T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS
TEZİ

KÖPEKLERDE KOAGÜLAZ POZİTİF STAFİLOKOKLARIN NAZAL KOLONİZASYONU VE METİSİLİN DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI

TUĞÇE COŞGUN

DANIŞMAN
PROF. DR. SERKAN İKİZ

VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ ANABİLİM DALI
MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2019

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)

Bu çalışma 05.11.2019 Tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikrobiyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

TEZ JÜRİSİ

Prof. Dr. Serkan İKİZ
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Seyyal AK
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Veteriner Fakültesi

Doç. Dr. Hafize Sibel ÖZESEN ÇOLAK
İstanbul Üniversitesi
Su Ürünleri Fakültesi

..... Metin girmek için burayı tıklatın.
Üniversite
Fakülte

..... Metin girmek için burayı tıklatın.
Üniversite
Fakülte

iii

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Tuğçe Coşgun

İTHAF

Bu çalışmamı, bana karşılıksız sevginin olağanüstü gücünü gösteren sevgili aileme ve eğitim hakkı ellerinden alınmış olan tüm kız çocuklarına ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Engin bilgi ve deneyimleriyle bizlere her zaman yol gösteren Anabilim Dalı Başkanımız çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Seyyal AK'a,

Yüksek lisans eğitim sürecim boyunca bilgi ve deneyimi ile bana yol gösteren, anlayışı ve sabrı ile her türlü sorunumla samimiyetle ilgilenen, tez çalışmalarıma sonsuz katkıda bulunan ve bu tezi bitirmem için gerekli desteği daima büyük bir sabırla sağlayan değerli danışman hocam Sn. Prof. Dr. Serkan İKİZ'e,

Tez çalışmam ve lisansüstü eğitimim süresince bilgisi ile bana ışık olan Sn. Prof. Dr. A. Funda BAĞCIGİL'e, çalışma disiplini ve deneyimi ile daima yardıma hazır olan Sn. Doç. Dr. Kemal METİNER'e, her türlü sorunumda deneyim ve bilgisiyle yanımda olan Sn. Doç. Dr. Beren BAŞARAN KAHRAMAN'a, deneyimleriyle bana yol gösteren Sn. Doç. Dr. Belgi DİREN SIĞIRCI'ya, beni daima cesaretlendiren, pratikliği, sorun çözme kabiliyeti ve bilime olan tutkusu ile örnek olan, sonuca ulaşmamda çok büyük emeği bulunan Sn. Dr. Baran ÇELİK'e, istatiksel analizlerimde yardımlarını esirgemeyen Sn. Prof. Dr. Bülent Ekiz'e, laboratuvar çalışmalarında her zaman destek olan Sn. Araş. Gör. Barış HALAÇ'a, çalışkanlığı ve özverili yardımları ile desteğini eksik etmeyen Araş.gör. A. Ilgın KEKEÇ'e, güler yüzlü teknisyenimiz Sn. Gülten KARAKUZ'a tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Çalışma örneklerinin temini konusunda yardımcı olan ve lisansüstü eğitimim süresince desteğini esirgemeyