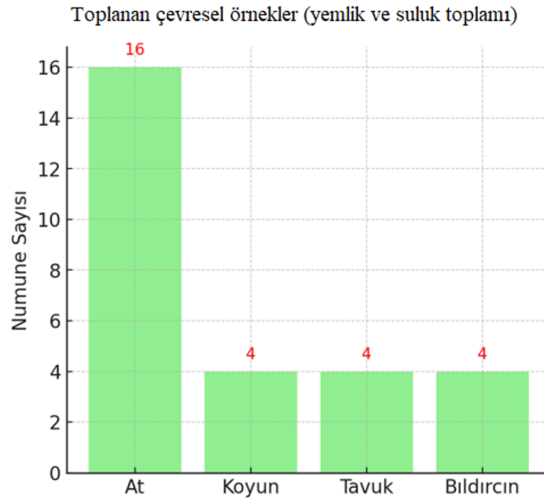
Çizelge 2.2. Hayvanların Yetiştirildiği Çevreden Alınan Örnekler

Hayvanlar	Hayvan sayıları	Yemlik	Suluk	Çevreden alınan toplam örnek sayısı
At	4	8	8	16
Koyun	19	2	2	4
Tavuk	9	2	2	4
Bıldırcın	4	2	2	4
Çevreden örnek alınan bütün türler	36	14	14	28

Veteriner fakültesinde yetiştirilen hayvanlar ve hayvanların yetiştirildiği yerlerden alınan çevresel örnekler 4 at, 19 koyun, 9 tavuk, 4 bildircin olmak üzere, toplam 36 adet hayvanın üst solunum yolundan (memelilerden burun mukozasından; kanatlılarda koanadan) ve deriden (memelilerden burun çevresinden; kanatlılardan kanat altından), hayvan başına 2 numune olmak üzere, toplam 72 numune ile 28 çevresel örnek (hayvanların yemlik ve suluklarından) steril svap ile alındı. Toplamda 100 adet steril svapla örnekler tek tek alınıp her bir örnek kendisine ait, 10 ml %6.5 NaCl Mueller-Hinton broth içeren tüplere ön zenginleştirme için konuldu ve 35-37°C'de 16-24 saat inkübasyona bırakıldı.



Şekil 2.1. Hayvanlardan toplanan örneklerin hayvan türlerine göre ve alınan bölgelere göre dağılımı



Şekil 2.2. Çevreden toplanan örneklerin hayvan türlerine göre ve alınan bölgelere göre dağılımı

## 2.2.Besiyerleri

### 2.2.1. Mueller-Hinton Broth %6.5 NaCl

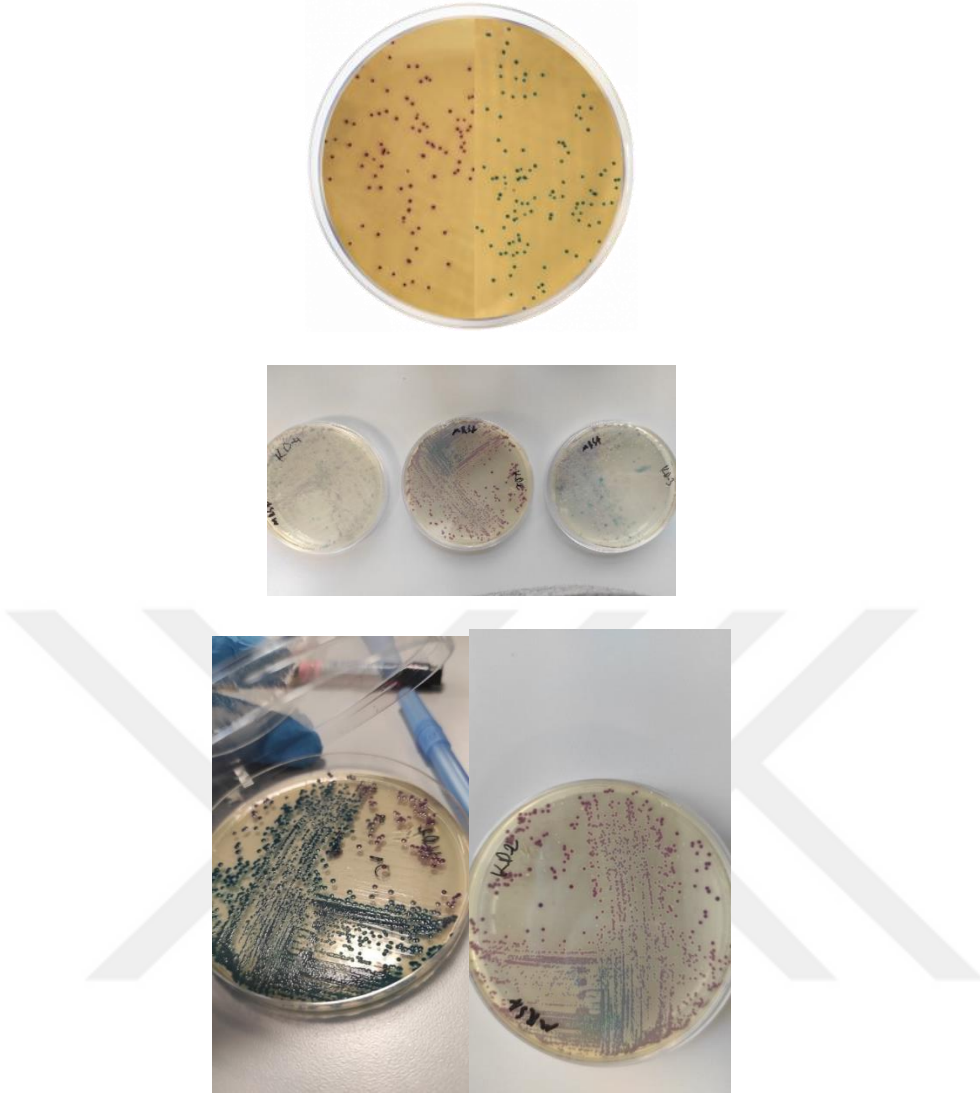
Ön zenginleştirmede %6.5 NaCl ihtiva eden Mueller-Hinton Broth kullanıldı. Hayvanlar ve hayvanların yetiştirildiği çevreden steril svaplar ile alınan örnekler, steril olarak hazırlanmış, 10 ml % 6.5 NaCl'li Mueller-Hinton Broth içeren tüplere alınarak, 35-37°C'de, 16-24 saat inkübasyona bırakıldı.



Şekil 2.3. Hayvanlardan ve çevrelerinden toplanan, %6.5 NaCl içeren Mueller-Hinton sıvı besi yerine eklenmiş svaplar.

### 2.2.2. MRSA Chromogenic Agar

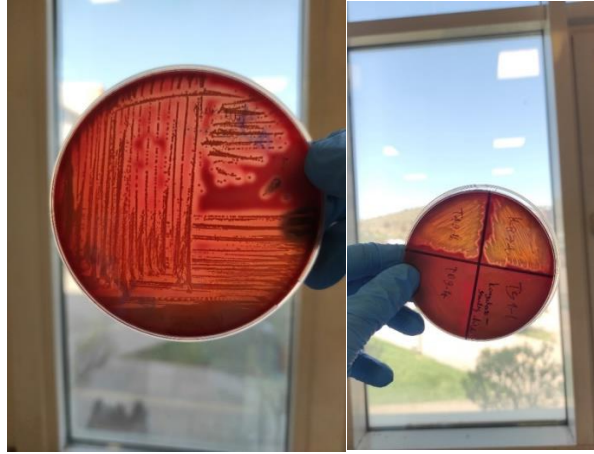
Ön zenginleştirme sonrasında, her tüpten 10 µl bir öze dolusu örnek alınıp, MRSA Chromogenic Modified (CEFOXITIN MRSA SUPPLEMENT) Agar'a yayılarak ekildi ve 35-37°C'de 16-24 saat inkübasyona bırakıldı. Ekim sonrasında *Staphylococcus epidermidis* mavi-yeşil S tipli koloniler; *S. aureus* ise magenta renkli S tipli koloniler meydana geldi. 100 adet hayvansal ve çevresel örnekten magenta renk skalasına uyan 217 adet bakteri kolonisi elde edildi.



**Şekil 2.4.** MRSA Chromogenic Modified (CEFOXITIN MRSA SUPPLEMENT) agarda magenta ve mavi-yeşil renkli koloniler.

### **2.2.3. Kanlı Agar**

MRSA Chromogenic agarda elde edilen 217 adet magenta renkli koloniler, kanlı agara pasajlandı ve taze bakteri kültürleri elde edildi. Hemoliz özelliği gösteren S tipli ve sarı-krem renkli koloniler laboratuvarında tanımlanmak için gerekli prosedürlere tabi tutuldu.



Şekil 2.5. Kanlı agarda *S. aureus*'ların oluşturduğu hemoliz alanları.

#### 2.2.4. Mueller-Hinton Agar

*S. aureus* suşları tamamen izole edildikten sonra, EUCAST protokollerince belirtilen antibiyogram diskleri ile MRSA ve MSSA için gerekli antimikrobiyal madde içeren disklerle antibiyogramı yapıldı.

### 2.3. İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON

#### 2.3.1. Gram Boyama

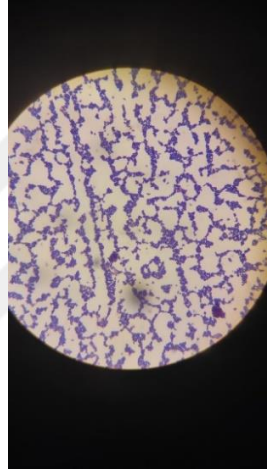
Gerekli malzemeler: Saf şekilde izole edilmiş, boyamaya hazır hale getirilmiş, lama sabitlenmiş bakteri kolonisi, kristal violet, mordan (lugol), dekolorizasyon için %95'lik etanol, safranin boyaları ve distile su.

- i. Lam üzerine yayılmış, ardından kurutulmuş ve bunzen bekinde alevden geçirerek ısı ile lam üzerine sabitlenmiş bakterilerin, üzeri tamamen kristal viole ile kaplandı ve 1 dakika boyunca beklendi,
- ii. Lam 2 saniye boyunca hafif ve direkt akmayan distile su altında yıkandı,
- iii. Lamın üzeri tamamen kaplanacak şekilde mordan (lugol çözeltisi) ile kaplandı ve 1 dakika beklendi,
- iv. Lamı 2 saniye boyunca hafif ve direkt akmayan distile su altında yıkandı,
- v. Lam dekolorizasyon için %95'lik etanol ile kaplandı, 10-15 saniye lam hareket ettirilerek eksilen alkol tamamlanarak beklendi,
- vi. Lamı 2 saniye boyunca hafif ve direkt akmayan distile su altında yıkandı,
- vii. Lamın yüzeyi safranin ile kaplandı. 30 saniye ile 1 dakika arasında beklendi,

viii. Lamı, hafif ve direkt akmayan distile su altında lam üstünden akan suda boya kalmayacak şekilde yıkandı ve ardından emici kağıtla silmeden kurulandı ve tamamen kuruması beklendi.

Bu prosedürler boya üreticileri arası farklılık gösterebilir. Ürünü sağlayan firmanın prosedürlerini uygulamak daha sağlıklı olacaktır (Gram, 1884; Smith ve Hussey, 2005).

Değerlendirmede ışık mikroskobu altında, 100x büyütme ölçeğinde immersiyon yağı kullanarak hazırlanan lam incelendi. Gram boyama tamamlandığında, gram negatif bakteriler pembe/kırmızı renkte , gram pozitif bakteriler ise mavi/mor renkte boyandı (Smith ve Hussey, 2005).



Şekil 2.6. *S. aureus*'un gram boyama sonrasında ışık mikroskobu altında, üzüm salkımı şeklindeki mavi-mor görüntüsü.

### 2.3.2. Katalaz Testi

Katalaz testi için gerekli olan malzemeler %3'lük hidrojen peroksit, temiz lam, temiz petri, steril svap ya da öze, temiz pastör pipeti ve saf olarak izole edilmiş bakteri kültürüdür. Aerob bakterilerin rutin testleri için ticari olarak satılan %3'lük hidrojen peroksit kullanılır (Clarke ve Cowman, 1952; MacFaddin, 2000). Hidrojen peroksit koyu renkli bir şişede buzdolabında saklanır. Platin öze kullanılıyorsa, organizmadan önce lama %3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenmez; çünkü halkadaki platin tel yanlış pozitif sonuç verebilir. Nikrom telde durum böyle değildir (Rainer, 2010).

i. Bir petri kabının içine bir lam yerleştirilir. Petri kabının kullanımı isteğe bağlıdır; çünkü katalaz testi, lam petri kabı olmadan da düzgün bir şekilde yapılabilir. Ancak, canlı bakteri hücreleri ile çalışıldığı için (Duke ve Jarvis, 1972) katalaz testi esansında bakteri kültürü bulunduran sıvı süspansiyonunu sınırlamak için bir petri kabı kullanılması çok daha güvenlidir.

ii. Steril öze veya steril svap kullanarak, saf ve 18-24 saatlik taze bakteri kolonisinden az miktarda alındı ve lamın üzerine yerleştirildi. Agardan bakteri kolonileri dikkatlice alındır. Özellikle bakteri kolonileri kanlı agara ekimi gerçekleştirilmişse bu durum daha da önemlidir. Kırmızı kan hücrelerinin teste taşınması yanlış pozitif reaksiyona neden olabilmektedir. (Forbe vd., 1972; MacFaddin, 2000).

iii. Bir damlalık veya pasteur pipet kullanarak, lamın üzerindeki bakterilere 1 damla %3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> damlatıldı. Bakteri ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sıvı karışımını sınırlamak ve anında kabarcık oluşumunu gözlemlemek için petri kabının kapağı kapatıldı. Testte ürün olarak O<sub>(gaz)</sub> + su = kabarcıklar oluştu. Koyu renkli mümkünse siyah bir arka planda baloncuk oluşumunu gözlemlemek okunabilirliği artırır.

### 2.3.3. Oksidaz Testi

Oksidaz testinde birçok yöntem varyasyonu bulunmaktadır. Bunlara filtre kağıdı testi, filtre kağıdı nokta testi, doğrudan plaka yöntemi ve test tüpü yöntemi dahildir; ancak bunlarla sınırlı değildir. Tüm bu farklı metodlar temelde orijinal yazarların önerilerine dayanmaktadır (Gordon ve McLeod 1928; Kovacs, 1956; Gaby ve Hadley, 1956; Shield vd Chatcart, 2010)

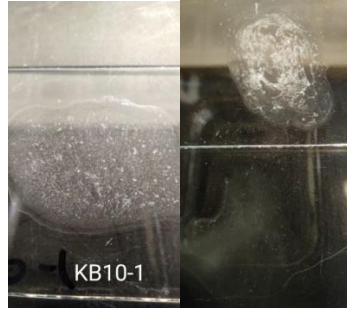
- i. Küçük bir filtre kağıdı parçasına %1 Kovács oksidaz reaktifi emdirildi ve kurumaya bırakıldı.
- ii. Steril svap ya da steril öze ile 18-24 saatlik taze ve saf bakteri kolonisinden az miktarda alındı ve %1 Kovács oksidaz emdirilmiş filtre kağıdına sürüldü.
- iii. Filtre kağıdında bakteri kolonisi sürülen yerde renk değişimi gözlemlendi.
- iv. Oluşan renk 10 saniye içinde koyu mora döndüğünde mikroorganizmalar oksidaz pozitif olarak değerlendirildi. Renk 60 ila 90 saniye içinde mora döndüğünde mikroorganizmalar gecikmeli oksidaz pozitif olarak yorumlandı.

#### 2.3.4. Koagulaz Testi

Koagulasyon testi için gerekli malzemeler: Steril ve yeni alınmış tavşan plazması (heparinli veya fibrinojen); taze ve saf *Staphylococcus* spp.; sıvı besiyeri veya katı besiyeri kültürü; Kontrol grubu olarak kullanılacak koagulaz pozitif (*S. aureus*) ve koagulaz negatif (*S. epidermidis*) suşlarının taze kültürleri hazırlandı.

Lam testi: Temiz bir lam üzerine bir damla steril fizyolojik su (veya distile su) konuldu. Lamdaki steril fizyolojik tuzlu su veya distile suya, agardan bir-iki koloni *Staphylococcus* kültürü alınarak lam üzerinde bir süspansiyon hazırlandı. Hazırlanan bu süspansiyon üzerine 1 damla steril taze plazma eklenerek ve lam hareket ettirilerek sıvı süspansiyonu homojenize edildi. Koagulaz reaksiyonu 5-10 saniye içinde gözlemlendi. Pozitifliği ya da negatifliği şüpheli durumlarda net bir sonuç almak için 2-3 dakika kadar beklendi.

Lam testinde lam üzerindeki süspansiyonda 5-10 saniye içinde oluşan kümeleşme pozitif reaksiyon olarak kabul edildi. Bir dakikaya kadar olan kümeleşmeler geç reaksiyon olarak değerlendirildi. Bir dakikadan sonraki reaksiyonlar şüpheli ve hiçbir değişiklik yoksa negatif olarak değerlendirildi. Şüpheli ve geç reaksiyon hallerinde tüp koagulasyon testi yapılarak şüpheli duruma kesinlik kazandırılabilir (Katz, 2010).



Şekil 2.7. İzole edilen bakterilerin koagülaz testi görüntüleri.

## 2.4.ANTİBİYOGRAM

### 2.4.1. Antimikrobiyal Duyarlılık Testi (Kirby-Bauer Disk Difüzyon Metodu)

MRSA'nın antimikrobiyal direncine bakılması için EUCAST protokollerince, Kirby-Bauer Disk Difüzyon Duyarlılık Testi yapıldı. Saf bir şekilde izole ve identifiye edilen MRSA suşları 35-37°C'de 16-24 saat inkübasyona bırakıldı (Hudzicki, 2009; The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing [EUCAST], 2024)

Kirby-Bauer disk difüzyon duyarlılık testinin amacı, bir hekimin hastaları için tedavi seçenekleri seçmesine yardımcı olmak amacıyla patojenik aerobik ve fakültatif anaerobik bakterilerin çeşitli antimikrobiyal bileşiklere duyarlılığını veya direncini belirlemektir. Patojenik organizma, Mueller-Hinton agarına ekilir ve çeşitli antimikrobiyal madde emdirilmiş kağıt disklerle inkübasyona bırakılmaktadır. Disklerin etrafında bakteri kolonilerinin varlığı veya yokluğu, antimikrobiyal maddenin bakteriyi inhibe etme yeteneğini ölçmektedir.

Kirby-Bauer Disk Difüzyon Duyarlılık Testi Protokolü

Mueller-Hinton agarın hazırlanması:

i. Mueller-Hinton içeren agarı test edilecek her bakteri suşu için bir tane petri olacak şekilde oda sıcaklığına gelmesini beklendi. Petri içerisinde yoğunlaşmayı en aza indirmek için petri aşırı sıcaklık değişiminden korunarak, kapağı kapalı ters bir şekilde muhafaza edildi.

ii. Agar yüzeyinde görünür sıvı birikimi varsa, petri kabı ters çevirildi ve kapağı açık olacak ama kontamine olmayacak şekilde temiz bir alana yerleştirildi; böylece fazla sıvının agar yüzeyinden akıp buharlaşması sağlandı. Petrideki fazla sıvı kuruyana

kadar (genellikle 10 ile 30 dakika) oda sıcaklığında laminar akışlı bir kabin içine yerleştirilebilir.

iii. Test edilecek her bakteri suşu için her petri uygun şekilde prosedürün uygulanağı bakterinin kodu ile etiketlendirildi / numaralandırıldı.

Steril bir öze kullanılarak dört veya beş adet saf şekilde pasajlanmış bakteri kolonisi alındı ve hacmen daha fazla olan cam tüpe alınmış 2 ml steril fizyolojik tuzlu suda süspansiyon edildi. Fizyolojik tuzlu su tüpünde tamamen homojenize bir bakteri süspansiyon oluşana kadar karıştırıldı ve vortekslendi. Bu süspansiyonun bulanıklığı McFarland cihazında 0,5 McFarland standardına ayarlandı. Süspansiyonun çok yoğun olması durumunda 0.5 McFarland olacak şekilde fizyolojik tuzlu su eklendi ve homojen olacak şekilde karıştırıldı. Süspansiyonun az yoğun olması durumunda 0.5 McFarland olacak şekilde aynı bakteri suşunun kolonilerinden eklendi ve homojen olacak şekilde karıştırıldı. Hazırlanan bu süspansiyonu hazırlandıktan sonra 15 dakika içinde kullanıldı. Hazırlanan 0.5 McFarland standardındaki süspansiyonlar steril bir svapa emdirildi, svaptaki fazla süspansiyon tüpün cam cidarına bastırılarak süzüldü ve agar yüzeyinde boşluk kalmayacak şekilde taranarak ekim yapıldı. Petri her turda 90° çevrilerek tüm yüzeyine ekim gerçekleştirildi. En son aynı svap ile agar cidarının çevresine de çember şeklinde ekim gerçekleştirildi. Ekim tamamlandıktan sonra gerekli antibiyotik diskleri birbirlerine yeterli uzaklıklarda agar üstüne ilk temas ettiği yere yerleştirildi ve 35-37°C'de 16-24 saat inkubasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra zone çapları ölçüldü ve EUCAST verileri ile karşılaştırılarak bakterinin antimikrobiallere karşı dirençlilik ve duyarlılık durumlarına bakıldı.

## 2.5.MOLEKÜLER TEŞHİS

### 2.5.1. PZR

Bu çalışmada, EURL-AR protokollerince izole edilen 8 adet *S. aureus* suşlarına direnç genlerine bakılması için PZR analizi yapıldı.

EURL-AR protokollerince bazı farklı gen gruplarını içeren 2 farklı çoklu PZR yöntemi uygulandı:

MRSA Multiplex PZR-1: MECA, PVL, SCN, CC398, VE SPA'NIN PZR amplifikasyonu

MRSA Multiplex PZR-2: *MECA*, *PVL*, *MECC*, VE *SPA*'NIN PZR  
amplifikasyonu

MRSA Multiplex PZR-1 ve MRSA Multiplex PZR-2 analizleri, Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Laboratuvar'ında gerçekleştirildi.

**Protokol:**

**MRSA Multiplex PZR-1 için DNA şablonlarının hazırlanması/kaynatılmış lizatlar kullanılarak DNA ekstraksiyonu**

*S. aureus* suşları %5 kanlı agara üretilir ve 35 °C'de 16-24 saat inkübe edildi.

Tüp başına 200 µl ultra pure su eklendi.

3-4 adet bakteri kolonisi (~ 1 µl) süspansiyon edildi.

96 °C'de 10 dakika inkübe edildi.

4500×g'de 3 dakika santrifüj edildi.

Bakterilerden elde edilen DNA örnekleri kullanıma hazır hale geldi. DNA örnekleri kullanılmayacaksa -20°C'de saklandı. Kullanmadan önce DNA süspansiyonu vortekslendi ve 5 dakika boyunca 13200 rpm'de santrifüj edildi (EURL-AR, 2024)

**MRSA Multiplex PZR-1:**

***spa/ mecA/ PVL /scn/ CC398* primerlerinin hazırlanması:**

Bu multipleks PZR kurulumunda aşağıdaki primerler kullanıldı:

**Primer listesi, MRSA multiplex PZR-1:** Primerler ve baz sıraları Tablo 4’de verilmiştir.

**Çizelge 2.3.** MRSA multiplex PZR-1 primer listesi (EURL-AR, 2024).

Primer ismi	Primer # (EURL-AR)	Dizin (Sekans)
<i>spa</i> -1113F	2819	5’ – TAAAGACGATCCTTCGGTGAGC – 3’
<i>spa</i> -1514R	2820	5’ – CAGCAGTAGTGCCGTTTGCTT – 3’
<i>mecA</i> P4	2821	5’ – TCCAGATTACAACCTCACCAGG – 3’
<i>mecA</i> P7	2822	5’ – CCACTTCATATCTTGTAACG – 3’
PVL-F	2823	5’ – GCTGGACAAAACCTTCTTGGAATAT – 3’
PVL-R	2824	5’ – GATAGGACACCAATAAATTCTGGATTG – 3’
<i>scnF1</i>	3240	5’ – TACTTGCGGGAACCTTTAGCAA-3’
<i>scnR1</i>	3241	5’ – AATTCATTAGCTAACTTTTCGTTTTGA-3’
FP2sau 1	3242	5’ – GAGAATGATTTTGTTTATAACCCCT AG-3’
CC398r1	3243	5’ – CAGTATAAAGAGGTGACATGACCC CT-3’

İleri (forward) ve geri (reverse) primer karışımını ayrı ayrı hazırlandı:

**Primer-mix 1** *spa*-1113F/ *mecA* P4/ PVL-F/ *scnF1*/ *FP2sau1* İleri (Forward) primerler:

- 900 µL su alındı,
- 20 µL *spa*-1113F (100 µM) eklendi.
- 20 µL *mecA* P4 (100 µM) eklendi.
- 20 µL PVL-F (100 µM) eklendi.
- 20 µL *scnF1* (100 µM) eklendi.
- 20 µL *FP2sau 1* (100 µM) eklendi.
- *spa/mecA P4* /PVL-F/*scnF1*/FP2sau1 karışım vortexlendi.

**Primer-mix 2** *spa*-1514R/ *mecA* P7/ PVL-R/ *scnR1*/ *CC398 r1* Geri (Reverse) primers:

- 900 µL su alınır
- 20 µL *spa*-1514R (100 µM) eklendi.
- 20 µL *mecA P7* (100 µM) eklendi.
- 20 µL PVL-R (100 µM) eklendi.
- 20 µL *scnR1* (100 µM) eklendi.
- 20 µL *CC398 r 1* (100 µM) eklendi.
- *spa/mecA P7* /PVL-R/*scnR1*/CC398 r1 karışımı vortexlendi.

## SPA tiplendirmesi için spa primerlerinin seyreltilmesi

10µM'lik spa primerleri elde etmek için:

- 900µl PZR suya 100µl *spa*-1113F (100µM) primer eklendi.
- 900µl PZR suya 100µl *spa*-1514R (100µM) primer eklendi.

## PZR için örneklerin hazırlanması

### Template (Şablon):

PZR için şablon olarak, 25 µl PZR reaksiyonunda DNA ekstraksiyonlarının veya lizatlarının 10x seyreltmesinden 2 µl kullanılmasını önerilmektedir.

**PZR Programı**, Tablo 5’de verilmiştir.

Çizelge 2.4. MRSA multiplex PZR-1 programı (EURL-AR, 2024).

1 DÖNGÜ	30 DÖNGÜ	1 DÖNGÜ
94 °C 5 dakika	94 °C 30 saniye 59 °C 60 saniye 72 °C 60 saniye	72 °C 10 dakika Durdurun ~ 5 °C

## Elektroforez:

### 2% Agaroz jel

PZR ürünlerinde 5-8 µl, 0,5X'te %2 agaroz jelde 100 bp'lik bir ladder 10 µL olacak şekilde jel kuyularına eklendi. 110 V'da 1 saat boyunca elektroforezde jelde yürütüldü (EFSA, 2022; EURL-AR, 2024).

### Jel Fotoğrafı

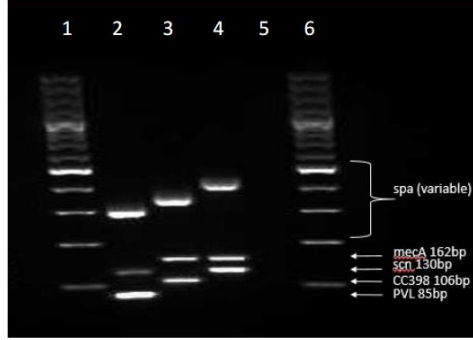
UV ışık altında, transilluminatörde jelin resmi çekildi. Bantlar gözlemlendi ve sonuçları aşağıdaki açıklamaya ve (Şekil 12)'ye göre yorumlandı (EFSA, 2022; EURL-AR, 2024).

*Spa*, *mecA*, *scn*, CC398 ve PVL genlerinin varlığı kontrol edildi.

- *mecA* - çoğaltılacak *mecA* parçasının beklenen boyutu 162 bp'dir
- *scn* - çoğaltılacak *scn* parçasının beklenen boyutu 130 bp'dir
- CC398 - çoğaltılacak CC398 parçasının beklenen boyutu 106 bp'dir

- PVL - çoğaltılacak PVL parçasının beklenen boyutu 85 bp'dir

Not: Multipleks PZR'den elde edilen spa PZR ürünü jelden kesilebilir, saflaştırılabilir ve spa parçasının dizilenmesi için doğrudan spa tiplemesinde kullanılabilir.



Şekil 2.8. Spa, mecA, scn, CC398 ve PVL'nin tespiti için multipleks PZR jel görüntüsü (EURL-AR, 2024).

Spa, mecA, scn, CC398 ve PVL'nin tespiti için multipleks PZR

- 1.Kuyucuk: 100-bp ladder
- 2.Kuyucuk: PZR-1-C1 EURL ST-12.7 (*spa*, *PVL(lukF-PV)* and *scn*)
- 3.Kuyucuk: PZR-1-C2 EURL ST-11.3 (*spa*, *mecA* and CC398)
- 4.Kuyucuk MRSA: *S. aureus* 50A2047 (*spa*, *mecA* ve *scn*; PZR-2'den alternatif kontrol)
- 5.Kuyucuk Negatif kontrol H<sub>2</sub>O
- 6.Kuyucuk: 100-bp ladder.

### Protokol

#### MRSA Multiplex PZR-2 için DNA şablonlarının hazırlanması:

DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilir veya eşdeğeri veya kaynatılmış lizatlar kullanılır.

- 100 µl lizis tamponunda bir döngüde (3-4 koloni taze *S. aureus* kültürü) *S. aureus* 'lar süspanse edildi(1,5 ml eppendorf tüpü kullanılır), vortekslendi (15 saniye) ve 56°C'de 1 saat inkübe edildi.

- Vorteksleyerek iyice karıştırdı ve 95°C'de 1 saat inkübe edildi.
- Vorteksleyerek iyice karıştırdı ve 13200 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.

Bakterilerden elde edilen DNA örnekleri kullanıma hazırdır. DNA örnekleri -20°C'de saklandı. Kullanmadan önce DNA süspansiyonu vortekslendi ve 5 dakika boyunca 13200 rpm'de santrifüj edildi.

#### MRSA Multiplex PZR-2

**Primerlerin hazırlanması spa/mecA/mecALGA251/PVL:**

**Primer karışımı 1 spa/mecA/mecALGA251/PVL İleri (Forward) primerler:**

- 900 µL us alındı,
- 25 µL *spa*-1113F (100 µM) eklendi.
- 25 µL *mecA*-P4 (100 µM) eklendi.
- 25 µL PVL-F (100 µM) eklendi.
- 25 µL *mecALGA251* MultiFP (100 µM) eklendi.
- *spa/mecA/mecALGA251/PVL* karışımı vortexlendi.

**Primer karışımı spa/mecA/mecALGA251/PVL Geri (Reverse) primerler:**

- 900 µL su alındı,
- 25 µL *spa*-1514R(100 µM) eklendi.
- Add 25 µL *mecA*-P7 (100 µM) eklendi.
- Add 25 µL PVL-R (100 µM) eklendi.
- Add 25 µL *mecALGA251* MultiRP (100 µM) eklendi.
- *spa/mecA/mecALGA251/PVL* karışımı vortexlendi.

**PZR için örnek hazırlama:**

**Reaksiyon karışımı:**

PZR için şablon olarak hazırlanan DNA'nın 2 µl'sini 25 µl PZR reaksiyonunda kullanması önerilmektedir. DNA için 5 kat seyreltme, PZR jelinin yorumlanmasını kolaylaştırmaktadır (EFSA, 2022; EURL-AR, 2024). Tablo 6'da primerler ve baz sıraları, Tablo 7'de PZR protokolü verilmiştir.

**Çizelge 2.5.** MRSA multiplex PZR-2 primer listesi (EURL-AR, 2024).

Primer ismi	Primer # (EURL-AR)	Dizin (Sekans)
<i>spa</i> -1113F <i>spa</i> -1514R	2819 2820	5' – TAAAGACGATCCTTCGGTGAGC – 3' 5' – CAGCAGTAGTGCCGTTTGCTT – 3'

<i>mecA</i> P4 <i>mecA</i> P7	2821 2822	5' – TCCAGATTACAACCTTCACCAGG – 3' 5' – CCACTTCATATCTTGTAACG – 3'
PVL-F PVL-R	2823 2824	5' – GCTGGACAAAACCTTCTTGGAATAT – 3' 5' – GATAGGACACCAATAAATTCTGGATTG – 3'
<i>mecALGA251</i> MultiFP <i>mecALGA251</i> MultiRP	2825 2826	5' – GAAAAAAAGGCTTAGAACGCCTC – 3' 5' – GAAGATCTTTCCGTTTTTCAGC – 3'

## PZR Programı

Çizelge 2.6. MRSA multiplex PZR-2 programı (EURL-AR, 2024).

1 DÖNGÜ	30 DÖNGÜ	1 DÖNGÜ
94 °C 5 dakika	94 °C 30 saniye 59 °C 60 saniye 72 °C 60 saniye	72 °C 10 dakika Durdurun ~ 5 °C

## Elektroforez:

PZR ürünlerinden 5-8 µl çalıştırıldı. TBE 1X'te %2 garoz jelde 100 bp'lik bir ladder (moleküler ağırlık belirtecini) 10 µL olacak şekilde jelin kuyusuna eklendi. Jele hazırlanırken 10 ml Ethidium bromür eklendi. Ultra saf suda kısa bir süre boya giderildi.

Transilluminatörde UV ışığı altında fotoğraflandı. Bantlar gözlemlendi ve sonuçlar aşağıdaki açıklamaya ve şekle (Şekil 1) göre yorumlandı:

- *spa* - *spa* fragmanı amplifikasyonu boyut olarak değişkendir ve *spa* türüne bağlı olarak 180-600 bp arasında değişir (Şekil 13).

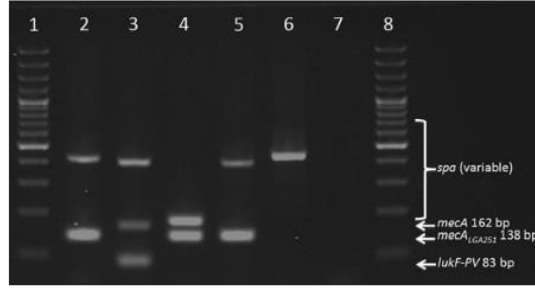
- Metisilin direnci *mecA* veya *mecC* geninin varlığı ve amplifikasyonu metisilin direncini doğrulamaktadır.

- o *mecA* - amplifiye edilen *mecA* fragmanının beklenen boyutu 162 bp'dir.

- o *mecC* - amplifiye edilen *mecC* fragmanın 138 bp olması beklenir.

- o PVL - 85 bp'lik amplifikasyonlu bir fragman Panton Valentine Lökosidini (PVL) kodlayan genin varlığını göstermektedir.

Not: Multipleks PZR ürünü saflaştırılabilir ve *spa* tiplmesi için *spa* fragmanının doğrudan dizilenmesinde kullanılabilir.



**Şekil 2.9.** *mecA*, *mecC* (*mecALGA251*), *lukF-PV* (PVL) ve *spa* tespiti için multipleks PZR jel görüntüsü (EURL-AR, 2024).

- 1.Kuyucuk: 100-bp ladder
- 2.Kuyucuk: *mecC* pozitif MRSA (*spa* ve *mecC* amplifikasyonu).
- 3.Kuyucuk: PVL pozitif MRSA (*lukF-PV*, *spa* ve *mecA* amplifikasyonu).
- 4.Kuyucuk: MRSA (*spa* t528=bir *spa* tekrarı ve *mecC* amplifikasyonu)
- 5.Kuyucuk: MRSA (*spa* t843 ve *mecC* amplifikasyonu)
- 6.Kuyucuk: MSSA (sadece *spa* amplifikasyonu)
- 7.Kuyucuk: Negatif kontrol (H<sub>2</sub>O)
- 8.Kuyucuk: 100-bp ladder

### 2.5.2. SPA Tiplendirmesi

Bu analiz, *Staphylococcus* protein A geninin (*spa*) tekrar bölgesinin DNA dizilimi, MRSA'nın doğru ve ayırt edici tiplemesi için kullanılabilir. Tekrarlara sayısal bir kod atanır ve *spa*-tipi, belirli tekrarların sırasından tanımlanır. Bu PZR'deki amplifikasyondan kaynaklanan *spa* parçası, tekrarlar nedeniyle boyut olarak değişkendir ve mevcut *spa* tipine bağlı olarak 180-600 bp arasında değişmektedir. Bu *Spa* tiplendirmesi için yapılan PZR sonucu ortaya çıkan ürün; EURL-AR MRSA PZR-1 ve PZR-2 sonucu çıkan ürün saflaştırılabilir ve tipleme için *spa* parçasının dizilenmesinde doğrudan kullanılabilir (EFSA, 2022; EURL-AR, 2024).

EURL-AR MRSA PZR protokollerince (PZR mix ve koşullarını içerir) açıklanan koşullara göre PZR kuruldu ve çalıştırıldı.

PZR sonucu oluşan PZR ürününün 5 µl'sini 1XTBE tamponunda %2'lik bir agaroz jelde yaklaşık 130 V'da 100 bp'lik bir Ladder'le (moleküler ağırlık belirteciyle) 25 dakika boyunca yürütüldü. Jele hazırlanırken 10 ml Ethidium bromür eklendi. UV ışık altında transillüminatörde fotoğraflandı. Bantlar gözlemlendi: *spa* tüm *S. aureus* suşlarında çoğaltılmalıdır: ancak çoğaltılan parçanın uzunluğu 180-600 bp arasında olmalıdır. (EFSA, 2022; EURL-AR, 2024).

### 2.5.3. MLST

MRSA suşunun Klonal Kompleks sayılabilmesi için en az 5 adet housekeeping geni içermesi gerekmektedir. MLST sonucunda BLAST analizi yapıldı. Sonuç tablolarında verilen Query cover (Sorgu kapsamı): Dizinin genbank'taki bir diziye hizalanmış yüzdesidir. Bu, karşılaştırılan dizinin etkili boyutunu ifade etmektedir.

### 7 housekeeping geninin PZR amplifikasyonu

PZR reaksiyonlarının her biri açıklanan koşullara göre kuruldu ve çalıştırıldı (EFSA, 2022; EURL-AR, 2024) (Şekil 14).

Gene	Primer	Sequence (5'-3')
Carbamate kinase ( <i>arcC</i> )	<i>arcC</i> -Up <i>arcC</i> -Dn	TTGATTCACCAGCGCGTATTGTC AGGTATCTGCTTCAATCAGCG
Shikimate dehydrogenase ( <i>aroE</i> )	<i>aroE</i> -Up <i>aroE</i> -Dn	ATCGGAAATCCTATTTACATTC GGTGTGTATTAATAACGATATC
Glycerol kinase ( <i>glpF</i> )	<i>glpF</i> -Up <i>glpF</i> -Dn	CTAGGAACTGCAATCTTAATCC TGGTAAAATCGCATGTCCAATTC
Guanylate kinase ( <i>gmk</i> )	<i>gmk</i> -Up <i>gmk</i> -Dn	ATCGTTTTATCGGGACCATC TCATTAACTACAACGTAATCGTA
Phosphate acetyltransferase ( <i>pta</i> )	<i>pta</i> -Up <i>pta</i> -Dn	GTAAAATCGTATTACCTGAAGG GACCCTTTTGTGAAAAGCTTAA
Triosephosphate isomerase ( <i>tpi</i> )	<i>tpi</i> -Up <i>tpi</i> -Dn	TCGTTTCATTCTGAACGTCGTGAA TTTGCACCTTCTAACAATTGTAC
Acetyl coenzyme A acetyltransferase ( <i>yqiL</i> )	<i>yqiL</i> -Up <i>yqiL</i> -Dn	CAGCATAACAGGACACCTATTGGC CGTTGAGGAATCGATACTGGAAC

Şekil 2.10. MLST analizinde kullanılan primerler (Enright vd., 2000)

Primerler ve baz dizileri Tablo 8’de verilmiştir.

Çizelge 2.7. MLST analizinde kullanılan primerler (Enright vd., 2000)

Primer İsmi	Dizin (Sekans)
arc up MLST Sa	5'-TTGATTCACCAGCGCGTATTGTC-3'
arc dn MLST Sa	5'-AGGTATCTGCTTCAATCAGCG-3'
aro up MLST Sa	5'-ATCGGAAATCCTATTTACATTC-3'
aro dn MLST Sa	5'-GGTGTGTATTAATAACGATATC-3'
glp up MLST Sa	5'-CTAGGAACTGCAATCTTAATCC-3'
glp dn MLST Sa	5'-TGGTAAAATCGCATGTCCAATTC-3'
gmk up MLST Sa	5'-ATCGTTTTATCGGGACCATC-3'
gmk dn MLST Sa	5'-TCATTAACTACAACGTAATCGTA-3'
pta up MLST Sa	5'-GTAAAATCGTATTACCTGAAGG-3'
pta dn MLST Sa	5'-GACCCTTTTGTGAAAAGCTTAA-3'
tpi up MLST Sa	5'-TCGTTTCATTCTGAACGTCGTGAA-3'
tpi dn MLST Sa	5'-TTTGCACCTTCTAACAATTGTAC-3'
yqi up MLST Sa	5'-CAGCATAACAGGACACCTATTGGC-3'
yqi dn MLST Sa	5'-CGTTGAGGAATCGATACTGGAAC-3'

Daha sonra her PZR ürününün 5 µl'sini, yaklaşık 130 V'da 25 dakika boyunca, 100 bp'lik bir Ladder ile beraber, %1,5'lik bir agar jelde yürütüldü. Jele, hazırlanırken, 10 ml Ethidium bromür eklendi.

Jelde oluşan bantlar gözlemlendi. Dizileme sonuçları daha sonra elde edilen 7 dizinin MLST sunucu [www.mlst.net](http://www.mlst.net)'e gönderilerek yorumlandı ve ilgili dizi tipi (ST tipi) elde edildi.

MLST sonucu elde edilen genom dizilimlerinin FinchTV üzerinden BLAST analizi yapıldı ve benzerlik oranları karşılaştırıldı (EFSA, 2022; EURL-AR, 2024).

### 3. BULGULAR

#### 3.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Sonuçları

Bu çalışmada elde edilen 217 adet izolattan, 71 adeti (%32.70) mikroskopik olarak gram pozitif ve üzüm salkımı şeklinde görüldü. Katalaz testi yapıldıktan sonra 71 adet izolattan, 55 adeti (%77,46) katalaz pozitif sonuç verdi. Katalaz testi pozitif olan izolatlarla oksidaz testi yapıldı. Bunun sonucunda katalaz pozitif olan 55 adet izolattan 26 adeti (%47,27) oksidaz negatif sonuç verdi. Katalaz ve oksidaz testleri yapıldıktan sonra, 71 adet izolatın 26 adeti (%36.61) katalaz pozitif / oksidaz negatif sonuç verdi. İzolatlarla koagülaz testi yapılarak 8 adet koagülaz pozitif bakteri elde edildi. Biyokimyasal testler sonucunda 8 adet *S. aureus* izole ve identifiye edildi.

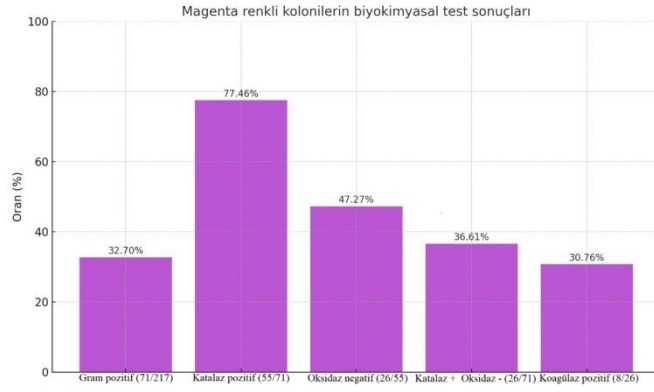
Toplamda 100 adet hayvansal ve çevresel örnekten 8 adeti (%8); magenta renkli koloni, sonrasında toplamda 217 adet izolattan, 8 adeti (%3,68);

Gram boyama sonrasında toplamda 71 adet izolattan, 8 adeti (%11,26);

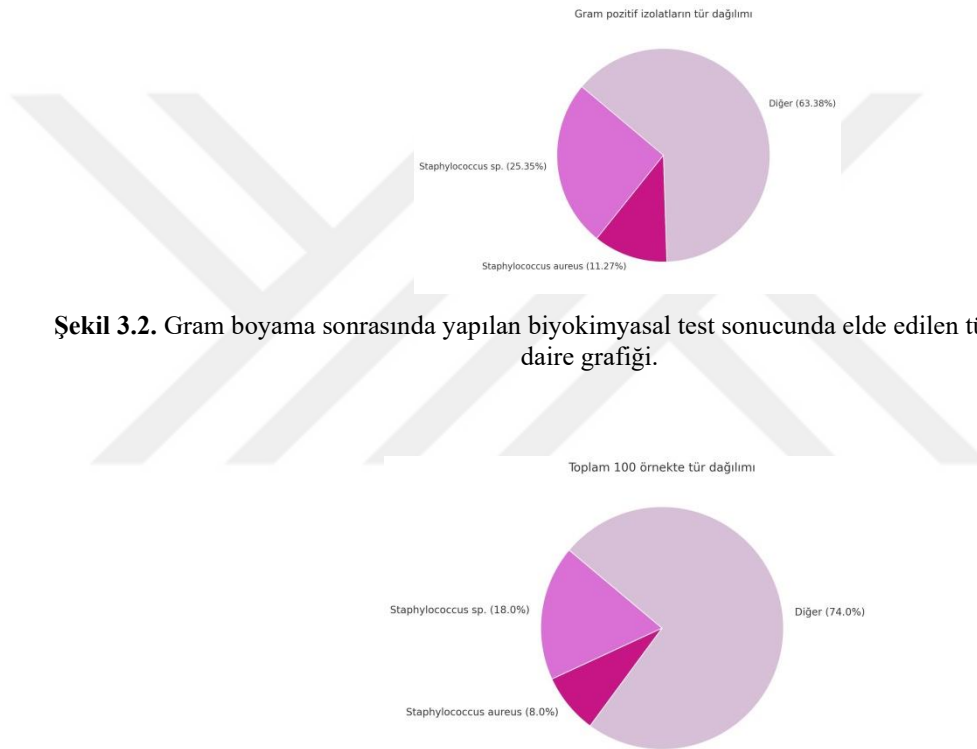
Katalaz ve oksidaz testi sonrası 26 adet izolattan, 8 adeti (%30,76) *S. aureus* olarak izole ve identifiye edildi.

Biyokimyasal testler sonucundaki toplamda alınan 100 adet örnekten 8 adeti (%8) *S. aureus* izole ve identifiye edildi. Hayvanların üst solunum yolu, derileri ve çevresel örneklerden: 1 adet at suluğundan, 1 adet at yemliğinden, 3 adet farklı koyunun burun mukozasından, 1 adet tavuk derisinden, 1 adet tavuk koanasından, 1 adet tavuk yemliğinden, izole ve identifiye edilmiştir. İzole ve identifiye edilen 8 adet izolatlarla antibiyogram uygulandı.

Hayvanlardan ve hayvanların barındırıldığı çevreden alınan örneklerin laboratuvar analizleri sonucunda 8 adet (%8) *S. aureus* izole ve identifiye edildi. Bu 8 adet *S. aureus* suşu hayvanların üst solunum yolu, derileri ve çevresel örnekler olmak üzere: 1 adet tavuk derisinden, 1 adet tavuk koanasından 3 adet farklı koyunun burnundan, 1 adet tavuk yemliğinden, 1 adet at suluğundan, 1 adet at yemliğinden izole ve identifiye edildi (Şekil 15-17).



Şekil 3.1. MRSA Chromogenic Modified (CEFOXITIN MRSA SUPPLEMENT) agarda magenta renkli kolonilere yapılan biyokimyasal test sonuçlarının sütun grafiği.



Şekil 3.2. Gram boyama sonrasında yapılan biyokimyasal test sonucunda elde edilen tür dağılımının daire grafiği.

Şekil 3.3. Toplamda 100 adet, hayvanlardan ve çevresel örneklerden izole edilen bakteri türlerinin daire grafiği

### 3.2. Antibiyogram Sonuçları

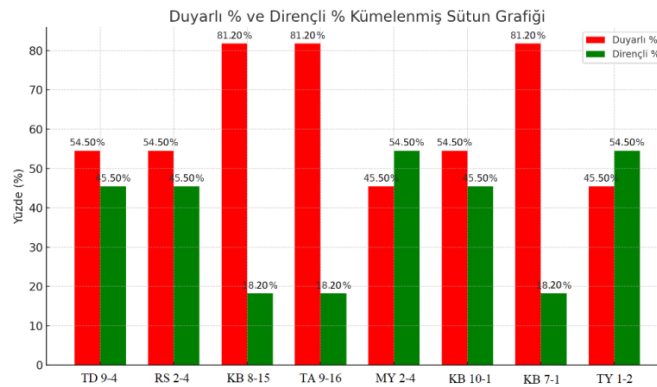
Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile antibiyogram yapılmış; cefoxitin ve oxacilline karşı dirençlilik tespit edilmedi. Hayvanların üst solunum yolu, derileri ve çevresel örneklerden: 1 adet tavuk derisinden, 1 adet tavuk koanasından, 3 adet farklı koyun burun mukozasından, 1 adet tavuk yemliğinden, 1 adet at suluğundan, 1 adet at yemliğinden izole ve tanımlanarak elde edilen *S. aureus* suşlarına disk difüzyon yöntemi ile antibiyogram yapıldı; cefoxitin ve oxacilline karşı duyarlılık tespit edildi. *S. aureus*

izolatlarının antibiyotiklere göre duyarlılık oranları şu şekildedir: cefoxitine, oxacilline ve linezolidde %100, rifampine ve amikacine %75, eritromisine %62.5, gentamisin, tobramisin, trimethoprim/sulfamethoxazole ve tetracycline %37.5 duyarlı; ciprofloxacin %100, tobramisine ve trimethoprim/sulfamethoxazole ve tetracycline %62.5, gentamisine ve eritromisine %37.5, amikacine ve rifampine %25 dirençli tespit edilmiştir. Zon çapları ve dirençlilik, duyarlılık durumları Şekil 16’da gösterilmiştir.

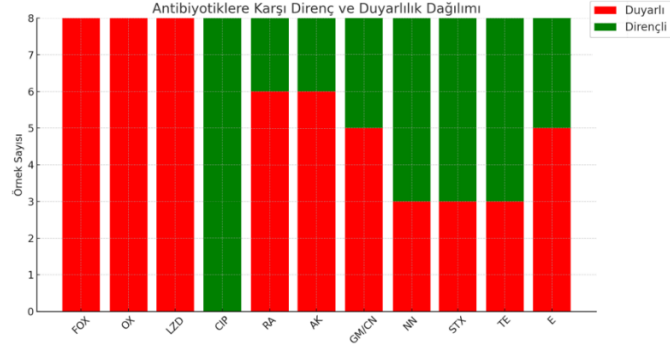
Şekil 16’de Duyarlı % ve Dirençli olan izolatların % Kümelenmiş Sütun Grafiği, Şekil 17’de Antibiyotiklere Karşı Direnç ve Duyarlılık Dağılımı, Şekil 19’de Kirby-Bauer Disk Difüzyon duyarlılık testi sonrası oluşan zon çapları görüntüsü verilmiştir.

	TD 9-4	RS 2-4	KB 8-15	TA 9-16	MY 2-4	KB 10-1	KB 7-1	TY 1-2	Dirençlilik	Duyarlılık
FOX	26	28	27	28	29	27	27	29	0%	100%
OX	18	20	27	20	19	24	20	21	0%	100%
LZD	32	32	44	40	34	35	32	33	0%	100%
CIP	17	19	32	32	20	20	22	20	100%	0%
RA	29	28	31	22	30	28	22	28	25%	75%
AK	15	10	30	22	16	20	19	11	25%	75%
GM/CN	16	14	32	24	16	18	21	18	%37.5	%62.5
NN	11	9	22	18	0	12	21	10	%62.5	%37.5
STX	0	0	23	40	0	0	33	0	%62.5	%37.5
TE	11	30	13	30	15	10	26	13	%62.5	%37.5
E	26	23	22	30	11	12	30	0	%37.5	%62.5
Dirençlilik	%54.50	%54.50	%81.20	%81.20	%45.50	%54.50	%81.20	%45.50		
Duyarlılık	%45.50	%45.50	%18.20	%18.20	%54.50	%45.50	%18.20	%54.50		

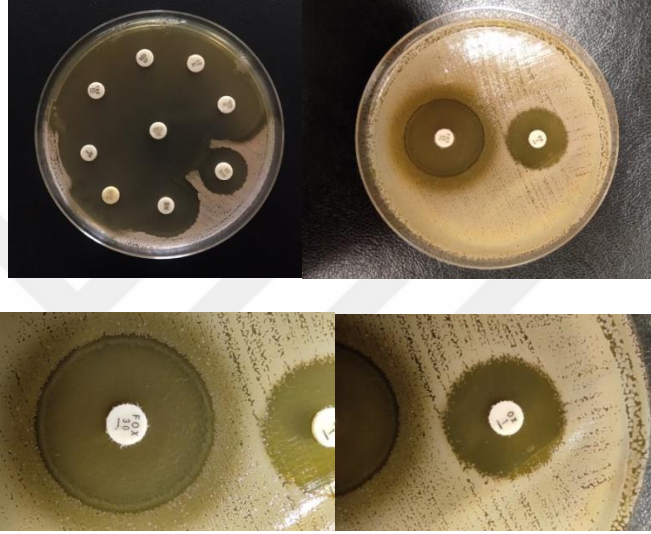
Şekil 3.4. S. aureus izolatlarının antibiyogram sonucu, oluşan zon çapları ve dirençlilik durumu



Şekil 3.5. Duyarlı % ve Dirençli % Kümelenmiş Sütun Grafiği



Şekil 3.6. Antibiyotiklere Karşı Direnç ve Duyarlılık Dağılımı



Şekil 3.7. Kirby-Bauer Disk Difüzyon duyarlılık testi sonrası oluşan zon çapları.

### 3.3.PZR Sonuçları

EURL-AR protokollerince yapılan MRSA Multiplex **PZR-1** ve MRSA Multiplex **PZR-2** sonucunda elektroforez sonrası agaroz jelde, ultraviyole ışık altına herhangi bir bant tespit edilmemiştir; incelenen örneklerde MRSA saptanmamıştır.

### 3.4.SPA Tiplendirmesi Sonuçları

EURL-AR protokollerince SPA tiplendirmesi PZR sonucunda elektroforez sonrası agaroz jelde, ultraviyole ışık altına herhangi bir bant tespit edilmemiştir.

### 3.5.MLST Sonuçları

Bu çalışmada, (EURL-AR) ve EUCAST protokollerince izole edilen 8 adet *S. aureus* izolatları için MLST analizi yapıldı. Çeşitli hayvan türleri ve çevresel örneklerden

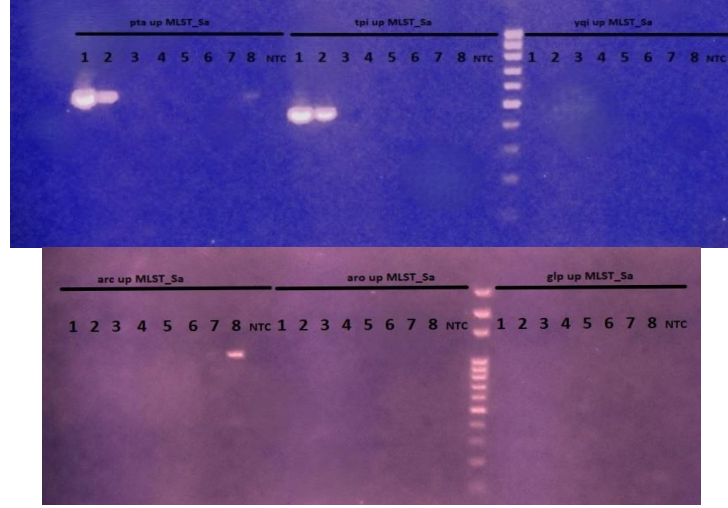
alınan 8 adet *S. aureus* izolatının, 8 adetinin MSSA olduğu saptanmıştır. Bu MSSA izolatlarından 3'ünün MRSA'ya ev sahipliği yapan 7 genden (*arc*, *aroE*, *glpF*, *gmk*, *pta*, *tpi*, *yqi*) 3'üyle (*arc*, *pta*, *tpi*), dünyada yapılan farklı çalışmalarda bildirilen MRSA klonlarıyla çok yakın allelik gösterdiği tespit edildi.

MLST için gerekli olan 7 housekeeping genlerinden (*arcC* (Carbamate kinase), *aroE* (Shikimate dehydrogenase), *glpF* (Glycerol kinase), *gmk* (Guanylate kinase), *pta* (Phosphate acetyltransferase), *tpi* (Triosephosphate isomerase), *yqi* (Acetyl coenzyme A acetyltransferase) mevcut olanlarının FinchTV üzerinden BLAST analizi yapılarak benzerlik oranlarına bakıldı. Bu çalışmada 7 housekeeping genden 5 tanesinin bulunduğu herhangi bir suşa rastlanmadı; sonuç olarak mevcut suşlardan hiçbirinin CC (Clonal Complex) olmadığı görüldü..

1.KB8-15, 2. KB10-1, 3. KB7-1, 4. RS2-4, 5. MY2-4, 6. TA9-16, 7. TD9-4, 8. TY1-2 isimli ve numaralı 8 adet *S. aureus* izolatı MLST analizi için hizmet alımı yapıldı. 1. KB8-15 (*pta* ve *tpi*) , 2. KB10-1 (*pta* ve *tpi*), 8. TY1-2 (*arcC* ve *pta*) isimli izolatlar *pta*, *tpi* ve *arcC* gen sekansları açısından bant verdis (Şekil 21). Genom analizler sonuçlarına FinchTV üzerinden BLAST analizi yapıldı. BLAST analizinde National Library Of Medicine veri sisteminin (National Library of Medicine [NIH], 2025) belirlediği MRSA klonları olan *Staphylococcus aureus subsp. aureus* MRSA252 (taxid:282458), *Staphylococcus aureus subsp. aureus* MRSA\_TCH60 (taxid:548473), *Staphylococcus aureus subsp. aureus* MRSA131 (taxid:754025), *Staphylococcus aureus subsp. aureus* MRSA177 (taxid:754026), *Staphylococcus aureus subsp. aureus* MRSA70 (taxid:548475) isimli klonlarla benzerlik oranlarına bakıldı (Şekil 22).

Staphylococcus aureus subsp. aureus MRSA252 (taxid:282458)
Staphylococcus aureus subsp. aureus MRSA_TCH60 (taxid:548473)
Staphylococcus aureus subsp. aureus MRSA131 (taxid:754025)
Staphylococcus aureus subsp. aureus MRSA177 (taxid:754026)
Staphylococcus aureus subsp. aureus MRSA70 (taxid:548475)

Şekil 3.8. NIH veri sisteminin belirlediği MRSA klonları (NIH,2025)



Şekil 3.9. (1) KB8-15, (2) KB10-1, (8) TY1-2 izolatlarının MLST analizi için yapılan elektroforez sonucu oluşan jel görüntüleri.

### 3.5.1. BLAST ANALİZİ SONUÇLARI

KB8-15, KB10-1, TY1-2 izolatları, BLAST analizi sonucunda *Staphylococcus aureus subsp. aureus* TCH60'ın ve *Staphylococcus aureus subsp. aureus* MRSA252'nin sahip olduğu *pta* (Phosphate acetyltransferase), *tpi* (Triosephosphate isomerase), *arcC* (Carbamate kinase) olmak üzere üç adet housekeeping gen ile yüksek oranda benzerlik gösterdiği görüldü.

***Staphylococcus aureus subsp. aureus* TCH60**, 2010 yılının temmuz ayında Baylor Tıp Fakültesi Huston / ABD'de insan derisinden izole edilmiş; referans suş olarak yayınlanmıştır.

***Staphylococcus aureus subsp. aureus* MRSA252**, Amerika'da MRSA üzerine yapılan "İki klinik *Staphylococcus aureus* suşunun tam genomları: virülans ve ilaç direncinin hızlı evrimine dair kanıt" isimli bir çalışmada izole edilmiştir ve referans suş olmuştur.

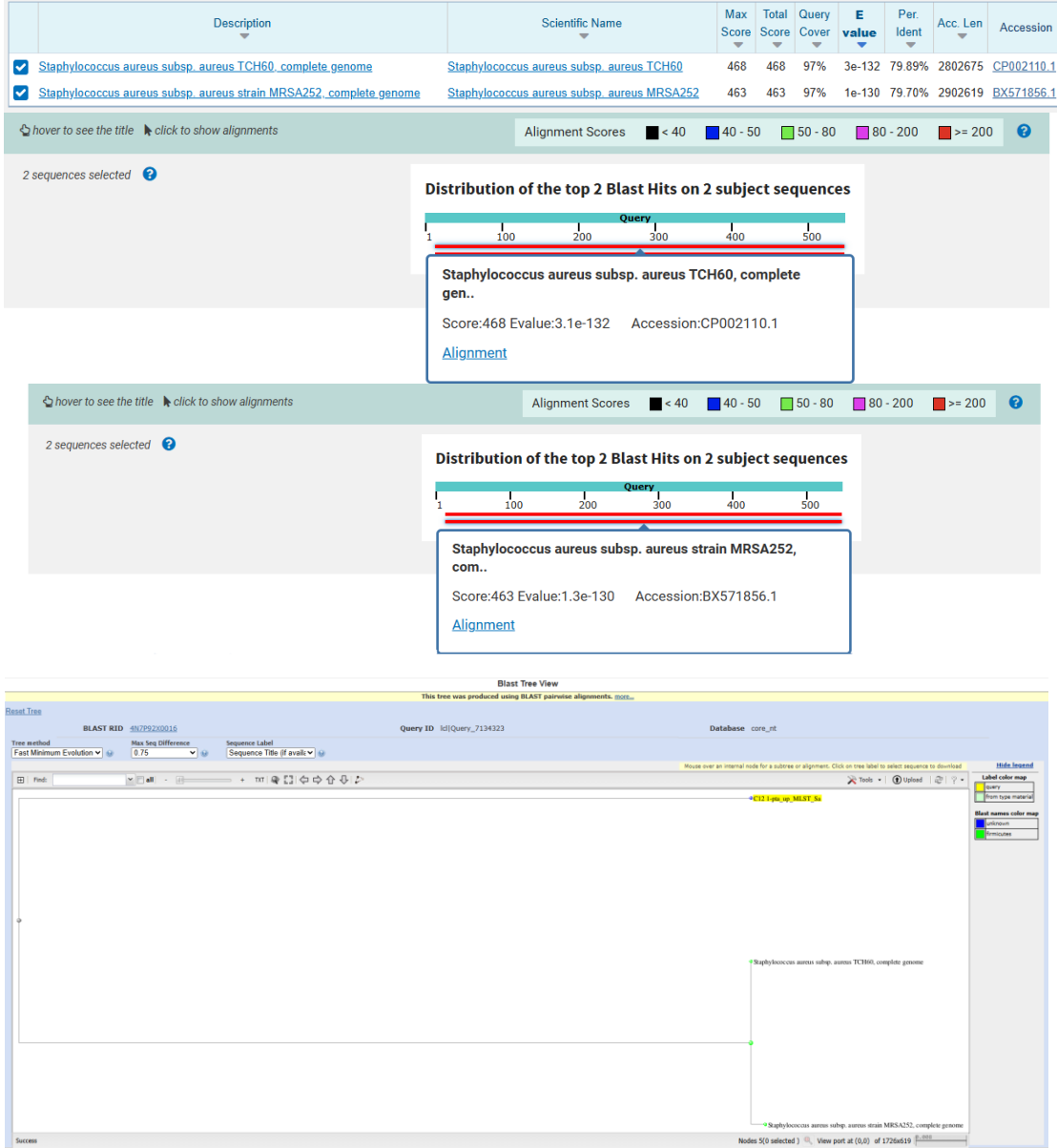
#### 3.4.1.1. KB8-15

MLST sonucu 7 housekeeping genden, *pta* (Phosphate acetyltransferase) ve *tpi* (Triosephosphate isomerase) için sonuç vermiştir. Bu housekeeping genlerin BLAST analizi sonucu benzerlik oranları ve diğer ayrıntılar aşağıda verilmiştir:

##### **KB8-15, *pta* (Phosphate acetyltransferase)**

KB8-15 *pta* housekeeping geni açısından *Staphylococcus aureus subsp. aureus* TCH60 ile %79.89; *Staphylococcus aureus subsp. aureus* MRSA252 ile %79.70

benzerlik olduğu görülmektedir. İlgili grafik ve filogenetik ağaç (Şekil 22)'te verilmiştir:



Şekil 3.10. BLAST analizi sonucunda KB8-15, pta housekeeping geni açısından MRSA referans şuşlarına benzerlik oranı ve filogenetik ağaç (NIH,2025).

### Staphylococcus aureus subsp. aureus TCH60, complete genome

Sequence ID: [CP002110.1](#) Length: 2802675 Number of Matches: 1

Range 1: 2713851 to 2714385 [GenBank](#) [Graphics](#)

[▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#)

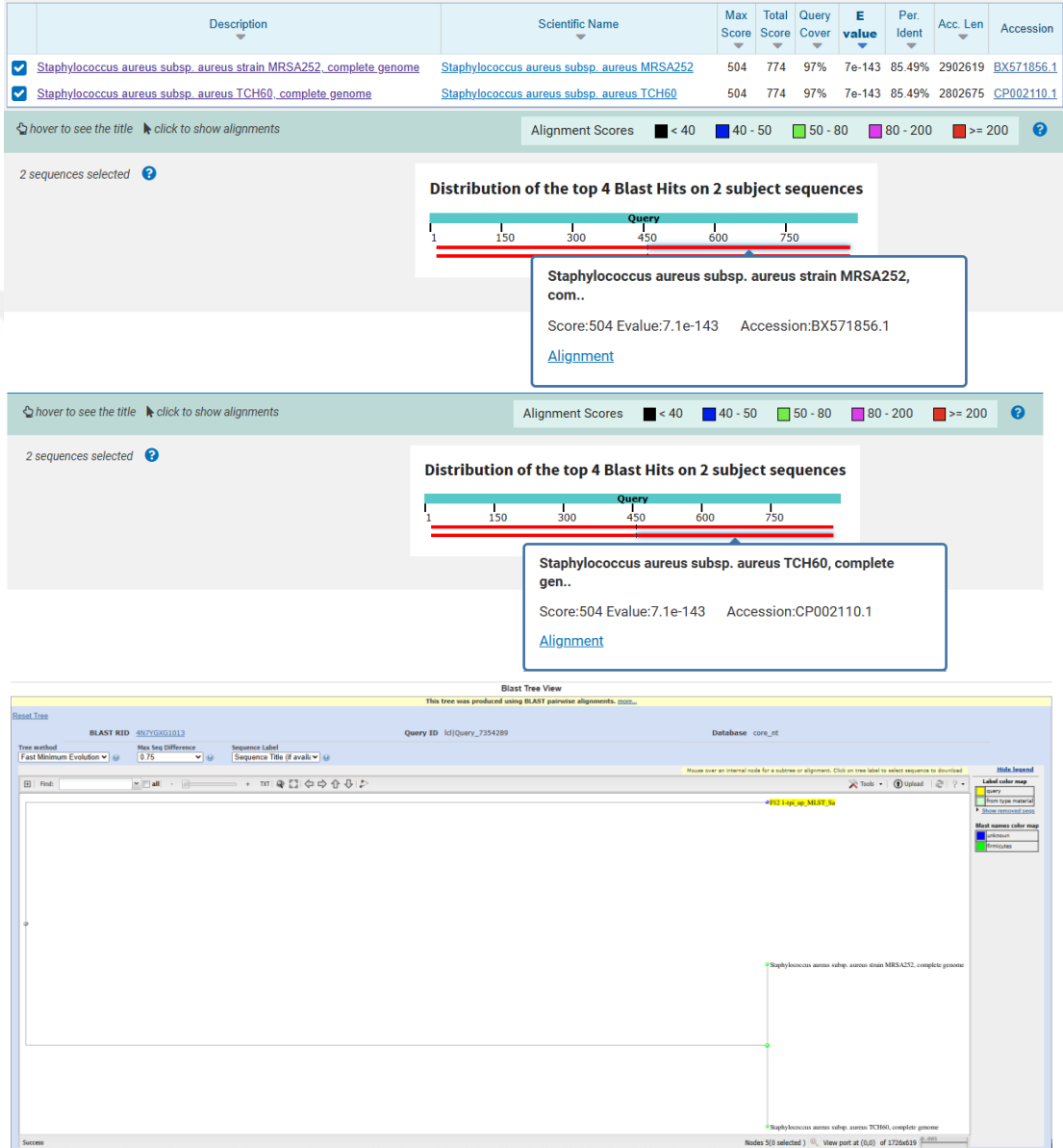
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
468 bits(518)	3e-132	429/537(80%)	4/537(0%)	Plus/Minus
Query 14	T AACAGCAGCAACACAATTACAAAATACGGAATATGTTACACCAGTAGTATTAGGTAATG			73
Sbjct 2714385	T AACAGCTGCAACACAATTACAAGCAACAGATTATGTTACACCAATCGTGTAGGTGATG			2714326
Query 74	AAGCTAATGTGAAGACTTTAGCTAATGATAAAGGAT - TAGATATTACTAACATTGAGATT			132
Sbjct 2714325	AGACTAAGGTTCAATCTTTAGCGCAAAA - ACTTAATCTTGATATTTCTAATATTGAATTA			2714267
Query 133	ATCGATCCAGAAACAAGTGAATTGAAACAAGAATTAGTAACTGCTTTTCGTTGAACGCCGT			192
Sbjct 2714266	ATTAATCCTGCGACAAGTGAATTGAAAGCTGAATTAGTTCAATCATTTGTTGAACGACGT			2714207
Query 193	AAAGGTAAAGCGACTGAAGAACAAGCACAAGAAATGCTAAAAAATGTAACACTACTTTGGT			252
Sbjct 2714206	AAAGGTAAAGCGACTGAAGAACAAGCACAAGAAATATTAACAATGTGAACACTCTCGGT			2714147
Query 253	ACAATGCTTGTGTTTATACTGGTAAAGCTGAAGGACTAGTCAGCGGTGCAGCACATTCTACA			312
Sbjct 2714146	ACAATGCTTGTGTTTATGCTGGTAAAGCAGATGGTTTAGTTAGTGGTGCAGCACATTCAACA			2714087
Query 313	GGCGATACAGTTCGCCAGCGTTACAAATTATTAACAACAAACCTGGCGTTTCAAAAACA			372
Sbjct 2714086	GGCGACTGTGCGTCCAGCTTTACAAATCATCAAACGAAACCAGGTGTATCAAGAACA			2714027
Query 373	TCTGGCGTTTTCTTTATGATTAAGGAGAAGAACAATATATCTTCGGCGATTGCGCAATC			432
Sbjct 2714026	TCAGGTATCTTCTTTATGATTAAGGTGATGAACAGTACATCTTTGGTGATTGTGCAATC			2713967
Query 433	AATCCAACACTTGAAGCACAAG - ACTTAGCTGAAATTGCAGTAGAGAGTGCAAAAACCTGC			491
Sbjct 2713966	AATCCAGAACTTGATTCACAAGGACTT - GCAGAAATTGCAGTAGAAAGTGCAAAATCAGC			2713908
Query 492	TAAAAGCTTTGACATGACACCGCGTGTAGCAATGTTAAGCTTTTCAACAAAAGGGTC			548
Sbjct 2713907	ATTAAGCTTTGGCATGGATCCAAAAGTTGCAATGTTAAGCTTTTCAACAAAAGGGTC			2713851

**Şekil 3.11.** BLAST analizi sonucunda KB8-15, pta housekeeping geninin Staphylococcus aureus subsp. aureus TCH60 tam genom dizilimi benzerlik şeması (NIH,2025).



### KB8-15, *tpi* (Triosephosphate isomerase)

KB8-15, *tpi* housekeeping geni açısından *Staphylococcus aureus subsp. aureus* MRSA252 ile %85,49; *Staphylococcus aureus subsp. aureus* TCH60 ile %85.49 benzerlik olduğu görülmektedir. İlgili grafik ve filogenetik ağaç (Şekil 25)'da verilmiştir:



Şekil 3.13. BLAST analizi sonucunda KB8-15, *tpi* housekeeping geni açısından MRSA referans suşlarına benzerlik oranı ve filogenetik ağaç (NIH,2025).

### Staphylococcus aureus subsp. aureus strain MRSA252, complete genome

Sequence ID: [BX571856.1](#) Length: 2902619 Number of Matches: 2

Range 1: 875343 to 875782 [GenBank](#) [Graphics](#)

[▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
504 bits(558)	7e-143	377/441(85%)	1/441(0%)	Plus/Plus
Query 15	GAAGAACTTAACAAAAAGCACATGGCTGTATTTAACCATGGCATGACACCAATCATTTG			74
Sbjct 875343	GAAGAAATTAACAAAAAGCGCACG-CTATTTTCAAACATGGAATGACTCCAATTATTTG			875401
Query 75	TGTTGGCGAAACTGATGAAGAACGCGAAAAGTGGAAAAGCAAACGAAGTTGTAGGCAACCA			134
Sbjct 875402	TGTTGGTGAACAGACGAAGAGCGTAAAAGTGGTAAAGCTAACGATGTTGTAGGTGAGCA			875461
Query 135	AGTGAAAAAGCAGTAGAAGGTTTATCTGAAGAGCAATTACAACAAGTAGTTATTGCTTA			194
Sbjct 875462	AGTTAAGAAAGCTGTTGCAGGTTTATCTGAAGATCAACTTAAATCAGTTGTAATTGCTTA			875521
Query 195	TGAACCAATCTGGGCTATCGGTACTGGTAAATCATCAACTTCTGAAGATGCTAACGAAAT			254
Sbjct 875522	TGAACCAATCTGGGCAATCGGAACTGGTAAATCATCAACATCTGAAGATGCGAATGAAAT			875581
Query 255	GTGTGCATTTGTAAGAGAAACAGTTTGTCTGAGTTATCTAGTCAAACAGTAGCAGATGCAAC			314
Sbjct 875582	GTGTGCATTTGTACGTCAAACATATTGCTGACTTATCAAGCAAAGAGTATCAGAAGCAAC			875641
Query 315	TCGTATTCAATATGGTGGTAGTGTAAACCTAACAACATTAAGAATACATGGCTCAATC			374
Sbjct 875642	TCGTATTCAATATGGTGGTAGTGTAAACCTAACAACATTAAGAATACATGGCACAAC			875701
Query 375	AGACATCGATGGCGCATTAGTAGGCGGCGCATCACTTAAAGTGGATGATTTTGTACAATT			434
Sbjct 875702	TGATATTGATGGGCATTAGTAGTGGCGCATCACTTAAAGTGAAGATTTTGTACAATT			875761
Query 435	GTTAGAAGGTGCAAAATCATC	455		
Sbjct 875762	GTTAGAAGGTGCAAAATAATC	875782		

**Şekil 3.14.** BLAST analizi sonucunda KB8-15, tpi housekeeping geninin *Staphylococcus aureus* subsp. aureus strain MRSA252 genom dizilimi benzerlik şeması. Range 1 (NIH,2025).

Range 2: 875314 to 875752 [GenBank](#) [Graphics](#) [▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#) [▲ First Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
269 bits(298)	3e-72	332/443(75%)	15/443(3%)	Plus/Minus
Query 448	AAATCATCCACTTTAAGTGATGCGCCGCCTACTAATGGGCCATCGATGCTGATTGAGCC	507		
Sbjct 875752	AAATCTTCAACTTTAAGTGATGCGCCACCTACTAATGCCCATCAATATCAGTTTGTGCC	875693		
Query 508	AGGTATTCTTTAANGTTGTTAGTTTTAGC---ACCACCATATTGTATAACAAGCGGCATCT	564		
Sbjct 875692	ATGTATTCTTTAATGTTGTTAGGTTAACACTACCACCATATTGAATACGAGTTGCTTCT	875633		
Query 565	CCTACTGTTTGACTAGATCACTCATCACCTGTTTCTTGAC-AATGCACACATTTTCGTTC	623		
Sbjct 875632	GATACTTCTTTGCTTGATAAGTCAGCAATAGTTGACGTACAAATGCACACATTTTCATTC	875573		
Query 624	GCATCTCCAGAAGTTGATGATTTA-CAG-TACGATTGACCAGATNGGTACAGAAGCANTA	681		
Sbjct 875572	GCATCTTCAGATGTTGATGATTTACCAGTTCCGATTGCCAGATTGGTTCATAAAGCAATT	875513		
Query 682	ACTACTTGTGGCAGTTGCCCTCCATATAAACCTTC-TCTGCTTTTATCACTTGGTTGCC	740		
Sbjct 875512	ACAAC-TGATTTAAGTTGATCTTCAGATAAACCTGCAACAGCTTTCTTAACTTGCTCACC	875454		
Query 741	TACAACATCGTTTGTCTTTCC-CTTTCGCGTCTTTCATCAGTTTCGCC-ACCCAAGTTAT	798		
Sbjct 875453	TACAACATCGTTAGCTTTACCACCTTTCACGCTCTTCGCTGTTTCACCAACACAAATAAT	875394		
Query 799	TGGNGTCATGCCAGGGT--AAACTACGGCATGTGCTTTTTTGATAAGGGTCTCCNCGGT	856		
Sbjct 875393	TGGAGTCATCCATGTTGAAAATA--GCGTGCCTTTTTGTTAA-TTCTTCATCTGT	875337		
Query 857	TTCTTTGAAAAATTTNCGACCTT	879		
Sbjct 875336	TTCGTGGAATAATTCACGACGTT	875314		

**Şekil 3.15.** BLAST analizi sonucunda KB8-15, tpi housekeeping *geninin Staphylococcus aureus subsp. aureus* strain MRSA252 genom dizilimi benzerlik şeması. Range 2 (NIH,2025).

### Staphylococcus aureus subsp. aureus TCH60, complete genome

Sequence ID: [CP002110.1](#) Length: 2802675 Number of Matches: 2

Range 1: 2512432 to 2512871 [GenBank](#) [Graphics](#)

[▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
504 bits(558)	7e-143	377/441(85%)	1/441(0%)	Plus/Minus
Query 15	GAAGAACTTAACAAAAAGCACATGGCTGTATTTAACCATGGCATGACACCAATCATTG			74
Sbjct 2512871	GAAGAAATTAACAAAAAGCGCACG-CTATTTTCAACATGGAATGACTCCAATTATTG			2512813
Query 75	TGTTGGCGAAACTGATGAAGAACGCGAAAGTGAAAGCAAACGAAGTTGTAGGCAACCA			134
Sbjct 2512812	TGTTGGTGAACAGACGAAGAGCGTAAAGCTAACGATGTTGTAGGTGAGCA			2512753
Query 135	AGTGAAAAAGCAGTAGAAGGTTTATCTGAAGAGCAATTACAACAAGTAGTTATTGCTTA			194
Sbjct 2512752	AGTTAAGAAAGCTGTTGCAGGTTTATCTGAAGATCAACTTAAATCAGTTGTAATTGCTTA			2512693
Query 195	TGAACCAATCTGGGCTATCGGTAAGTAAATCATCAACTTCTGAAGATGCTAACGAAAT			254
Sbjct 2512692	TGAACCAATCTGGGCAATCGGAACTGGTAAATCATCAACATCTGAAGATGCGAATGAAAT			2512633
Query 255	GTGTGCATTTGTAAGAGAAACAGTTGCTGAGTTATCTAGTCAACAGTAGCAGATGCAAC			314
Sbjct 2512632	GTGTGCATTTGTACGTCAAACATTGCTGACTTATCAAGCAAAGAAGTATCAGAAGCAAC			2512573
Query 315	TCGTATTCAATATGGTGGTAGTGTAAACCTAACACATTAAGAATACATGGCTCAATC			374
Sbjct 2512572	TCGTATTCAATATGGTGGTAGTGTAAACCTAACACATTAAGAATACATGGCACAAAC			2512513
Query 375	AGACATCGATGGCGCATTAGTAGGCGGCGCATCACTTAAAGTGGATGATTTTGTACAATT			434
Sbjct 2512512	TGATATTGATGGGGCATTAGTAGGCGGCGCATCACTTAAAGTGAAGATTCGTACAATT			2512453
Query 435	GTTAGAAGGTGCAAAATCATC	455		
Sbjct 2512452	GTTAGAAGGTGCAAAATAATC	2512432		

**Şekil 3.16.** BLAST analizi sonucunda KB8-15, tpi housekeeping geninin *Staphylococcus aureus* subsp. aureus TCH60 tam genom dizilimi benzerlik şeması. Range 1 (NIH,2025).

Range 2: 2512462 to 2512900 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#) [First Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
269 bits(298)	3e-72	332/443(75%)	15/443(3%)	Plus/Plus
Query 448	AAATCATCCACTTTAAGTGATGCGCCGCTACTAATGGGCCATCGATGCTGATTGAGCC			507
Sbjct 2512462	AAATCTTCAACTTTAAGTGATGCGCCACCTACTAATGCCCATCAATATCAGTTTGTGCC			2512521
Query 508	AGGTATTCTTTAANGTTGTTAGTTTTAGC--ACCACCATATTGTATACAAGCGGCATCT			564
Sbjct 2512522	ATGTATTCTTTAATGTTGTTAGGTTTAACTACTACCACCATATTGAATACGAGTTGCTTCT			2512581
Query 565	CCTACTGTTTGACTAGATCACTCATCACCTGTTTCTCTGAC-AATGCACACATTTTCGTTT			623
Sbjct 2512582	GATACTTCTTTGCTTGATAAGTCAGCAATAGTTTGACGTACAAATGCACACATTTTCATTC			2512641
Query 624	GCATCTCCAGAAGTTGATGATTTA-CAG-TACGATTGACCAGATNGGTACAGAAGCANTA			681
Sbjct 2512642	GCATCTTCAGATGTTGATGATTTACCAGTTCGATTGCCAGATTGGTTCATAAGCAATT			2512701
Query 682	ACTACTTGTGGCAGTTGCCCTCCATATAAACCTTC-TCTGCTTTTATCACTTGGTTGCC			740
Sbjct 2512702	ACAAC-TGATTTAAGTTGATCTTCAGATAAACCTGCAACAGCTTCTTAACCTTGCTCACC			2512760
Query 741	TACAACTTCGTTTGCCTTTTCC-CTTTCGCGTTCCTTCATCAGTTTTCGCC-ACCCAAGTTAT			798
Sbjct 2512761	TACAACTTCGTTAGCTTTACCACCTTTCACGCTCTTCGCTGTTTTCACCAACACAAATAAT			2512820
Query 799	TGGNGTCATGCCAGGGT--AACTACGGCATGTGCTTTTTTGGATAAGGGTCTCCNCNGGT			856
Sbjct 2512821	TGGAGTCATTCATGTTGAAAATA--GCGTGCCTTTTTTGTAA-TTCTTCATCTGT			2512877
Query 857	TTCTTTGAAAAATTTNCGACCTT 879			
Sbjct 2512878	TTCGTGGAATAATTCACGACGTT 2512900			

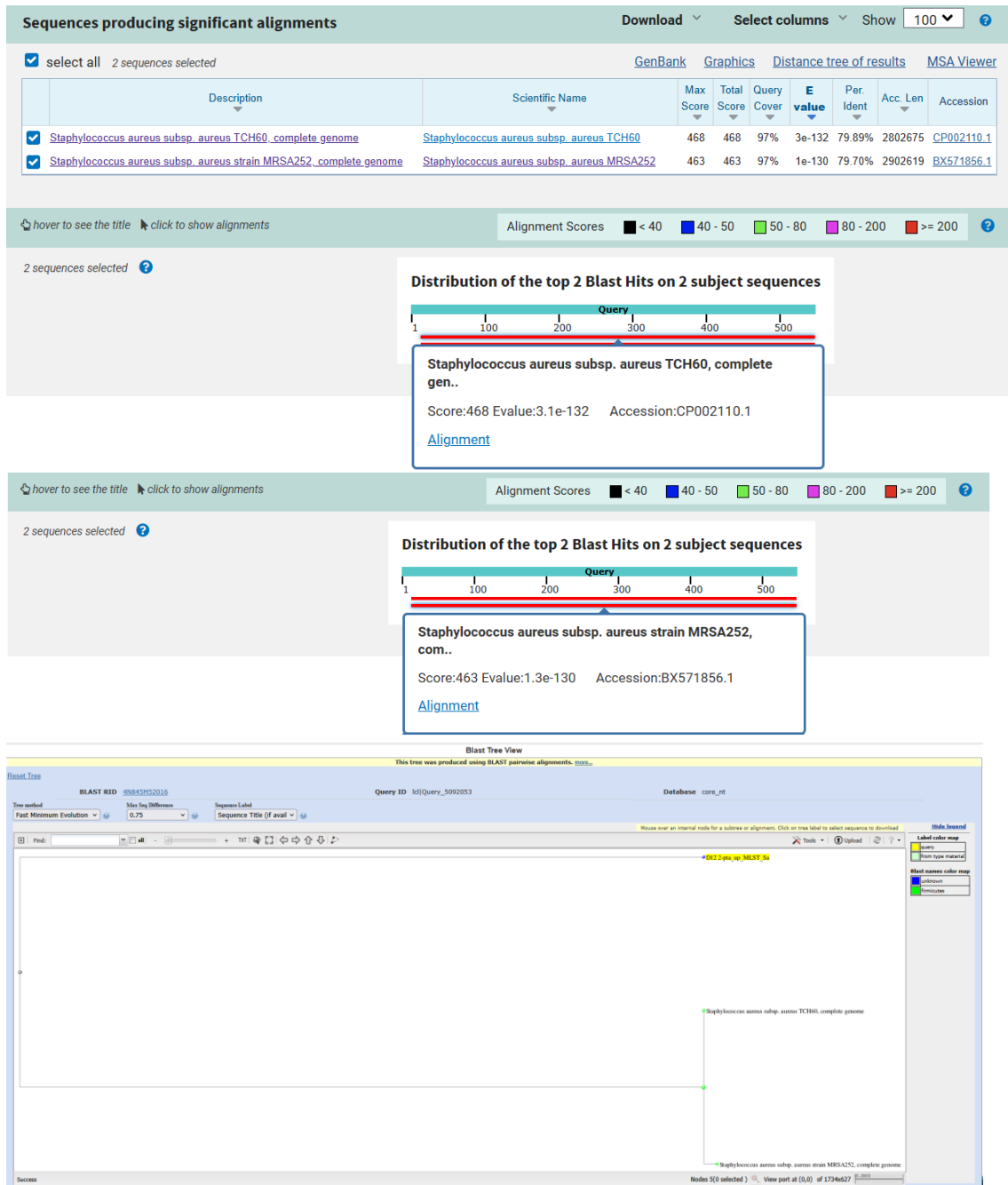
**Şekil 3.17.** BLAST analizi sonucunda KB8-15, tpi housekeeping geninin *Staphylococcus aureus subsp. aureus* TCH60 tam genom dizilimi benzerlik şeması. Range 2 (NIH,2025).

### 3.4.1.2. KB10-1

MLST sonucu için gerekli olan 7 housekeeping genden, *pta* (Phosphate acetyltransferase) ve *tpi* (Triosephosphate isomerase) pozitif sonuç vermiştir. Bu housekeeping genlerin BLAST analizi sonucu benzerlik oranları ve diğer ayrıntılar Şekil 30'da verilmiştir. MLST sonucunda KB8-15 ile KB10-1 isimli izolatların farklı hayvanlardan alınan aynı MSSA klonları olduğu tespit edilmiştir.

#### KB10-1, *pta* (Phosphate acetyltransferase)

KB10-1 izolatının, *pta* housekeeping geni açısından *Staphylococcus aureus subsp. aureus* TCH60 ile %79.89; *Staphylococcus aureus subsp. aureus* MRSA252 ile %79.70 benzerlik olduğu görülmektedir. İlgili grafik ve filogenetik ağaç (Şekil 30)'de verilmiştir.



Şekil 3.18. BLAST analizi sonucunda KB10-1, pta housekeeping geni açısından MRSA referans suşlarına benzerlik oranı ve filogenetik ağaç (NIH,2025).

### Staphylococcus aureus subsp. aureus TCH60, complete genome

Sequence ID: [CP002110.1](#) Length: 2802675 Number of Matches: 1

Range 1: 2713851 to 2714385 [GenBank](#) [Graphics](#)

[▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
468 bits(518)	3e-132	429/537(80%)	4/537(0%)	Plus/Minus
Query 14	TAACAGCAGCAACACAATTACAAAATACGGAATATGTTACACCAGTAGTATTAGGTAATG			73
Sbjct 2714385	TAACAGCTGCAACACAATTACAAGCAACAGATTATGTTACACCAATCGTGTTAGGTGATG			2714326
Query 74	AAGCTAATGTGAAGACTTTAGCTAATGATAAAGGAT-TAGATATTACTAACATTGAGATT			132
Sbjct 2714325	AGACTAAGGTTCAATCTTTAGCGCAAAA-ACTTAATCTTGATATTTCTAATATTGAATTA			2714267
Query 133	ATCGATCCAGAAACAAGTGAATTGAAACAAGAATTAGTAACTGCTTTTCGTTGAACGCCGT			192
Sbjct 2714266	ATTAATCCTGCGACAAGTGAATTGAAAGCTGAATTAGTTCAATCATTTGTTGAACGACGT			2714207
Query 193	AAAGGTAAAGCGACTGAAGAACAAGCACAAGAATGCTAAAAATGTAAACTACTTTGGT			252
Sbjct 2714206	AAAGGTAAAGCGACTGAAGAACAAGCACAAGAATTTAAACAATGTGAACTACTTCGGT			2714147
Query 253	ACAATGCTTGTTTATACTGGTAAAGCTGAAGGACTAGTCAGCGGTGCAGCACATTCTACA			312
Sbjct 2714146	ACAATGCTTGTTTATGCTGGTAAAGCAGATGGTTAGTTAGTGGTGCAGCACATTCAACA			2714087
Query 313	GGCGATACAGTTCGCCAGCGTTACAAATTATTAACAAAACCTGGCGTTTCAAAAACA			372
Sbjct 2714086	GGCGACACTGTGCGTCCAGCTTTACAAATCATCAAAACGAAACCAGGTGTATCAAGAACA			2714027
Query 373	TCTGGCGTTTTCTTTATGATTAAGGAGAAGAACAATATATCTTCGGCGATTGCGCAATC			432
Sbjct 2714026	TCAGGTATCTCTTTATGATTAAGGTGATGAACAGTACATCTTTGGTGATTGTGCAATC			2713967
Query 433	AATCCAACACTTGAAGCACAAG-ACTTAGCTGAAATTGCAGTAGAGAGTGCAAAAACCTGC			491
Sbjct 2713966	AATCCAGAACTTGATTACAAGGACTT-GCAGAAATTGCAGTAGAAAGTGCAAAATCAGC			2713908
Query 492	TAAAAGCTTTGACATGACACCGCGTGTAGCAATGTTAAGCTTTTCAACAAAAGGGTC			548
Sbjct 2713907	ATTAAGCTTTGGCATGGATCCAAAAGTTGCAATGTTAAGCTTTTCAACAAAAGGGTC			2713851

Şekil 3.19. BLAST analizi sonucunda KB10-1, pta housekeeping geninin *Staphylococcus aureus* subsp. aureus TCH60 tam genom dizilimi benzerlik şeması (NIH,2025).

### Staphylococcus aureus subsp. aureus strain MRSA252, complete genome

Sequence ID: [BX571856.1](#) Length: 2902619 Number of Matches: 1

Range 1: 644997 to 645531 [GenBank](#) [Graphics](#)

[▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
463 bits(513)	1e-130	428/537(80%)	4/537(0%)	Plus/Plus
Query 14	TAACAGCAGCAACACAATTACAAAATACGGAATATGTTACACCAGTAGTATTAGGTAATG			73
Sbjct 644997	TAACAGCTGCAACACAATTACAAGCAACAGATTATGTTACACCAATCGTGTAGGTGATG			645056
Query 74	AAGCTAATGTGAAGACTTTAGCTAAATGATAAAGGAT - TAGATATTACTAACATTGAGATT			132
Sbjct 645057	AGACTAAGGTTCAATCTTTAGCGCAAAA - ACTTAATCTTGATATTTCTAATATTGAATTA			645115
Query 133	ATCGATCCAGAAACAAGTGAATTGAAACAAGAATTAGTAACTGCTTTCGTTGAACGCCGT			192
Sbjct 645116	ATTAATCCTGCGACAAGTGAATTGAAAGCTGAATTAGTCAATCATTGTTGAACGACGT			645175
Query 193	AAAGGTAAGCGACTGAAGAACAAGCACAAGAAATGCTAAAAATGTAAACTACTTTGGT			252
Sbjct 645176	AAAGGTAAGCGACTGAAGAACAAGCACAAGAAATGCTAAAAATGTAAACTACTTCGGT			645235
Query 253	ACAATGCTTTGTTTATACTGGTAAAGCTGAAGGACTAGTCAGCGGTGCAGCACATTCTACA			312
Sbjct 645236	ACAATGCTTTGTTTATGCTGGTAAAGCAGATGGTTTAGTTAGTGGTGCAGCACATTCAACA			645295
Query 313	GCGCATACAGTTTCGCCAGCGTTACAATAATTAATAACAAAACCTGGCGTTTCAAAAACA			372
Sbjct 645296	GCGGACACTGTGCGTCCAGCTTTACAATCATCAAACGAAACAGGTGTATCAAGAACA			645355
Query 373	TCTGGCGTTTCTTTATGATTAAAGGAGAAGAACAATATATCTTCGGCGATTGCGCAATC			432
Sbjct 645356	TCAGGTATCTTTTATGATTAAAGGTGATGAACAGTACATCTTTGGTGATTGTGCAATC			645415
Query 433	AATCCAACACTTGAAGCACAA - GACTTAGCTGAAATTGCAGTAGAGAGTGCAAAAACCTGC			491
Sbjct 645416	AATCCAGAAGCTTGATTACAAGGACTT - GCAGAAATTGCAGTAGAAAGTGCAAAATCAGC			645474
Query 492	TAAAAGCTTTGACATGACACCGCGTGTAGCAATGTTAAGCTTTTCAACAAAAGGGTC			548
Sbjct 645475	ATTAAGCTTTGGCATGGATCCAAAAGTTGCAATGTTAAGCTTTTCAACAAAAGGGTC			645531

Şekil 3.20. BLAST analizi sonucunda KB10-1, pta housekeeping geninin *Staphylococcus aureus subsp. aureus* strain MRSA252 genom dizilimi benzerlik şeması (NIH,2025).

#### KB10-1, *tpi* (Triosephosphate isomerase)

KB10-1 izolatu, *tpi* housekeeping geni açısından *Staphylococcus aureus subsp. aureus* MRSA252 ile %85,49; *Staphylococcus aureus subsp. aureus* TCH60 ile %85.49 benzerlik olduğu görölmektedir. İlgili grafik ve filogenetik ağaç (Şekil 33)'te verilmiştir

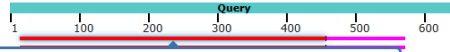
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Staphylococcus aureus subsp. aureus strain MRSA252_complete_genome</a>	<a href="#">Staphylococcus aureus subsp. aureus MRSA252</a>	504	675	86%	5e-143	85.49%	2902619	<a href="#">BX571856.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Staphylococcus aureus subsp. aureus TCH60_complete_genome</a>	<a href="#">Staphylococcus aureus subsp. aureus TCH60</a>	504	675	86%	5e-143	85.49%	2802675	<a href="#">CP002110.1</a>

hover to see the title click to show alignments

Alignment Scores ■ < 40 ■ 40 - 50 ■ 50 - 80 ■ 80 - 200 ■ >= 200

2 sequences selected

Distribution of the top 4 Blast Hits on 2 subject sequences



**Staphylococcus aureus subsp. aureus strain MRSA252, com..**

Score:504 Eval:5.1e-143 Accession:BX571856.1

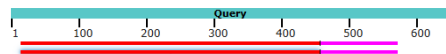
[Alignment](#)

hover to see the title click to show alignments

Alignment Scores ■ < 40 ■ 40 - 50 ■ 50 - 80 ■ 80 - 200 ■ >= 200

2 sequences selected

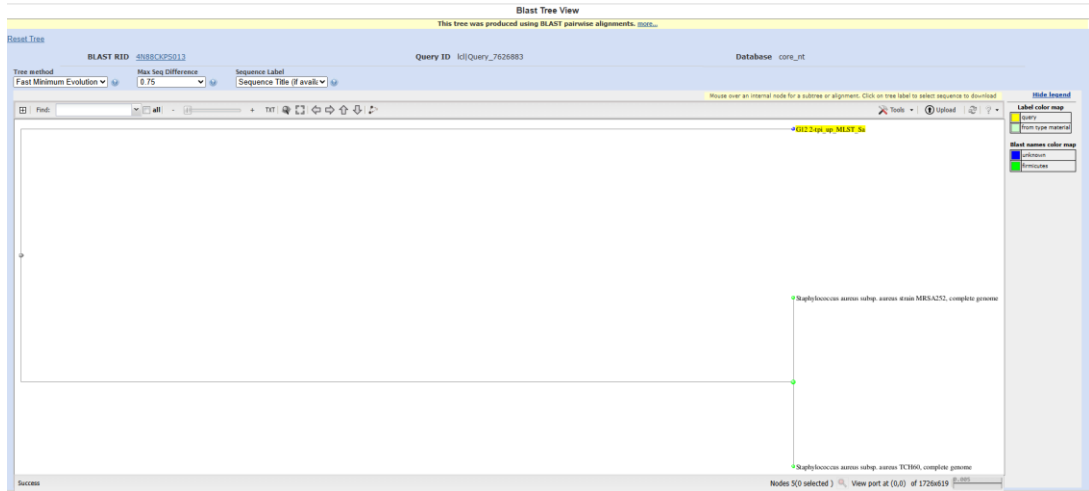
Distribution of the top 4 Blast Hits on 2 subject sequences



**Staphylococcus aureus subsp. aureus TCH60, complete gen..**

Score:504 Eval:5.1e-143 Accession:CP002110.1

[Alignment](#)



**Şekil 3.21.** BLAST analizi sonucunda KB10-1, tpi housekeeping geni açısından MRSA referans suşlarına benzerlik oranı ve filogenetik ağaç (NIH,2025).

**Staphylococcus aureus subsp. aureus strain MRSA252, complete genome**

Sequence ID: [BX571856.1](#) Length: 2902619 Number of Matches: 2

Range 1: 875343 to 875782 [GenBank](#) [Graphics](#)

[▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
504 bits(558)	5e-143	377/441(85%)	1/441(0%)	Plus/Plus
Query 15	GAAGAACTTAACAAAAAGCACATGCCGTATTTAACCATGGCATGACACCAATCATTG	74		
Sbjct 875343	GAAGAAATTAACAAAAAGCGCACGC - TATTTTCAACATGGAATGACTCCAATTATTG	875401		
Query 75	TGTTGGCGAAACTGATGAAGAACGCCGAAAGTGGAAAAGCAACGAAGTTGAGGCAACCA	134		
Sbjct 875402	TGTTGGTGAACAGACGAAAGCGTGAAGTGGTAAAGCTAACGATGTTGAGGTGAGCA	875461		
Query 135	AGTGAAAAAGCAGTAGAAGGTTTATC TGAAGAGCAATTACAACAAGTAGTTATTGCTTA	194		
Sbjct 875462	AGTTAAGAAAGCTGTTGCAGGTTTATC TGAAGTCAACTTAAATCAGTTGTAATTGCTTA	875521		
Query 195	TGAACCAATCTGGGCTATCGGTACTGGTAAATCATCAACTTCTGAAGATGCTAACGAAAT	254		
Sbjct 875522	TGAACCAATCTGGGCAATCGGAAC TGGTAAATCATCAACATCTGAAGATGCGAATGAAAT	875581		
Query 255	GTGTGCATTGTGAAGAGAAACAGTTGCTGAGTTATCTAGTCAAACAGTAGCAGATGCAAC	314		
Sbjct 875582	GTGTGCATTGTACGTCAAAC TATTGCTGACTTATCAAGCAAAGAAGTATCAGAAGCAAC	875641		
Query 315	TCGTATTCAATATGGTGGTAGTGTAAACCTAACCAACATTAAGAATACATGGCTCAATC	374		
Sbjct 875642	TCGTATTCAATATGGTGGTAGTGTAAACCTAACCAACATTAAGAATACATGGCACAAC	875701		
Query 375	AGACATCGATGGCGCATTAGTAGGCGGCATCACTTAAAGTGGATGATTTTGACAATT	434		
Sbjct 875702	TGATATTGATGGGGCATTAGTAGGCGGCATCACTTAAAGTGAAGATTCGTACAATT	875761		
Query 435	GTTAGAAGGTGCAAAATCATC 455			
Sbjct 875762	GTTAGAAGGTGCAAAATAATC 875782			

**Şekil 3.22.** BLAST analizi sonucunda KB10-1, tpi housekeeping geninin *Staphylococcus aureus subsp. aureus* strain MRSA252 genom dizilimi benzerlik şeması. Range 1 (NIH,2025).

Range 2: 875629 to 875752 [GenBank](#) [Graphics](#)

[▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#) [▲ First Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
170 bits(188)	1e-42	112/124(90%)	0/124(0%)	Plus/Minus
Query 448	AAATCATCCACTTTAAGTGATGCGCCGCTACTAATGCGCCATCGATGCTGATTGAGCC	507		
Sbjct 875752	AAATCTTCAACTTTAAGTGATGCGCCACCTACTAATGCCCATCAATATCAGTTTGTC	875693		
Query 508	ATGTATTCTTTAATGTTGTTAGGTTTAACTACCACCATATTGAATACGAGTTTCATCT	567		
Sbjct 875692	ATGTATTCTTTAATGTTGTTAGGTTTAACTACCACCATATTGAATACGAGTTGCTTCT	875633		
Query 568	GCTA 571			
Sbjct 875632	GATA 875629			

**Şekil 3.23.** BLAST analizi sonucunda KB10-1, tpi housekeeping geninin *Staphylococcus aureus subsp. aureus* strain MRSA252 genom dizilimi benzerlik şeması. Range 2 (NIH,2025).

### Staphylococcus aureus subsp. aureus TCH60, complete genome

Sequence ID: [CP002110.1](#) Length: 2802675 Number of Matches: 2

Range 1: 2512432 to 2512871 [GenBank](#) [Graphics](#)

▼ [Next Match](#) ▲ [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
504 bits(558)	5e-143	377/441(85%)	1/441(0%)	Plus/Minus
Query 15	GAAGAACTTAACAAAAAGCACATGCCTGTATTTAACCATGGCATGACACCAATCATTTG			74
Sbjct 2512871	GAAGAAATTAACAAAAAGCGCACGC - TATTTTCAAACATGGAATGACTCCAATATTTG			2512813
Query 75	TGTTGGCGAAACTGATGAAGAAGCGGAAAGTGGAAAAGCAACGAAGTTGTAGGCAACCA			134
Sbjct 2512812	TGTTGGTGAACAGACGAAGAGCGTGAAGTGGTAAAGCTAACGATGTTGTAGGTGAGCA			2512753
Query 135	AGTGAAAAAGCAGTAGAAGGTTTATCTGAAGAGCAATTACAACAAGTAGTTATTGCTTA			194
Sbjct 2512752	AGTTAAGAAAGCTGTTGCAGGTTTATCTGAAGATCAACTTAAATCAGTTGTAATTGCTTA			2512693
Query 195	TGAACCAATCTGGGCTATCGGTACTGGTAAATCATCAACTTCTGAAGATGCTAACGAAAT			254
Sbjct 2512692	TGAACCAATCTGGGCAATCGGAACGGTAAATCATCAACATCTGAAGATGCGAATGAAAT			2512633
Query 255	GTGTGCATTTGTAAGAGAAACAGTTGCTGAGTTATCTAGTCAAACAGTAGCAGATGCAAC			314
Sbjct 2512632	GTGTGCATTTGTACGTCAAACATTGCTGACTTATCAAGCAAAGAAGTATCAGAAGCAAC			2512573
Query 315	TCGTATTCAATATGGTGGTAGTGTAAACCTAACAACATTAAGAATACATGGCTCAATC			374
Sbjct 2512572	TCGTATTCAATATGGTGGTAGTGTAAACCTAACAACATTAAGAATACATGGCCACAAAC			2512513
Query 375	AGACATCGATGGCGCATTAGTAGGCGCGCATCACTTAAAGTGGATGATTTTGTACAATT			434
Sbjct 2512512	TGATATTGATGGGGCATTAGTAGGTGGCGCATCACTTAAAGTGAAGATTTCTGACAATT			2512453
Query 435	GTTAGAAGGTGCAAAATCATC	455		
Sbjct 2512452	GTTAGAAGGTGCAAAATAATC	2512432		

Şekil 3.24. BLAST analizi sonucunda KB10-1, tpi housekeeping geninin *Staphylococcus aureus subsp. aureus* TCH60 tam genom dizilimi benzerlik şeması. Range 1 (NIH,2025).

Range 2: 2512462 to 2512585 [GenBank](#) [Graphics](#)

▼ [Next Match](#) ▲ [Previous Match](#) ▲ [First Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
170 bits(188)	1e-42	112/124(90%)	0/124(0%)	Plus/Plus
Query 448	AAATCATCCACTTTAAGTGATGCGCGCCCTACTAATGCGCCATCGATGCTGATTGAGCC			507
Sbjct 2512462	AAATCTTCAACTTTAAGTGATGCGCCACCTACTAATGCCCATCAATATCAGTTTGTGCC			2512521
Query 508	ATGTATTCCTTTAATGTTAGGTTTAACTACCACCATATTGAATACGAGTTTTCATCT			567
Sbjct 2512522	ATGTATTCCTTTAATGTTAGGTTTAACTACCACCATATTGAATACGAGTTGCTTCT			2512581
Query 568	GCTA	571		
Sbjct 2512582	GATA	2512585		

Şekil 3.25. BLAST analizi sonucunda KB10-1, tpi housekeeping geninin *Staphylococcus aureus subsp. aureus* TCH60 tam genom dizilimi benzerlik şeması. Range 2 (NIH,2025).

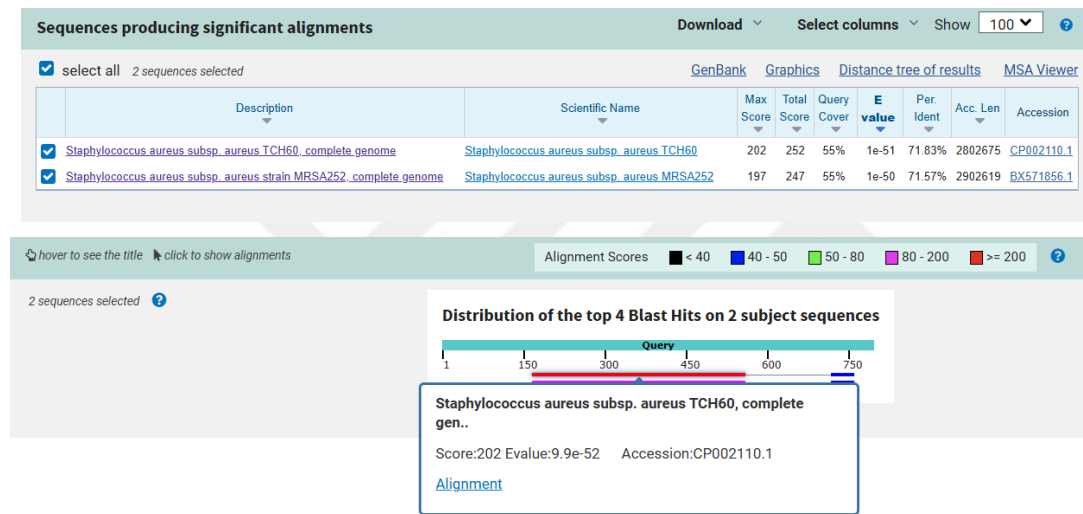
#### 3.4.1.3. TY1-2

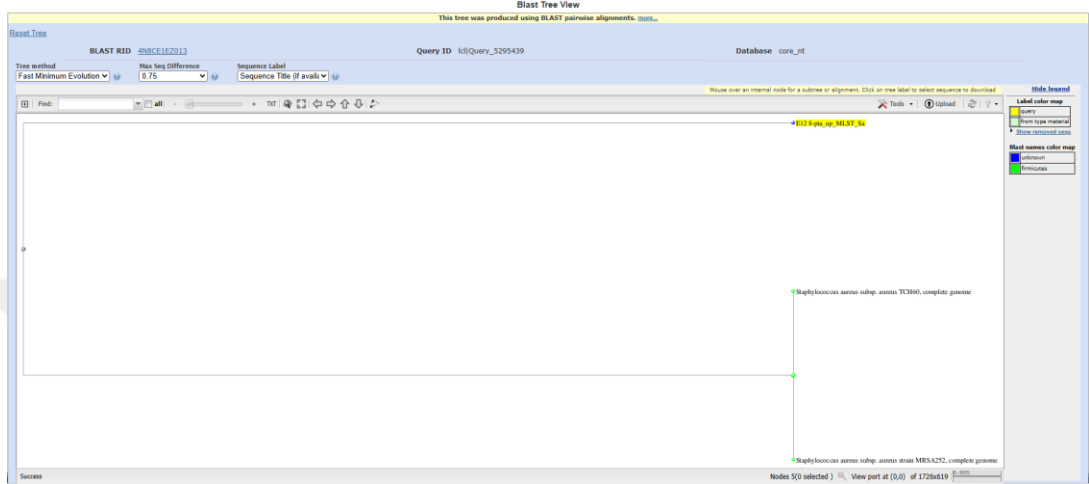
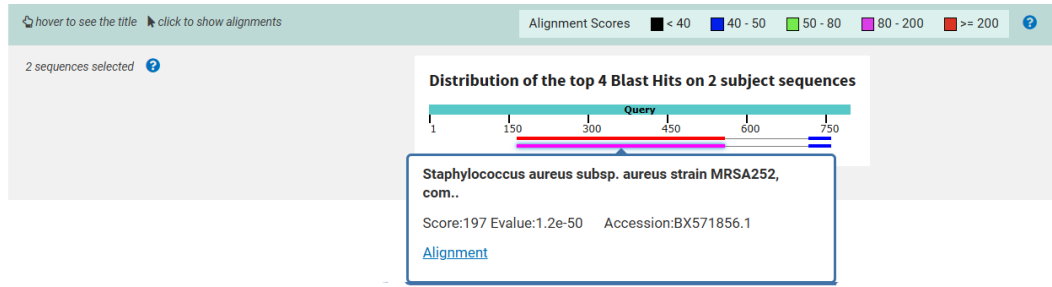
Bu izolatlar, MLST sonucu için gerekli olan 7 housekeeping genden, *pta* (Phosphate acetyltransferase) ve *arcC* (Carbamate kinase) için pozitif sonuç vermiştir. Bu housekeeping genlerin BLAST analizi sonucu benzerlik oranları ve diğer ayrıntılar

aşağıda verilmiştir. TY1-2 izolatı, fakülte içerisinde kendinden önceki izolatların alındığı yer ile temas halinde olmamasına rağmen, yine housekeeping genler açısından benzerlik taşıyan bir izolat olarak karşımıza çıkmaktadır.

### TY1-2, *pta* (Phosphate acetyltransferase)

KB8-15 *pta* housekeeping geni açısından *Staphylococcus aureus subsp. aureus* TCH60 ile %71.83; *Staphylococcus aureus subsp. aureus* MRSA252 ile %71.57 benzerlik olduğu görülmektedir. İlgili grafik ve filogenetik ağaç (Şekil 38)'da verilmiştir.





Şekil 3.26. BLAST analizi sonucunda TY1-2, pta housekeeping geni açısından MRSA referans suşlarına benzerlik oranı ve filogenetik ağaç (NIH,2025).

### Staphylococcus aureus subsp. aureus TCH60, complete genome

Sequence ID: [CP002110.1](#) Length: 2802675 Number of Matches: 2

Range 1: 2713851 to 2714236 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
202 bits(223)	1e-51	283/394(72%)	10/394(2%)	Plus/Minus
Query 165	GAAATGGTTGAAGCTTTTGTGAACGCCGTAAGGTAAGGCTACTGAAGAACAAGCTCGT	224		
Sbjct 2714236	GAATTAGTTCATTCATTTGTTGAACGACGTAAGGTAAGGCGACTGAAGAACAAGCACAA	2714177		
Query 225	AAAATTTTACGCGATGAAAACACTTTTGGTACGATGTTGGTATACCAAGGTCATGTGAT	284		
Sbjct 2714176	GAATTATTAACAATGTGAACACTCTCGGTACAATGCTTGTATTGCTGGTAAAGCAGAT	2714117		
Query 285	GCCTTAGTATCAGGTGCCCGTCATTCAACTGGTGACACAGTTCGTCAGCCTTACAAAT	344		
Sbjct 2714116	GGTTTAGTTAGTGGTGACGACATTCACAGGCGACACTGTGCGTCCAGCTTTACAAATC	2714057		
Query 345	ATCAAAACAAAACAGGTG--TGAAGTCTACATCAGGTGCTTTTCATCATGTTGCGTGGAC	402		
Sbjct 2714056	ATCAAAACGAAACAGGTGTATCAAG--AACATCAGGTATCTTCTTATGAT---TAAAG	2714002		
Query 403	GCGACCAAGAGAAATACTTATTCCTGACTGTGCAATCAACATCAACCAGATGCAGAAG	462		
Sbjct 2714001	GTGATGAACAG---TACATCTTGGTGATTGTGCAATCAATCCAGAAC TTGATTACAAG	2713945		
Query 463	GCTTAGCTGAAATTGCAGTTGAATCTGCTAAAACAGTGCGATGTTTGACATTGATCCAA	522		
Sbjct 2713944	GACTTGACAGAAATTGCAGTAGAAAGTGCAAAATCAGCATTAAAGCTTTGGCATGGATCCAA	2713885		
Query 523	AAGTTGCTTTATTAAGCTTTTCAACAAAAGGGTC	556		
Sbjct 2713884	AAGTTGCAATGTTAAGCTTTTCAACAAAAGGGTC	2713851		

Şekil 3.27. BLAST analizi sonucunda TY1-2, pta housekeeping geninin *Staphylococcus aureus subsp. aureus* TCH60 tam genom dizilimi benzerlik şeması. Range 1 (NIH,2025).

Range 2: 2714384 to 2714425 [GenBank](#) [Graphics](#) [▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#) [▲ First Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
50.0 bits(54)	4e-06	36/42(86%)	0/42(0%)	Plus/Plus
Query 713	TAGAATACGCTCATCGTACTCTTCAGGTAATACGATTTAAC			754
Sbjct 2714384	TAGAACACGCTCGTCTCTCCTTCAGGTAATACGATTTAAC			2714425

Şekil 3.28. BLAST analizi sonucunda TY1-2, pta housekeeping geninin *Staphylococcus aureus subsp. aureus* TCH60 tam genom dizilimi benzerlik şeması. Range 2 (NIH,2025).

### Staphylococcus aureus subsp. aureus strain MRSA252, complete genome

Sequence ID: [BX571856.1](#) Length: 2902619 Number of Matches: 2

Range 1: 645146 to 645531 [GenBank](#) [Graphics](#) [▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
197 bits(218)	1e-50	282/394(72%)	10/394(2%)	Plus/Plus
Query 165	GAAATGGTTGAAGCTTTTGTGTTGAACGCCGTAAGGTAAGGCTACTGAAGAACAAGCTCGT			224
Sbjct 645146	GAATTAGTTCAATCATTGTTGAACGACGTAAGGTAAGGTAAGGCTACTGAAGAACAAGCACA			645205
Query 225	AAAATTTTACGCGATGAAAACACTTTTGGTACGATGTTGGTATACCAAGGCTATGTGAT			284
Sbjct 645206	GAATTATTAACAATGTGAACACTTTCGGTACAATGCTTGTATGCTGGTAAAGCAGAT			645265
Query 285	GCCTTAGTATCAGGTGCCCGTCATTCAACTGGTGACACAGTTCGTCAGCCTTACAAAT			344
Sbjct 645266	GGTTTAGTTAGTGGTGCAGCACATTCAACAGGCGACACTGTGCGTCCAGCTTTACAAATC			645325
Query 345	ATCAAAACAAAACAGGTG--TGAAGTCTACATCAGGTGCTTTCATCATGTTGCGTGGAC			402
Sbjct 645326	ATCAAAACGAAACAGGTGTATCAAG--AACATCAGGTATCTCTTTATGAT---TAAAG			645380
Query 403	GCGACCAAGAGAAATACTTATTCTCTGACTGTGCAATCAACATCAACCCAGATGCAGAAG			462
Sbjct 645381	GTGATGAACAG---TACATCTTGGTGATTGTGCAATCAATCCAGAACTGATTCAACAAG			645437
Query 463	GCTTAGCTGAAATTGCAGTTGAATCTGCTAAAACAGCTGCGATGTTTGACATTGATCCAA			522
Sbjct 645438	GACTTGCGAGAAATTGCAGTAGAAAGTGCAAAATCAGCATTAAAGCTTTGGCATGGATCCAA			645497
Query 523	AAGTTGCTTTATTAAGCTTTTCAACAAAAGGGTC			556
Sbjct 645498	AAGTTGCAATGTTAAGCTTTTCAACAAAAGGGTC			645531

Şekil 3.29. BLAST analizi sonucunda TY1-2, pta housekeeping geninin *Staphylococcus aureus subsp. aureus* strain MRSA252 genom dizilimi benzerlik şeması. Range 1 (NIH,2025).

Range 2: 644957 to 644998 [GenBank](#) [Graphics](#) [▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#) [▲ First Match](#)

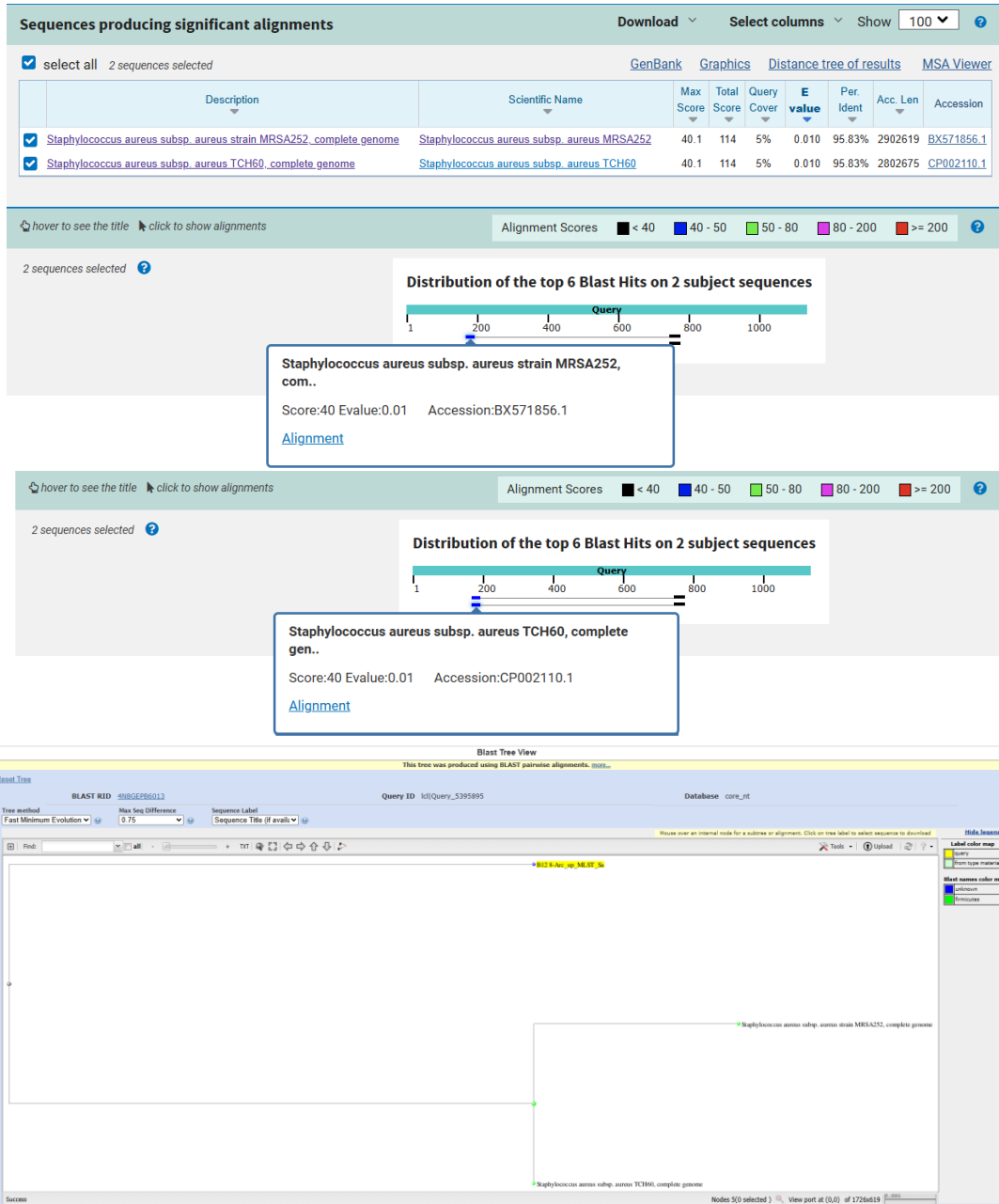
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
50.0 bits(54)	4e-06	36/42(86%)	0/42(0%)	Plus/Minus
Query 713	TAGAATACGCTCATCGTACTCTTCAGGTAATACGATTTAAC			754
Sbjct 644998	TAGAACACGCTCGTCTCTCCTTCAGGTAATACGATTTAAC			644957

Şekil 3.30. BLAST analizi sonucunda TY1-2, pta housekeeping geninin *Staphylococcus aureus subsp. aureus* strain MRSA252 genom dizilimi benzerlik şeması. Range 2 (NIH,2025).

### **TY1-2 *arcC* (Carbamate kinase)**

TY1-2 *arcC* houskeeping geni açısından *Staphylococcus aureus subsp. aureus* MRSA252 ile %95.83; *Staphylococcus aureus subsp. aureus* TCH60 ile %95.83 benzerlik olduğu gör÷lmektedir. İlgili grafik ve filogenetik ağaç (Şekil 43)'te verilmiştir.





Şekil 3.31. BLAST analizi sonucunda TY1-2, arcC housekeeping geni açısından MRSA referans suşlarına benzerlik oranı ve filogenetik ağaç (NIH,2025).

### Staphylococcus aureus subsp. aureus strain MRSA252, complete genome

Sequence ID: [BX571856.1](#) Length: 2902619 Number of Matches: 3

Range 1: 237149 to 237172 [GenBank](#) [Graphics](#)

[▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
40.1 bits(43)	0.010	23/24(96%)	0/24(0%)	Plus/Minus
Query 168	CTATATAAATAATTGTAATAATA	191		
Sbjct 237172	CTATATAAATAATCGTAATAATA	237149		

Range 2: 983111 to 983140 [GenBank](#) [Graphics](#)

[▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#) [▲ First Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
37.4 bits(40)	0.036	26/30(87%)	0/30(0%)	Plus/Minus
Query 740	AAATTGATTAATTAATTTTTCAACATTAA	769		
Sbjct 983140	AATTTTATTCATGAATTTTTCAACATTAA	983111		

Range 3: 1100108 to 1100127 [GenBank](#) [Graphics](#)

[▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#) [▲ First Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
37.4 bits(40)	0.036	20/20(100%)	0/20(0%)	Plus/Minus
Query 172	ATAAATAATTGTAATAATA	191		
Sbjct 1100127	ATAAATAATTGTAATAATA	1100108		

**Şekil 3.32.** BLAST analizi sonucunda TY1-2, arcC housekeeping geninin *Staphylococcus aureus subsp. aureus strain MRSA252* genom dizilimi benzerlik şeması. Range 1, Range 2, Range 3 (NIH,2025).

### Staphylococcus aureus subsp. aureus TCH60, complete genome

Sequence ID: [CP002110.1](#) Length: 2802675 Number of Matches: 3

Range 1: 314828 to 314851 [GenBank](#) [Graphics](#)

[▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
40.1 bits(43)	0.010	23/24(96%)	0/24(0%)	Plus/Plus
Query 168	CTATATAAATAATTGTAATAATA	191		
Sbjct 314828	CTATATAAATAATCGTAATAATA	314851		

Range 2: 2270549 to 2270568 [GenBank](#) [Graphics](#)

[▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#) [▲ First Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
37.4 bits(40)	0.036	20/20(100%)	0/20(0%)	Plus/Plus
Query 172	ATAAATAATTGTAATAATA	191		
Sbjct 2270549	ATAAATAATTGTAATAATA	2270568		

Range 3: 2387845 to 2387874 [GenBank](#) [Graphics](#)

[▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#) [▲ First Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
37.4 bits(40)	0.036	26/30(87%)	0/30(0%)	Plus/Plus
Query 740	AAATTGATTAATTAATTTTTCAACATTAA	769		
Sbjct 2387845	AATTTTATTCATGAATTTTTCAACATTAA	2387874		

**Şekil 3.33.** BLAST analizi sonucunda TY1-2, arcC housekeeping geninin *Staphylococcus aureus subsp. aureus TCH60* tam genom dizilimi benzerlik şeması. Range 1, Range 2, Range 3. (NIH,2025).

## 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi'nde yetiştirilen hayvanlardan (at, koyun, tavuk ve bildircin) alınan hayvansal ve çevresel örneklerden elde edilen MSSA ve MRSA izolatları epidemiyolojik yönden incelenmiştir. Hayvansal ve çevresel örnekleri içeren bu araştırma ile dünyada yapılan diğer çalışmalarda tespit edilen izolasyon oranı ve MLST analizi sonucu arasında benzerlikler gözlenmiştir (Enright vd., 2000). MRSA izole edilmese de, izole ve identifiye edilen MSSA klonlarının MLST analizi sonucunda, MRSA'ya dönüşmesi kaçınılmaz olan “Hiper Virulent MSSA klonları” olduğu saptanmıştır.

MLST analizi sonucunda koyun burun mukozasından izole edilen 1 (KB8-15) numaralı izolat, pta\_up ve tpi\_up; koyun burun mukozasından izole edilen 2 (KB10-1) numaralı izolat, tpi\_up; tavuk yemliğinden izole edilen 8 (TY1-2) numaralı izolat, Arc\_up genler yönünden pozitif tespit edilen 3 izolatın klonlarının farklı olduğu saptanmıştır. Bu durumda farklı allelik profillerine sahip “Hiper Virulent MSSA” klonları izole edilmiştir.

2021 yılında yapılan bir çalışmada 175.171 adet örneğin 5526'sı (%3,2) *S. aureus* olarak tespit edilmiş; *S. aureus* örneklerinin %17,8'inde metisiline direnç bulunmuştur. Çalışmada, 100 örnekten 8 adeti *S. aureus* (%8) olarak tespit edilmiştir. *S. aureus* örneklerinin 8 adetinin 3'ünde (%37,5) metisiline direnç bulunmuştur. Her iki çalışmada izole edilen *S. aureus* tespit oranları benzerlik göstermektedir. Bu çalışmada MRSA tespit edilememiştir (Feuer vd, 2021)

Neradova ve ark. (2020), sağlıklı veteriner hekimlerden alınan, toplam 134 burun sürüntüsünü MRSA varlığı açısından test etmişlerdir (Neradova vd., 2020). İzole edilmiş dokuz MRSA suşu, sekans tipi (ST), spa tipi (t) ve *Staphylococcal Cassette Chromosome mec* tipi ile karakterize edilmiştir. ST398-t011-IV (n = 5), ST398-t2330-IV (n = 1), ST398-t034-V (n = 1), ST225-t003-II (n = 1) ve ST4894-t011-IV (n = 1) olmak üzere beş farklı genotip tanımlanmıştır. Hayvanlarda tespit edilen MRSA suşları, 8 (%6,72) veteriner hekimde bulunmuştur. Hayvan suşları arasında tek bir

baskın klonal kompleks spa-CC11'e ait üç spa tipi (t011, t034, t2330) tanımlanmıştır. Bu çalışmada, insan kaynaklı MRSA tipi, koyundan izole edilmiş; Neradova ve ark. (2020) yaptığı çalışmada hayvan kaynaklı MRSA tipinin insandan izole edildiğini belirtmiştir. Bu iki çalışmadak *S. aureus*'un türler arası geçiş ve konakçı spesifitesi olmadan çeşitli türlerde kolonize olabileceğini kanıtlar niteliktedir.

Stella ve ark. (2020), hayvan hastanesindeki muayenehanelerde kullanılan malzeme ve ekipmanlardan örnekler almışlardır. Alınan 276 örnekten 21'inde (%7,6) *S. aureus* identifiye etmişlerdir (Stella vd., 2020). İdentifiye edilen 21 adet *S. aureus* suşunun 4'ünün (%19,0) direnç geni olan *mecA* genini taşıdığı saptanmıştır. Ancak 4 suştan 2 tanesi, cefoxitine fenotipik olarak direnç göstermiştir. Bu çalışmada, çevresel örnek olarak tavuk yemliğinde, benzer oranda MSSA klonları olduğu gözlemlenmiştir. 8 adet *S. aureus*'un 3'ünde (%37,5) metisiline direnç bulunmuştur. Her iki çalışmada izole edilen *S. aureus* tespit oranları kısmen benzerlik göstermektedir.

Mulders ve ark. (2010), kümes hayvanlarında ve mezbaha personeline MRSA taşıyıcılığını belirlemek için altı mezbahada 40 Hollanda broiler piliç sürüsü ve 466 personelden örnek almışlardır (Mulders vd., 2010). Çalışanlardan 446'sından, 26'sı (%5,6) MRSA pozitif olduğu saptanmıştır. Broiler sürüsünden (40 adet) ve mezbahadan 405 adet örnek alınmış ve bunların %6,9'unun, MRSA pozitif olduğu saptanmıştır. Mulders ve ark.'nın yaptığı çalışmada, broilerlerde bulunan MRSA'nın mezbaha işçileri, mezbahaya kesim için gelen hayvanlar ve kesimden sonra broiler karkaslarını kontamine ettiği bildirilmiştir. Bu çalışmada MRSA tespit edilememiştir.

Oklahoma'da perakende kümes hayvanı etleri üzerine yapılan başka bir çalışmada, toplam 167 (114 tavuk ve 53 hindi) soğutulmuş kümes hayvanı eti kullanılmıştır. Tavuklardan alınan örneklerin 61/114'ü organik iken, kalan örnekler (53/114) konvansiyonel şekilde yetiştirilen tavuklardır. Konvansiyonel şekilde yetiştirilen 53 adet hindi örneği çalışmaya dahil edilmiştir. Konvansiyonel kümes hayvanı örneklerinde *S. aureus*'un genel yaygınlığı, 57/106 (%53,8) ve organik kümes hayvanlarında 25/61 (%41) oranında görülmüştür. *S. aureus*'un yaygınlığı, hindilerden elde edilen örneklerde %64,2, tavuklardan elde edilen örneklerde %42,1 oranında tespit edilmiştir. Tespit edilen *S. aureus*'un yaygınlığının hindilerde, tavuklara oranla daha fazla olduğu görülmektedir. Ayrıca konvansiyonel şekilde yetiştirilen hindilerdeki *S. aureus* yaygınlığı (%64,2), konvansiyonel tavuktakinden (%43,4) daha yüksek yüzdeyle gözlemlenmiştir. Tavuktaki 114 örnekten, ikisinin (%1,8) MRSA

pozitif olduğu tespit edilmiştir. Konvansiyonel yetiştirilen kümes hayvanı örneklerinde MRSA'nın genel yaygınlığı 1/106 (%0,9), organik şekilde yetiştirilen kümes hayvanı örneklerinde 1/61 (%1,6) oranında görülmüştür. Bir MRSA suşu organik şekilde yetiştirilen tavuk örneklerinden ve konvansiyonel şekilde yetiştirilen bir tavuk örneğinden elde edilmiştir (Abdalrahman vd., 2015). Hindi eti örneklerinde MRSA'ya yönelik bir bulguya rastlanmamıştır. Yapılan bu çalışmada *S. aureus* ile kontamine olmuş tavuk örneklerinin yüzdesi %42,1 olarak bulunmuştur ve ABD'de yapılan daha eski bir çalışmada neredeyse aynı oranlara sahip olduğu görülmüştür (%41) (Water vd., 2011). Bu kontaminasyon oranı, daha önce Japonya'da yapılan ve tavuk etinde %65,8 *S. aureus* yaygınlığı olduğunu ortaya koyan bir araştırmada (Kitai vd., 2005) ve Kuzey Dakota'da %67,6 olan başka bir çalışmada (Buyukcangaz vd., 2013) gözlemlenen orandan daha düşüktür. Ayrıca, tavuk etinde %53,3 *S. aureus* daha düşük bir oranda bildirilmiştir (Gundogan vd., 2005). Yapılan bu çalışmada tavuk etindeki %42,2 *S. aureus* yaygınlık oranı; Michigan'daki bir çalışmada yalnızca %25 (Bhargava vd., 2011); Iowa'daki başka bir çalışmada yalnızca %17,8'dir (Honson vd., 2011). Mevcut çalışmada hindi etindeki *S. aureus*'un genel yaygınlığı %64,2 bulunmuştur; bu da hindilerin %77'sinin *S. aureus* açısından pozitif olduğu tespit edilmiştir (Water vd., 2011). ABD'de yapılan bir çalışmada kıyılmış hindi etindeki *S. aureus* yaygınlığının %56 olduğu (Kelman vd., 2011) ABD'deki çalışmadan biraz daha yüksek olduğu görülmüştür. Iowa'da yapılan bir çalışmada, hindideki *S. aureus* yaygınlığının %19,4 olduğu bildirilmiştir (Honson vd., 2011).

MLST analizi klonal ilişkinin ortaya konulmasında önemli bir yöntemdir. MRSA ve MSSA üzerinde, kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmada, farklı hayvanlardan ve çevresel örneklerden yapılan MLST analizi sonucunda Hiper Virulent MSSA klonları tespit edilmiştir. Oldukça riskli olan bu klonların tespiti diğer hayvanlara ve insanlara bulaşıcılığının önlenmesi açısından oldukça önemlidir. Gerek hayvan gerekse insanlarda ciddi hastalık ve kontaminasyona sebep olan MSSA'nın konakçı spesifitesi olmayan çok ciddi bir zoonoz olduğu bu çalışmada da gösterilmiştir. MRSA ve MSSA'lar hayvanlarda rutin olarak takip edilmeli ve bulaş riskleri belirlenmelidir. Hayvandan hayvana ve insanlara bulaşmasının önlenmesi için MRSA ve MSSA'ların rutin teşhisinin yapılması, halk sağlığının korunması açısından da son derece önemlidir.

## KAYNAKLAR

- Abdallahman, L. S., Stanley, A., Wells, H., & Fakhr, M. K. (2015). Isolation, virulence, and antimicrobial resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) strains from Oklahoma retail poultry meats. *International journal of environmental research and public health*, 12(6), 6148-6161.
- Agnoletti, F., Mazzolini, E., Bacchin, C., Bano, L., Berto, G., Rigoli, R., ... & Drigo, I. (2014). First reporting of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ST398 in an industrial rabbit holding and in farm-related people. *Veterinary Microbiology*, 170(1-2), 172-177.
- Alba, P., Feltrin, F., Cordaro, G., Porrero, M. C., Kraushaar, B., Argudín, M. A., ... & Battisti, A. (2015). Livestock-associated methicillin resistant and methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* sequence type (CC) 1 in European farmed animals: high genetic relatedness of isolates from Italian cattle herds and humans. *PLoS one*, 10(8), e0137143.
- Alt, K., Fetsch, A., Schroeter, A., Guerra, B., Hammerl, J. A., Hertwig, S., ... & Tenhagen, B. A. (2011). Factors associated with the occurrence of MRSA CC398 in herds of fattening pigs in Germany. *BMC veterinary research*, 7, 1-8.
- Altmeier, W. A., Lewis, S., & Brackett, K. (1981). The versatile staphylococcus. *The Staphylococci Pergamon Press; Oxford*, 125-148.
- Anzai, T., Kamada, M., Kanemaru, T., Sugita, S., Shimizu, A., & Higuchi, T. (1996). Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from mares with metritis and its zoonoepidemiology. *Journal of Equine Science*, 7(1), 7-11.
- Argudín, M. A., Tenhagen, B. A., Fetsch, A., Sachsenröder, J., Käsbohrer, A., Schroeter, A., ... & Guerra, B. (2011). Virulence and resistance determinants of German *Staphylococcus aureus* ST398 isolates from nonhuman sources. *Applied and environmental microbiology*, 77(9), 3052-3060.
- Bannerman, T. L., Hancock, G. A., Tenover, F. C., & Miller, J. M. (1995). Pulsed-field gel electrophoresis as a replacement for bacteriophage typing of *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology*, 33(3), 551-555.
- Beneke, B., Klees, S., Stührenberg, B., Fetsch, A., Kraushaar, B., & Tenhagen, B. A. (2011). Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a fresh meat pork production chain. *Journal of Food Protection*, 74(1), 126-129.
- Benito, D., Lozano, C., Rezusta, A., Ferrer, I., Vasquez, M. A., Ceballos, S., ... & Torres, C. (2014). Characterization of tetracycline and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains in a Spanish hospital: is livestock-contact a risk factor in infections caused by MRSA CC398?. *International Journal of Medical Microbiology*, 304(8), 1226-1232.
- Bhargava, K., Wang, X., Donabedian, S., Zervos, M., da Rocha, L., & Zhang, Y. (2011). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in retail meat, Detroit, Michigan, USA. *Emerging infectious diseases*, 17(6), 1135.

- Bisdorff, B., Scholhölter, J. L., Claussen, K., Pulz, M., Nowak, D., & Radon, K. (2012). MRSA-ST398 in livestock farmers and neighbouring residents in a rural area in Germany. *Epidemiology & Infection*, *140*(10), 1800-1808.
- Bos, M. E., Verstappen, K. M., Van Cleef, B. A., Dohmen, W., Dorado-García, A., Graveland, H., ... & Heederik, D. J. (2016). Transmission through air as a possible route of exposure for MRSA. *Journal of exposure science & environmental epidemiology*, *26*(3), 263-269.
- Bosch, T., Verkade, E., Van Luit, M., Landman, F., Kluytmans, J., & Schouls, L. M. (2015). Transmission and persistence of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among veterinarians and their household members. *Applied and environmental microbiology*, *81*(1), 124-129.
- Broens, E. M., Graat, E. A. M., Van der Wolf, P. J., Van de Giessen, A. W., Van Duijkeren, E., Wagenaar, J. A., ... & De Jong, M. C. M. (2011). MRSA CC398 in the pig production chain. *Preventive veterinary medicine*, *98*(2-3), 182-189.
- Buyukcangaz, E., Velasco, V., Sherwood, J. S., Stepan, R. M., Koslofsky, R. J., & Logue, C. M. (2013). Molecular typing of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) isolated from animals and retail meat in North Dakota, United States. *Foodborne pathogens and disease*, *10*(7), 608-617.
- Casey, J. A., Curriero, F. C., Cosgrove, S. E., Nachman, K. E., & Schwartz, B. S. (2013). High-density livestock operations, crop field application of manure, and risk of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in Pennsylvania. *JAMA internal medicine*, *173*(21), 1980-1990.
- Çetinkaya, Y., & Ünal, S. (1996). Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) Enfeksiyonları: Epidemiyoloji ve Kontrol. *Flora Dergisi*, *1*, 5.
- Chairat, S., Gharsa, H., Lozano, C., Gómez-Sanz, E., Gómez, P., Zarazaga, M., ... & Ben Slama, K. (2015). Characterization of *Staphylococcus aureus* from raw meat samples in Tunisia: detection of clonal lineage ST398 from the African continent. *Foodborne pathogens and disease*, *12*(8), 686-692.
- Chen, C., & Wu, F. (2021). Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) colonisation and infection among livestock workers and veterinarians: a systematic review and meta-analysis. *Occupational and Environmental Medicine*, *78*(7), 530-540.
- Chuang, Y. Y., & Huang, Y. C. (2015). Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Asia: an emerging issue?. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *45*(4), 334-340.
- Clarke, P. H., & Cowan, S. T. (1952). Biochemical methods for bacteriology. *Microbiology*, *6*(1-2), 187-197.
- Cox, R. A., Conquest, C., Mallaghan, C., & Marples, R. R. (1995). A major outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* caused by a new phage-type (EMRSA-16). *Journal of Hospital Infection*, *29*(2), 87-106.
- Cuny, C., Abdelbary, M., Layer, F., Werner, G., & Witte, W. (2015). Prevalence of the immune evasion gene cluster in *Staphylococcus aureus* CC398. *Veterinary microbiology*, *177*(1-2), 219-223.
- Cuny, C., Friedrich, A. W., & Witte, W. (2012). Absence of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clonal complex CC398 as a nasal

colonizer of pigs raised in an alternative system. *Applied and environmental microbiology*, 78(4), 1296-1297.

Cuny, C., Friedrich, A., Kozytska, S., Layer, F., Nübel, U., Ohlsen, K., ... & Witte, W. (2010). Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in different animal species. *International journal of medical microbiology*, 300(2-3), 109-117.

Cuny, C., Layer, F., Köck, R., Werner, G., & Witte, W. (2013). Methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) of clonal complex CC398, t571 from infections in humans are still rare in Germany. *PLoS One*, 8(12), e83165.

Cuny, C., Layer, F., Strommenger, B., & Witte, W. (2011). Rare occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC130 with a novel mec A homologue in humans in Germany. *PloS one*, 6(9), e24360.

Cuny, C., Layer, F., Werner, G. A. T. A. L., Harmsen, D., Daniels-Haardt, I., Jurke, A., ... & Köck, R. (2015). State-wide surveillance of antibiotic resistance patterns and spa types of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from blood cultures in North Rhine-Westphalia, 2011–2013. *Clinical Microbiology and Infection*, 21(8), 750-757.

Cuny, C., Nathaus, R., Layer, F., Strommenger, B., Altmann, D., & Witte, W. (2009). Nasal colonization of humans with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) CC398 with and without exposure to pigs. *PloS one*, 4(8), e6800.

Cuny, C., Strommenger, B., Witte, W., & Stanek, C. (2008). Clusters of infections in horses with MRSA ST1, ST254, and ST398 in a veterinary hospital. *Microbial drug resistance*, 14(4), 307-310.

Cuny, C., Wieler, L. H., & Witte, W. (2015). Livestock-associated MRSA: the impact on humans. *Antibiotics*, 4(4), 521-543.

De Araujo, F. P., Monaco, M., Del Grosso, M., Pirolo, M., Visca, P., & Pantosti, A. (2021). *Staphylococcus aureus* clones causing osteomyelitis: a literature review (2000–2020). *Journal of global antimicrobial resistance*, 26, 29-36.

de Boer, E. J. T. M., Zwartkruis-Nahuis, J. T. M., Wit, B., Huijsdens, X. W., De Neeling, A. J., Bosch, T., ... & Heuvelink, A. E. (2009). Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. *International journal of food microbiology*, 134(1-2), 52-56.

De Sousa, M. A., Sanches, I. S., Ferro, M. L., Vaz, M. J., Saraiva, Z., Tendeiro, T., ... & De Lencastre, H. (1998). Intercontinental spread of a multidrug-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone. *Journal of clinical microbiology*, 36(9), 2590-2596.

Decline, V., Effendi, M. H., Rahmani, R. P., Yanestria, S. M., & Harijani, N. (2020). Profile of antibiotic-resistant and presence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from nasal swab of dogs from several animal clinics in Surabaya, Indonesia. *International Journal of One Health*, 6(1), 90-94.

Deiters, C., Günnewig, V., Friedrich, A. W., Mellmann, A., & Köck, R. (2015). Are cases of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clonal complex (CC) 398 among humans still livestock-associated?. *International Journal of Medical Microbiology*, 305(1), 110-113.

- Deurenberg, R. H., & Stobberingh, E. E. (2009). The molecular evolution of hospital- and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Current molecular medicine*, 9(2), 100-115.
- Devriese, L. A., Van Damme, L. R., & Fameree, L. (1972). Methicillin (cloxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis cases. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe B*, 19(7), 598-605.
- Dominguez, M. A., De Lencastre, H., Linares, J., & Tomasz, A. (1994). Spread and maintenance of a dominant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clone during an outbreak of MRSA disease in a Spanish hospital. *Journal of clinical microbiology*, 32(9), 2081-2087.
- Dorado-García, A., Dohmen, W., Bos, M. E., Verstappen, K. M., Houben, M., Wagenaar, J. A., & Heederik, D. J. (2015). Dose-response relationship between antimicrobial drugs and livestock-associated MRSA in pig farming. *Emerging infectious diseases*, 21(6), 950.
- Duke, P. B., & Jarvis, J. D. (1972). The catalase test--a cautionary tale. *Medical laboratory technology*, 29(2), 203-204.
- Dweba, C. C., Zishiri, O. T., & El Zowalaty, M. E. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: livestock-associated, antimicrobial, and heavy metal resistance. *Infection and drug resistance*, 2497-2509.
- Emori, T. G., & Gaynes, R. P. (1993). An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. *Clinical microbiology reviews*, 6(4), 428-442.
- Enright, M. C., & Spratt, B. G. (1998). A multilocus sequence typing scheme for *Streptococcus pneumoniae*: identification of clones associated with serious invasive disease. *Microbiology*, 144(11), 3049-3060.
- Enright, M. C., Day, N. P., Davies, C. E., Peacock, S. J., & Spratt, B. G. (2000). Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology*, 38(3), 1008-1015.
- Enright, M. C., Fenoll, A., Griffiths, D., & Spratt, B. G. (1999). The three major Spanish clones of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* are the most common clones recovered in recent cases of meningitis in Spain. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(10), 3210-3216.
- Espinosa-Gongora, C., Harrison, E. M., Moodley, A., Guardabassi, L., & Holmes, M. A. (2015). MRSA carrying mecC in captive mara. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(6), 1622-1624.
- Espinosa-Gongora, C., Moodley, A., Lipinska, U., Broens, E. M., Hermans, K., Butaye, P., ... & Guardabassi, L. (2014). Phenotypes and genotypes of old and contemporary porcine strains indicate a temporal change in the *S. aureus* population structure in pigs. *PLoS One*, 9(7), e101988.
- EU Reference Laboratory for Antimicrobial Resistance (EURL-AMR), Laboratory Protocol: Isolation of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from Food-Producing Animals and Farm Environment, Version 4, April 2025, EURL-AMR, Technical University of Denmark, Lyngby, Denmark. Available from: <https://www.food.dtu.dk/english/topics/antimicrobial-resistance/eurl-ar/protocols>

European Food Safety Authority (EFSA), Aerts, M., Battisti, A., Hendriksen, R., Larsen, J., Nilsson, O., ... & Beloeil, P. A. (2022). Technical specifications for a baseline survey on the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in pigs. *EFSA Journal*, 20(10), e07620.

European Food Safety Authority. (2009). Analysis of the baseline survey on the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in holdings with breeding pigs, in the EU, 2008-Part A: MRSA prevalence estimates. *EFSA Journal*, 7(11), 1376.

Faires, M. C., Gehring, E., Mergl, J., & Weese, J. S. (2009). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in marine mammals. *Emerging Infectious Diseases*, 15(12), 2071.

Fang, H. W., Chiang, P. H., & Huang, Y. C. (2014). Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST9 in pigs and related personnel in Taiwan. *PLoS One*, 9(2), e88826.

Feil, E. J., Cooper, J. E., Grundmann, H., Robinson, D. A., Enright, M. C., Berendt, T., ... & Day, N. P. (2003). How clonal is *Staphylococcus aureus*? *Journal of bacteriology*, 185(11), 3307-3316.

Feil, E. J., Maiden, M. C., Achtman, M., & Spratt, B. G. (1999). The relative contributions of recombination and mutation to the divergence of clones of *Neisseria meningitidis*. *Molecular biology and evolution*, 16(11), 1496-1502.

Feingold, B. J., Silbergeld, E. K., Curriero, F. C., van Cleef, B. A., Heck, M. E., & Kluytmans, J. A. (2012). Livestock density as risk factor for livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, the Netherlands. *Emerging infectious diseases*, 18(11), 1841.

Feuer, L., Frenzer, S. K., Merle, R., Leistner, R., Bäumer, W., Bethe, A., ... & Bartel, A. (2024). Prevalence of MRSA in canine and feline clinical samples from one-third of veterinary practices in Germany from 2019–2021. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 79(9), 2273-2280.

Fitzgerald, J. R. (2012). Livestock-associated *Staphylococcus aureus*: origin, evolution and public health threat. *Trends in microbiology*, 20(4), 192-198.

Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2007). *Diagnostic microbiology* (pp. 288-302). St Louis: Mosby.

Foster, T. (1996). *Staphylococcus. Medical Microbiology. 4th edition.*

Friese, A., Schulz, J., Laube, H., von Salviati, C., Hartung, J., & Roesler, U. (2013). Faecal occurrence and emissions of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (laMRSA) and ESbl/AmpC-producing *E. coli* from animal farms in Germany. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*, 126(3-4), 175-180.

Friese, A., Schulz, J., Zimmermann, K., Tenhagen, B. A., Fetsch, A., Hartung, J., & Rösler, U. (2013). Occurrence of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Turkey and broiler barns and contamination of air and soil surfaces in their vicinity. *Applied and environmental microbiology*, 79(8), 2759-2766.

Fukunaga, B. T., Sumida, W. K., Taira, D. A., Davis, J. W., & Seto, T. B. (2016). Hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia related to

medicare antibiotic prescriptions: A state-level analysis. *Hawai'i Journal of Medicine & Public Health*, 75(10), 303.

Gaby, W. L., & Hadley, C. (1957). Practical laboratory test for the identification of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 74(3), 356-358.

García-Álvarez, L., Holden, M. T., Lindsay, H., Webb, C. R., Brown, D. F., Curran, M. D., ... & Holmes, M. A. (2011). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *The Lancet infectious diseases*, 11(8), 595-603.

Garcia-Graells, C., Antoine, J., Larsen, J., Catry, B., Skov, R., & Denis, O. (2012). Livestock veterinarians at high risk of acquiring methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398. *Epidemiology & Infection*, 140(3), 383-389.

Garcia-Graells, C., van Cleef, B. A., Larsen, J., Denis, O., Skov, R., & Voss, A. (2013). Dynamic of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 in pig farm households: a pilot study. *PLoS One*, 8(5), e65512.

Garoy, E. Y., Gebreab, Y. B., Achila, O. O., Tekeste, D. G., Kesete, R., Ghirmay, R., ... & Tesfu, T. (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): Prevalence and antimicrobial sensitivity pattern among patients—a multicenter study in asmara, eritrea. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 2019(1), 8321834.

Gopal, S., & Divya, K. C. (2017). Can methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* prevalence from dairy cows in India act as potential risk for community-associated infections?: a review. *Veterinary world*, 10(3), 311.

Gordon, J., & McLeod, J. W. (1928). The Practical Application of the Direct Oxidase Reaction in Bacteriology.

Gram, C. (1884). Ueber die isolirte Färbung der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten. *Fortschritte der Medicin*, 2, 185-189.

Graveland, H., Duim, B., Van Duijkeren, E., Heederik, D., & Wagenaar, J. A. (2011). Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals and humans. *International Journal of Medical Microbiology*, 301(8), 630-634.

Graveland, H., Van Duijkeren, E., Van Nes, A., Schoormans, A., Broekhuizen-Stins, M., Oosting-van Schothorst, I., ... & Wagenaar, J. A. (2009). Evaluation of isolation procedures and chromogenic agar media for the detection of MRSA in nasal swabs from pigs and veal calves. *Veterinary microbiology*, 139(1-2), 121-125.

Graveland, H., Wagenaar, J. A., Bergs, K., Heesterbeek, H., & Heederik, D. (2011). Persistence of livestock associated MRSA CC398 in humans is dependent on intensity of animal contact. *PloS one*, 6(2), e16830.

Groves, M. D., O'Sullivan, M. V., Brouwers, H. J., Chapman, T. A., Abraham, S., Trott, D. J., ... & Jordan, D. (2014). *Staphylococcus aureus* ST398 detected in pigs in Australia. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(5), 1426-1428.

Grubb, W. B. (1998). Genetics of MRSA. *Reviews and Research in Medical Microbiology*, 9(3), 153-162.

Grundmann, H., Schouls, L. M., Aanensen, D. M., Pluister, G. N., Tami, A., Chlebowicz, M., ... & Friedrich, A. W. (2014). The dynamic changes of dominant

clones of *Staphylococcus aureus* causing bloodstream infections in the European region: results of a second structured survey. *Eurosurveillance*, 19(49), 35-44.

Gundogan, N. E. S. L. İ. H. A. N., Citak, S. U. M. R. U., Yucel, N., & Devren, A. (2005). A note on the incidence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and chicken samples. *Meat science*, 69(4), 807-810.

Haag, A. F., Fitzgerald, J. R., & Penadés, J. R. (2019). *Staphylococcus aureus* in Animals. *Microbiology spectrum*, 7(3), 10-1128.

Haenni, M., Targant, H., Forest, K., Sévin, C., Tapprest, J., Laugier, C., & Madec, J. Y. (2010). Retrospective study of necropsy-associated coagulase-positive staphylococci in horses. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 22(6), 953-956.

Hanson, B. M., Dressler, A. E., Harper, A. L., Scheibel, R. P., Wardyn, S. E., Roberts, L. K., ... & Smith, T. C. (2011). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on retail meat in Iowa. *Journal of infection and public health*, 4(4), 169-174.

Harijani, N., Wandari, A., Effendi, M. H., & Tyasningsih, W. (2020). Molecular detection of encoding enterotoxin C gene and profile of antibiotic resistant on *Staphylococcus aureus* isolated from several dairy farms in East Java, Indonesia. *Biochemical and Cellular Archives*, 20(1), 3081-3085.

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

Harrison, E. M., Weinert, L. A., Holden, M. T., Welch, J. J., Wilson, K., Morgan, F. J., ... & Holmes, M. A. (2014). A shared population of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* 15 circulates in humans and companion animals. *MBio*, 5(3), 10-1128.

Hartmann, F. A., Trostle, S. S., & Klohn, A. A. (1997). Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a postoperative wound infection in a horse. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 211(5), 590-592.

Hermes, J., Witte, W., Cuny, C., Kleinkauf, N., Jansen, A., & Eckmanns, T. (2012, September). Prevalence of MRSA nasal colonization over time in veterinarians and their household contacts in Germany. In *International Journal of Medical Microbiology* (Vol. 302, pp. 146-146). OFFICE JENA, PO BOX 100537, 07705 JENA, GERMANY: ELSEVIER GMBH, URBAN & FISCHER VERLAG.

Holden, M. T. G., Feil, E. J., Lindsay, J. A., Peacock, S. J., Day, N. P. J., Enright, M. C., ... & Hauser, H. (2004). „HOLROYD, S., JAGELS, K., JAMES, KD, LENNARD, N., LINE, A., MAYES, R., MOULE, S., MUNGALL, K., ORMOND, D., QUAIL, MA, RABBINOWITSCH, E., RUTHERFORD, K., SANDERS, M., SHARP, S., SIMMONDS, M., STEVENS, K., WHITEHEAD, S., BARRELL, BG, SPRATT, BG & PARKHILL, J, 9786-9791.

Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. *American society for microbiology*, 15(1), 1-23.

Human Microbiome Jumpstart Reference Strains Consortium, Nelson, K. E., Weinstock, G. M., Highlander, S. K., Worley, K. C., Creasy, H. H., ... & Zhu, D.

(2010). A catalog of reference genomes from the human microbiome. *Science*, 328(5981), 994-999.

Idelevich, E. A., Lanckohr, C., Horn, D., Wieler, L. H., Becker, K., & Köck, R. (2016). Multidrug-resistant bacteria in Germany: The impact of sources outside healthcare facilities. *Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz*, 59, 113-123.

Jevons, M. P., Coe, A. W., & Parker, M. T. (1963). Methicillin resistance in staphylococci.

Jin, T., Bokarewa, M., Foster, T., Mitchell, J., Higgins, J., & Tarkowski, A. (2004). *Staphylococcus aureus* resists human defensins by production of staphylokinase, a novel bacterial evasion mechanism. *The journal of immunology*, 172(2), 1169-1176.

Juhász-Kaszanyitzky, É., Jánosi, S., Somogyi, P., Dán, Á., vanderGraaf van Bloois, L., Van Duijkeren, E., & Wagenaar, J. A. (2007). MRSA transmission between cows and humans. *Emerging infectious diseases*, 13(4), 630.

Juretzek, T., Porta, M. A., Buehling, A., Haubold, R., Pohle, M., Schwab, F., & Bär, W. (2011, September). Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at hospital admission in South Brandenburg, Germany. In *International Journal of Medical Microbiology* (Vol. 301, pp. 100-100). OFFICE JENA, PO BOX 100537, 07705 JENA, GERMANY: ELSEVIER GMBH, URBAN & FISCHER VERLAG.

Kadlec, K., Ehricht, R., Monecke, S., Steinacker, U., Kaspar, H., Mankertz, J., & Schwarz, S. (2009). Diversity of antimicrobial resistance pheno-and genotypes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from diseased swine. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 64(6), 1156-1164.

Kapuağası, A., Ağalar, C., Diri, C., Apaydın, N., & Türkyılmaz, R. (1997). Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Stafilokok Suşlarının Antibiyotik Direnç Oranlarının Değerlendirilmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 50(2).

Katz, D. S. (2010). Coagulase test protocol. *American society for microbiology*, 11.

Kelman, A., Soong, Y. A., Dupuy, N., Shafer, D., Richbourg, W., Johnson, K., ... & Meng, J. (2011). Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* from retail ground meats. *Journal of food protection*, 74(10), 1625-1629.

Khairullah, A. R., Ramandinianto, S. C., & Effendi, M. H. (2020). A review of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) on bovine mastitis. *Syst. Rev. Pharm*, 11(7), 172-183.

Khairullah, A. R., Sudjarwo, S. A., Effendi, M. H., Harijani, N., Tyasningsih, W., Rahmahani, J., ... & Riwu, K. H. P. (2020). A review of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on milk and milk products: Public health importance. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(8), 59-69.

Khairullah, A. R., Sudjarwo, S. A., Effendi, M. H., Ramandinianto, S. C., Gelolodo, M. A., Widodo, A., ... & Rehman, S. (2022). Profile of multidrug resistance and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on dairy cows and risk factors from farmer. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(6).

Khairullah, A. R., Sudjarwo, S. A., Effendi, M. H., Ramandinianto, S. C., Widodo, A., & Riwu, K. H. P. (2022). A review of horses as a source of spreading livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to human health. *Veterinary world*, 15(8), 1906.

- Kim, H. K., Falugi, F., Missiakas, D. M., & Schneewind, O. (2016). Peptidoglycan-linked protein A promotes T cell-dependent antibody expansion during *Staphylococcus aureus* infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *113*(20), 5718-5723.
- Kinross, P., Petersen, A., Skov, R., Van Hauwermeiren, E., Pantosti, A., Laurent, F., ... & European Human LA-MRSA Study Group. (2017). Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among human MRSA isolates, European Union/European Economic Area countries, 2013. *Eurosurveillance*, *22*(44), 16-00696.
- Kireççi, E. (2009). Evcil hayvanlarda MRSA taşıyıcılığı. *Medical Journal of Süleyman Demirel University*, *16*(4), 45-49.
- Kitai, S., Shimizu, A., Kawano, J., Sato, E., Nakano, C., Uji, T., & Kitagawa, H. (2005). Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from retail raw chicken meat in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, *67*(1), 107-110.
- Köck, R., Becker, K., Cookson, B., van Gemert-Pijnen, J. E., Harbarth, S., Kluytmans, J., ... & Friedrich, A. W. (2014). Systematic literature analysis and review of targeted preventive measures to limit healthcare-associated infections by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Eurosurveillance*, *19*(29), 23-49.
- Köck, R., Loth, B., Köksal, M., Schulte-Wülwer, J., Harlizius, J., & Friedrich, A. W. (2012). Persistence of nasal colonization with livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farmers after holidays from pig exposure. *Applied and environmental microbiology*, *78*(11), 4046-4047.
- Köck, R., Schaumburg, F., Mellmann, A., Köksal, M., Jurke, A., Becker, K., & Friedrich, A. W. (2013). Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) as causes of human infection and colonization in Germany. *PloS one*, *8*(2), e55040.
- Koop, G. (2016). MRSA transmission between horses and vets: who's doing the infecting? *The Veterinary record*, *178*(19), 471.
- Kovacs, N. (1956). Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *Nature*, *178*(4535), 703-703.
- Layer, F., Cuny, C., Strommenger, B., Werner, G., & Witte, W. (2012). Current data and trends on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz*, *55*, 1377-1386.
- Lekkerkerk, W. S. N., Van Wamel, W. J. B., Snijders, S. V., Willems, R. J., van Duijkeren, E., Broens, E. M., ... & Vos, M. C. (2015). What is the origin of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clonal complex 398 isolates from humans without livestock contact? An epidemiological and genetic analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, *53*(6), 1836-1841.
- Lin, J., Yeh, K. S., Liu, H. T., & Lin, J. H. (2009). *Staphylococcus aureus* isolated from pork and chicken carcasses in Taiwan: prevalence and antimicrobial susceptibility. *Journal of food protection*, *72*(3), 608-611.
- Loeffler, A., Boag, A. K., Sung, J., Lindsay, J. A., Guardabassi, L., Dalsgaard, A., ... & Lloyd, D. H. (2005). Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *56*(4), 692-697.

- Loncaric, I., & Künzel, F. (2013). Sequence type 398 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in a pet rabbit. *Veterinary Dermatology*, 24(3), 370-e84.
- Loncaric, I., Kübber-Heiss, A., Posautz, A., Stalder, G. L., Hoffmann, D., Rosengarten, R., & Walzer, C. (2013). Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp. carrying the *mecC* gene, isolated from wildlife. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(10), 2222-2225.
- Loncaric, I., Kübber-Heiss, A., Posautz, A., Stalder, G. L., Hoffmann, D., Rosengarten, R., & Walzer, C. (2014). *mec C*-and *mec A*-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from livestock sharing habitat with wildlife previously tested positive for *mec C*-positive MRSA. *Veterinary dermatology*, 25(2).
- Loncaric, I., Stalder, G. L., Mehinagic, K., Rosengarten, R., Hoelzl, F., Knauer, F., & Walzer, C. (2013). Comparison of ESBL- and AmpC producing Enterobacteriaceae and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from migratory and resident population of rooks (*Corvus frugilegus*) in Austria. *PloS one*, 8(12), e84048.
- Lowder, B. V., Guinane, C. M., Ben Zakour, N. L., Weinert, L. A., Conway-Morris, A., Cartwright, R. A., ... & Fitzgerald, J. R. (2009). Recent human-to-poultry host jump, adaptation, and pandemic spread of *Staphylococcus aureus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(46), 19545-19550.
- Lyon, B. R., & Skurray, R. O. N. (1987). Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus*: genetic basis. *Microbiological reviews*, 51(1), 88-134.
- Maalej, S. M., Trabelsi, J. J., Claude-Alexandre, G., Boutiba, I., Mastouri, M., Besbes, S., ... & Hammami, A. (2019). Antimicrobial susceptibility and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Tunisia: Results of a multicenter study. *J. Infect. Dis. Epidemiol*, 5(2), 71.
- MacFaddin, J. F. (2000). Biochemical tests for identification of medical bacteria, Williams and Wilkins. *Philadelphia, PA*, 113(7).
- Maiden, M. C., Bygraves, J. A., Feil, E., Morelli, G., Russell, J. E., Urwin, R., ... & Spratt, B. G. (1998). Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(6), 3140-3145.
- Majoros, L., Papp Falusi, E., Andriko, I., & Rozgonyi, F. (1996). A comparative study on the virulence of methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* strains. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica (Hungary)*, 43(2).
- McCarthy, A. J., & Lindsay, J. A. (2013). *Staphylococcus aureus* innate immune evasion is lineage-specific: a bioinformatics study. *Infection, Genetics and Evolution*, 19, 7-14.
- McCarthy, A. J., Van Wamel, W., Vandendriessche, S., Larsen, J., Denis, O., Garcia-Graells, C., ... & Lindsay, J. A. (2012). *Staphylococcus aureus* CC398 clade associated with human-to-human transmission. *Applied and environmental microbiology*, 78(24), 8845-8848.
- Meemken, D., Blaha, T., Hotzel, H., Strommenger, B., Klein, G., Ehrlich, R., ... & Kehrenberg, C. (2013). Genotypic and phenotypic characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from wild boars. *Applied and environmental microbiology*, 79(5), 1739-1742

- Melzer, M., Eykyn, S. J., Gransden, W. R., & Chinn, S. (2003). Is methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* more virulent than methicillin-susceptible *S. aureus*? A comparative cohort study of British patients with nosocomial infection and bacteremia. *Clinical Infectious Diseases*, 37(11), 1453-1460.
- Meyer, W. (1967). A proposal for subdividing the species *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 17(4), 387-389.
- Molla, B., Byrne, M., Abley, M., Mathews, J., Jackson, C. R., Fedorka-Cray, P., ... & Gebreyes, W. A. (2012). Epidemiology and genotypic characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains of porcine origin. *Journal of clinical microbiology*, 50(11), 3687-3693.
- Mulders, M. N., Haenen, A. P. J., Geenen, P. L., Vesseur, P. C., Poldervaart, E. S., Bosch, T., ... & Van De Giessen, A. W. (2010). Prevalence of livestock-associated MRSA in broiler flocks and risk factors for slaughterhouse personnel in The Netherlands. *Epidemiology & Infection*, 138(5), 743-755.
- Musser, J. M., & Kapur, V. (1992). Clonal analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from intercontinental sources: association of the mec gene with divergent phylogenetic lineages implies dissemination by horizontal transfer and recombination. *Journal of clinical microbiology*, 30(8), 2058-2063.
- Na'Was, T., Hawwari, A., Hendrix, E., Hebden, J., Edelman, R., Martin, M., ... & Fattom, A. I. (1998). Phenotypic and genotypic characterization of nosocomial *Staphylococcus aureus* isolates from trauma patients. *Journal of clinical microbiology*, 36(2), 414-420.
- Nemati, M., Hermans, K., Lipinska, U., Denis, O., Deplano, A., Struelens, M., ... & Haesebrouck, F. (2008). Antimicrobial resistance of old and recent *Staphylococcus aureus* isolates from poultry: first detection of livestock-associated methicillin-resistant strain ST398. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 52(10), 3817-3819.
- Neradova, K., Jakubu, V., Pomorska, K., & Zemlickova, H. (2020). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in veterinary professionals in 2017 in the Czech Republic. *BMC veterinary research*, 16, 1-6.
- Othman, A. A., Hiblu, M. A., Abbassi, M. S., Abouzeed, Y. M., & Ahmed, M. O. (2021). Nasal colonization and antibiotic resistance patterns of *Staphylococcus* species isolated from healthy horses in Tripoli, Libya. *Journal of equine science*, 32(2), 61-65.
- ÖZEN, N. S., DAĞLAR, D., BAYSAN, B. Ö., YILDIRIM, Ç., YAZISIZ, H., ÖĞÜNÇ, D., ... & GÜLTEKİN, M. (2011). METİSİLİN DİRENÇLİ STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUŞLARININ SAPTANMASINDA MRSA ID KROMOJENİK BESİYERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ. *Ankem Derg*, 25(1), 31-34.
- Palavecino, E.L. Clinical, epidemiologic, and laboratory aspects of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Methods Mol. Biol.* 2014, 1085, 1–24.
- Pannewick, B., Baier, C., Schwab, F., & Vonberg, R. P. (2021). Infection control measures in nosocomial MRSA outbreaks—Results of a systematic analysis. *PLoS One*, 16(4), e0249837.
- Pantosti, A. (2012). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with animals and its relevance to human health. *Frontiers in microbiology*, 3, 127.

- Paterson, G. K., Harrison, E. M., & Holmes, M. A. (2014). The emergence of mecC methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends in microbiology*, 22(1), 42-47.
- Paterson, G. K., Larsen, A. R., Robb, A., Edwards, G. E., Pennycott, T. W., Foster, G., ... & Holmes, M. A. (2012). The newly described mecA homologue, mecA LGA251, is present in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a diverse range of host species. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(12), 2809-2813.
- Price, L. B., Stegger, M., Hasman, H., Aziz, M., Larsen, J., Andersen, P. S., ... & Aarestrup, F. M. (2012). *Staphylococcus aureus* CC398: host adaptation and emergence of methicillin resistance in livestock. *MBio*, 3(1), 10-1128.
- Price, L. B., Stegger, M., Hasman, H., Aziz, M., Larsen, J., Andersen, P. S., ... & Aarestrup, F. M. (2012). *Staphylococcus aureus* CC398: host adaptation and emergence of methicillin resistance in livestock. *MBio*, 3(1), 10-1128.
- Pu, S., Han, F., & Ge, B. (2009). Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from Louisiana retail meats. *Applied and environmental microbiology*, 75(1), 265-267.
- Rahmaniar, R. P., Yunita, M. N., Effendi, M. H., & Yanestria, S. M. (2020). Encoding gene for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from nasal swab of dogs. *The Indian Veterinary Journal*, 97(2), 37-40.
- Reichmann, N. T., & Pinho, M. G. (2017). Role of SCC mec type in resistance to the synergistic activity of oxacillin and ceftiofur in MRSA. *Scientific Reports*, 7(1), 6154.
- Richardson, J. F., & Reith, S. (1993). Characterization of a strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (EMRSA-15) by conventional and molecular methods. *Journal of Hospital Infection*, 25(1), 45-52.
- Richter, A., Sting, R., Popp, C., Rau, J., Tenhagen, B. A., Guerra, B., ... & Fetsch, A. (2012). Prevalence of types of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in turkey flocks and personnel attending the animals. *Epidemiology & Infection*, 140(12), 2223-2232.
- Roman, R. S., Smith, J., Walker, M., Byrne, S., Ramotar, K., Dyck, B., ... & Nicolle, L. E. (1997). Rapid geographic spread of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain. *Clinical infectious diseases*, 25(3), 698-705.
- Rozgonyi, F., Kocsis, E., Kristóf, K., & Nagy, K. (2007). Is MRSA more virulent than MSSA?. *Clinical microbiology and infection*, 13(9), 843-845.
- Schleifer, K. H., & Kandler, O. J. B. R. (1972). Peptidoglycan types of bacterial cell walls and their taxonomic implications. *Bacteriological reviews*, 36(4), 407-477.
- Schulz, J., Friese, A., Klees, S., Tenhagen, B. A., Fetsch, A., Rösler, U., & Hartung, J. (2012). Longitudinal study of the contamination of air and of soil surfaces in the vicinity of pig barns by livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Applied and environmental microbiology*, 78(16), 5666-5671.
- Scott, G. M., Thomson, R., Malone-Lee, J., & Ridgway, G. L. (1988). Cross-infection between animals and man: possible feline transmission of *Staphylococcus aureus* infection in humans? *Journal of Hospital Infection*, 12(1), 29-34.

- Seguin, J. C., Walker, R. D., Caron, J. P., Kloos, W. E., George, C. G., Hollis, R. J., ... & Pfaller, M. A. (1999). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak in a veterinary teaching hospital: potential human-to-animal transmission. *Journal of clinical microbiology*, 37(5), 1459-1463.
- Shi, Z. Y., Enright, M. C., Wilkinson, P., Griffiths, D., & Spratt, B. G. (1998). Identification of three major clones of multiply antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Taiwanese hospitals by multilocus sequence typing. *Journal of clinical microbiology*, 36(12), 3514-3519.
- Shields, P., & Cathcart, L. (2010). Oxidase test protocol. *American Society for Microbiology*, 4, 1-9.
- Simor, A. E., Ofner-Agostini, M., Bryce, E., Green, K., McGeer, A., Mulvey, M., ... & Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program. (2001). The evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Canadian hospitals: 5 years of national surveillance. *Cmaj*, 165(1), 21-26.
- Slifierz, M. J., Friendship, R. M., & Weese, J. S. (2015). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in commercial swine herds is associated with disinfectant and zinc usage. *Applied and environmental microbiology*, 81(8), 2690-2695.
- Smith, A. C., & Hussey, M. A. (2005). *Gram stain protocols*. 2005.
- Smith, T. C., Moritz, E. D., Larson, K. L., & Ferguson, D. D. (2010). The environment as a factor in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission. *Reviews on environmental health*, 25(2), 121-134.
- Speller, D. C. E., Johnson, A. P., James, D., Marples, R. R., Charlett, A., & George, R. C. (1997). Resistance to methicillin and other antibiotics in isolates of *Staphylococcus aureus* from blood and cerebrospinal fluid, England and Wales, 1989–95. *The Lancet*, 350(9074), 323-325.
- Spratt, B. G. (1999). Multilocus sequence typing: molecular typing of bacterial pathogens in an era of rapid DNA sequencing and the internet. *Current opinion in microbiology*, 2(3), 312-316.
- Steinberg, J. P., Clark, C. C., & Hackman, B. O. (1996). Nosocomial and community-acquired *Staphylococcus aureus* bacteremias from 1980 to 1993: impact of intravascular devices and methicillin resistance. *Clinical Infectious Diseases*, 23(2), 255-259.
- Stella, A. E., Lima, T. F., Moreira, C. N., & De Paula, E. M. (2020). Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from veterinary hospital. *International Journal of Microbiology*, 2020(1), 2893027.
- Stull, J. W., Kenney, D. G., Slavić, D., & Weese, J. S. (2012). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a neonatal alpaca. *The Canadian Veterinary Journal*, 53(6), 670.
- Swartz, M. N. (1994). Hospital-acquired infections: diseases with increasingly limited therapies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(7), 2420-2427.
- Tenhagen, B. A., Fetsch, A., Stührenberg, B., Schleuter, G., Guerra, B., Hammerl, J. A., ... & Appel PhD, B. (2009). Prevalence of MRSA types in slaughter pigs in different German abattoirs. *Veterinary Record*, 165(20), 589-593.

Tenhagen, B. A., Vossenkuhl, B., Käsbohrer, A., Alt, K., Kraushaar, B., Guerra, B., ... & Fetsch, A. (2014). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in cattle food chains—prevalence, diversity, and antimicrobial resistance in Germany. *Journal of Animal Science*, 92(6), 2741-2751.

Trzeciński, K., Hryniewicz, W., & Khcytmans, J. (1997). i inni. Simultaneous persistence of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus* in a neonatal ward of a Warsaw Hospital. *J Hosp Infect*, 36, 291-303.

Turner, N. A., Sharma-Kuinkel, B. K., Maskarinec, S. A., Eichenberger, E. M., Shah, P. P., Carugati, M., ... & Fowler Jr, V. G. (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nature Reviews Microbiology*, 17(4), 203-218.

Uhlemann, A. C., Porcella, S. F., Trivedi, S., Sullivan, S. B., Hafer, C., Kennedy, A. D., ... & Lowy, F. D. (2012). Identification of a highly transmissible animal-independent *Staphylococcus aureus* ST398 clone with distinct genomic and cell adhesion properties. *MBio*, 3(2), 10-1128.

Utter, B., Deutsch, D. R., Schuch, R., Winer, B. Y., Verratti, K., Bishop-Lilly, K., ... & Fischetti, V. A. (2014). Beyond the chromosome: the prevalence of unique extra-chromosomal bacteriophages with integrated virulence genes in pathogenic *Staphylococcus aureus*. *PLoS One*, 9(6), e100502.

Van Balen, J., Mowery, J., Piraino-Sandoval, M., Nava-Hoet, R. C., Kohn, C., & Hoet, A. E. (2014). Molecular epidemiology of environmental MRSA at an equine teaching hospital: introduction, circulation and maintenance. *Veterinary research*, 45, 1-12.

Van Cleef, B. A. G. L., Broens, E. M., Voss, A., Huijsdens, X. W., Züchner, L., Van Benthem, B. H. B., ... & Van De Giessen, A. W. (2010). High prevalence of nasal MRSA carriage in slaughterhouse workers in contact with live pigs in The Netherlands. *Epidemiology & Infection*, 138(5), 756-763.

van Cleef, B. A., Graveland, H., Haenen, A. P., van de Giessen, A. W., Heederik, D., Wagenaar, J. A., & Kluytmans, J. A. (2011). Persistence of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in field workers after short-term occupational exposure to pigs and veal calves. *Journal of clinical microbiology*, 49(3), 1030-1033.

van Cleef, B. A., Monnet, D. L., Voss, A., Krziwanek, K., Allerberger, F., Struelens, M., ... & Kluytmans, J. A. (2011). Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in humans, Europe. *Emerging infectious diseases*, 17(3), 502.

Van Cleef, B.A.; van Benthem, B.H.; Verkade, E.J.; van Rijen, M.M.; Kluytmans, J.A.; van den Bergh, M.F.; Graveland, H.; Bosch, T.; Verstappen, K.M.; Wagenaar, J.A.; et al. Livestock-associated MRSA in household members of pig farmers: Transmission and dynamics of carriage, a prospective cohort study. *PLoS ONE* 2015, 10, e0127190.

van de Sande-Bruinsma, N., Leverstein van Hall, M. A., Janssen, M., Nagtzaam, N., Leenders, S., de Greeff, S. C., & Schneeberger, P. M. (2015). Impact of livestock-associated MRSA in a hospital setting. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 4, 1-6.

- Van de Vijver, L. P. L., Tulinski, P., Bondt, N., Mevius, D., & Verwer, C. (2014). Prevalence and Molecular Characteristics of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Organic Pig Herds in The Netherlands. *Zoonoses and Public Health*, *61*(5), 338-345.
- Van Den Broek, I. V. F., Van Cleef, B. A. G. L., Haenen, A., Broens, E. M., Van Der Wolf, P. J., Van Den Broek, M. J. M., ... & Tiemersma, E. W. (2009). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in people living and working in pig farms. *Epidemiology & Infection*, *137*(5), 700-708.
- Van den Eede, A., Martens, A., Feryn, I., Vanderhaeghen, W., Lipinska, U., Gasthuys, F., ... & Hermans, K. (2012). Low MRSA prevalence in horses at farm level. *BMC veterinary research*, *8*, 1-4.
- Van den Eede, A., Martens, A., Lipinska, U., Struelens, M., Deplano, A., Denis, O., ... & Hermans, K. (2009). High occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in equine nasal samples. *Veterinary microbiology*, *133*(1-2), 138-144.
- van Duijkeren, E., Moleman, M., van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M. S., Mullem, J., Troelstra, A., Fluit, A. C., ... & Wagenaar, J. A. (2010). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel: an investigation of several outbreaks. *Veterinary microbiology*, *141*(1-2), 96-102.
- van Rijen, M. M., Kluytmans-van den Bergh, M. F., Verkade, E. J., Ten Ham, P. B., Feingold, B. J., Kluytmans, J. A., & CAM Study Group. (2013). Lifestyle-associated risk factors for community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage in the Netherlands: an exploratory hospital-based case-control study. *PLoS One*, *8*(6), e65594.
- Van Wamel, W. J., Rooijackers, S. H., Ruyken, M., van Kessel, K. P., & van Strijp, J. A. (2006). The innate immune modulators staphylococcal complement inhibitor and chemotaxis inhibitory protein of *Staphylococcus aureus* are located on  $\beta$ -hemolysin-converting bacteriophages. *Journal of bacteriology*, *188*(4), 1310-1315.
- Vanderhaeghen, W., Cerpentier, T., Adriaensen, C., Vicca, J., Hermans, K., & Butaye, P. (2010). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ST398 associated with clinical and subclinical mastitis in Belgian cows. *Veterinary microbiology*, *144*(1-2), 166-171.
- Verkade, E., Kluytmans-van den Bergh, M., Van Benthem, B., van Cleef, B., van Rijen, M., Bosch, T., ... & Kluytmans, J. (2014). Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 from livestock veterinarians to their household members. *PloS one*, *9*(7), e100823.
- Vincze, S., Stamm, I., Kopp, P. A., Hermes, J., Adlhoch, C., Semmler, T., ... & Walther, B. (2014). Alarming proportions of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in wound samples from companion animals, Germany 2010–2012. *PloS one*, *9*(1), e85656.
- Vivas, R., Barbosa, A. A. T., Dolabela, S. S., & Jain, S. (2019). Multidrug-resistant bacteria and alternative methods to control them: an overview. *Microbial Drug Resistance*, *25*(6), 890-908.
- Vossenkuhl, B., Brandt, J., Fetsch, A., Käsbohrer, A., Kraushaar, B., Alt, K., & Tenhagen, B. A. (2014). Comparison of spa types, SCC mec types and antimicrobial

resistance profiles of MRSA isolated from turkeys at farm, slaughter and from retail meat indicates transmission along the production chain. *PloS one*, 9(5), e96308.

Walther, B., Hermes, J., Cuny, C., Wieler, L. H., Vincze, S., Abou Elnaga, Y., ... & Lübke-Becker, A. (2012). Sharing more than friendship-nasal colonization with coagulase-positive staphylococci (CPS) and co-habitation aspects of dogs and their owners. *PloS one*, 7(4), e35197.

Walther, B., Monecke, S., Ruscher, C., Friedrich, A. W., Ehricht, R., Slickers, P., ... & Lübke-Becker, A. (2009). Comparative molecular analysis substantiates zoonotic potential of equine methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology*, 47(3), 704-710.

Walther, B., Wieler, L. H., Friedrich, A. W., Kohn, B., Brunnberg, L., & Lübke-Becker, A. (2009). *Staphylococcus aureus* and MRSA colonization rates among personnel and dogs in a small animal hospital: association with nosocomial infections. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 122(5-6), 178-185.

Walther, B., Wieler, L. H., Vincze, S., Antão, E. M., Brandenburg, A., Stamm, I., ... & Lübke-Becker, A. (2012). MRSA variant in companion animals. *Emerging infectious diseases*, 18(12), 2017.

Ward, M. J., Gibbons, C. L., McAdam, P. R., Van Bunnik, B. A. D., Girvan, E. K., Edwards, G. F., ... & Woolhouse, M. E. J. (2014). Time-scaled evolutionary analysis of the transmission and antibiotic resistance dynamics of *Staphylococcus aureus* clonal complex 398. *Applied and environmental microbiology*, 80(23), 7275-7282.

Wardyn, S. E., Kauffman, L. K., & Smith, T. C. (2012). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in central Iowa wildlife. *Journal of wildlife diseases*, 48(4), 1069-1073.

Wassenberg, M. W. M., Bootsma, M. C. J., Troelstra, A., Kluytmans, J. A. J. W., & Bonten, M. J. M. (2011). Transmissibility of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (ST398) in Dutch hospitals. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(2), 316-319.

Waters, A. E., Contente-Cuomo, T., Buchhagen, J., Liu, C. M., Watson, L., Pearce, K., ... & Price, L. B. (2011). Multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in US meat and poultry. *Clinical Infectious Diseases*, 52(10), 1227-1230.7-Kitai, S.; Shimizu, A.; Kawano, J.; Sato, E.; Nakano, C.; Uji, T.; Kitagawa, H. Characterization of methicillin-resistant

Weese, J. S. (2004). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, 20(3), 601-613.

Weese, J. S., & van Duijkeren, E. (2010). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Veterinary microbiology*, 140(3-4), 418-429.

Weese, J. S., Archambault, M., Willey, B. M., Dick, H., Hearn, P., Kreiswirth, B. N., ... & Low, D. E. (2005). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel, 2000–2002. *Emerging infectious diseases*, 11(3), 430.


Weese, J. S., Caldwell, F., Willey, B. M., Kreiswirth, B. N., McGeer, A., Rousseau, J., & Low, D. E. (2006a). An outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections resulting from horse to human transmission in a veterinary hospital. *Veterinary microbiology*, 114(1-2), 160-164.

- Weese, J. S., Dick, H., Willey, B. M., McGeer, A., Kreiswirth, B. N., Innis, B., & Low, D. E. (2006). Suspected transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and in the household. *Veterinary microbiology*, 115(1-3), 148-155.
- Weese, J. S., Reid-Smith, R., Rousseau, J., & Avery, B. (2010). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) contamination of retail pork. *The Canadian Veterinary Journal*, 51(7), 749.
- Weese, J. S., Rousseau, J., Willey, B. M., Archambault, M., McGeer, A., & Low, D. E. (2006). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses at a veterinary teaching hospital: frequency, characterization, and association with clinical disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20(1), 182-186.
- Wendlandt, S., Shen, J., Kadlec, K., Wang, Y., Li, B., Zhang, W. J., ... & Schwarz, S. (2015). Multidrug resistance genes in staphylococci from animals that confer resistance to critically and highly important antimicrobial agents in human medicine. *Trends in microbiology*, 23(1), 44-54.
- Williams, M. E. (Ed.). (2012). *MRSA*. Greenhaven Publishing LLC.
- Witte, W., & Cuny, C. (2011). Emergence and spread of cfr-mediated multiresistance in staphylococci: an interdisciplinary challenge. *Future Microbiology*, 6(8), 925-931.
- Witte, W., Strommenger, B., Stanek, C., & Cuny, C. (2007). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in humans and animals, Central Europe. *Emerging infectious diseases*, 13(2), 255.
- Wulf, M. W., Markestein, A., Van der Linden, F. T., Voss, A., Klaassen, C., & Verduin, C. M. (2008). First outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in a Dutch hospital, June 2007. *Euro surveillance: bulletin Europeen sur les maladies transmissibles= European communicable disease bulletin*, 13(9), 8051.
- Yunita, M. N., Effendi, M. H., Rahmani, R. P., Arifah, S., & Yanestria, S. M. (2020). Identification of spa gene for strain typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from nasal swab of dogs. *Biochemical & Cellular Archives*, 20.
- Zarfel, G., Luxner, J., Folli, B., Leitner, E., Feierl, G., Kittinger, C., & Grisold, A. (2016). Increase of genetic diversity and clonal replacement of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in South-East Austria. *FEMS Microbiology Letters*, 363(14), fnw137.
- Zhao, C., Liu, Y., Zhao, M., Liu, Y., Yu, Y., Chen, H., ... & Wang, H. (2012). Characterization of community acquired *Staphylococcus aureus* associated with skin and soft tissue infection in Beijing: high prevalence of PVL+ ST398. *PloS one*, 7(6), e38577.



# EKLER

## EK.1. ETİK KURUL ONAYI

	Toplantı Tarihi : 20.06.2023
	Toplantı Sayısı : 2023/06
	Karar No :24

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ**  
**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI**

**1) Projenin Başlığı:**  
Veteriner Fakültesi'nde yetiştirilen hayvanlar ve çevresel örneklerden metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) izolatlarının epidemiyolojik yönden incelenmesi

**2) Proje Yöneticisi:**  
Unvan, Adı, Soyadı :Dr. Öğr. Üyesi Sibel KIZIL.  
Anabilim Dalı : Mikrobiyoloji  
Fakülte/Enstitü : Veteriner Fakültesi  
Üniversite/Kurum : Kırıkkale Üniversitesi  
Cep Telefonu :  
E-Mail Adresi :  
Yazışma Adresi : Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji AD  
Deney Hayvanı Kullanım Sertifikası var/ yok

**3) Yardımcı Araştırmacılar:**

Sayı	Araştırmacının	In-vivo Deneyim	Sertifika
1)	Unvanı, Adı ve Soyadı: Vet. Hek. Alperen YÜCEL. Projedeki görevi:Yükseklisans Öğrencisi (Yardımcı araştırmacı) Görev yeri: Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji AD Adres: Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji AD E-Mail Adresi: Telefon numarası:	<input type="checkbox"/> Var <input type="checkbox"/> Yok	<input checked="" type="checkbox"/> Var <input type="checkbox"/> Yok

**4) Başvuru Tipi**  
 Yeni Başvuru

**5) Proje Tarihleri:**  
Proje Başlangıç Tarihi : 01.08.2023  
Proje Bitiş Tarihi :01.08.2024  
Proje Süresi : 1 Yıl

**6) Proje Türü:**  
 Yüksek lisans

7) Hayvan Türü, Irkı, Sayısı, Cinsiyeti, Yaşı, Ağırlığı:

Tür	İrk	Sayı	Cinsiyet	Yaş	Ağırlığı
<input checked="" type="checkbox"/> Koyun		20	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> D		
<input checked="" type="checkbox"/> Diğer:	At	5	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> D		
<input checked="" type="checkbox"/> Diğer	Kanatlı	40			

8) Projenin Özeti

Veteriner Fakültesi'nde yetiştirilen at, koyun ve çevresel örneklerden European Union Antimicrobial Resistance Reference Laboratory (EURL-AR) protokolleri kullanılarak MRSA izole ve tanımlanacak; Klasik PCR ile MRSA genleri araştırılacak ve MRSA izolatlarının MLST analizleri yapılarak epidemiyolojik yönden incelenecektir. Klonlar tespit edilecektir.

**KARAR:** Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veterinerlik Mikrobiyoloji ABD Öğretim Üyesi, Dr. Öğr. Üyesi Sibel KIZIL'ın, "Veteriner Fakültesi'nde yetiştirilen hayvanlar ve çevresel örneklerden metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) izolatlarının epidemiyolojik yönden incelenmesi" isimli projesi, Kırıkkale Üniversitesi Hüseyin Aytemiz Deney Hayvanları Araştırma Ünitesinde yapılması şartı ile, Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu Yönergesinde belirtilmiş olan Etik İlkelerine uygun olduğuna karar verilmiştir.

Prof. Dr. Siyanti KARAHAN  
Başkan

Prof. Dr. Mural YILDIRIM  
Başkan Vekili

Prof. Dr. Umut TEKİN  
Üye

Prof. Dr. Mustafa TÜRK  
Üye

Prof. Dr. Serkan ERAT  
Üye

Doç. Dr. Faruk PEHLİVANLI  
Üye

Doç. Dr. Gülçin AYDIN  
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Nahit PAMUKOĞLU  
Üye

Yusuf BOSTANCI  
Üye

Mustafa AKIN  
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Yaşar ŞAHİN  
Üye

Tarım ve Orman Bakanlığının 15.02.2014 tarihli Resmî Gazetede yayımlanarak yürürlüğe giren Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik hükümlerince karar alınmış olup ilgili yönetmelik hükümlerine uymayanlara ve yetkisi olmadığı halde hayvan deneyi yapanlara 5199 Hayvanları Koruma Kanununun 28 inci maddesinin birinci fıkrasının (1) bendi gereğince işlem uygulanır.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Alperen YÜCEL

Doğum Tarihi :

Yabancı Dil :

Eğitim Durumu : (Kurum ve Yıl)

Lisans : Kırıkkale Üniversitesi (2017-2022)

Yüksek Lisans : Kırıkkale Üniversitesi (2022-Devam Etmekte)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl/Yıllar

Yayınları (SCI) :

Yayınları (Diğer) :

ISPEC 16th INTERNATIONAL CONFERENCE ON AGRICULTURE, ANIMAL SCIENCE & RURAL DEVELOPMENT November 15-17, 2024 / Konya, Türkiye

• VETERİNER FAKÜLTESİ'NDE YETİŞTİRİLEN HAYVANLAR VE ÇEVRESEL ÖRNEKLERDEN METİSİLİN *DİRENÇLİ STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA) İZOLATLARININ EPİDEMİYOLOJİK YÖNDEN İNCELENMESİ

XVI. ULUSAL VETERİNER HEKİMLERİ MİKROBİYOLOJİ KONGRESİ (ULUSLARARASI KATILIMLI) 25-28 EKİM 2024 SELÇUK / İZMİR

- Yarış atlarında dışkı mikrobiyotalarının karşılaştırılması
- Yarış atlarından izole ve tanımlanmış *Escherichia coli*'lerin GSβL, Amp-C ve karbapenemaz direncinin tespiti
- Yarış atlarından izole edilen metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) izolatlarının tespiti

Araştırma Alanları: Yarış atlarında dışkı mikrobiyotaları, yarış atlarından izole ve tanımlanmış *Escherichia coli*'lerin GSβL, Amp-C ve karbapenemaz direnci, yarış atlarından izole edilen metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) .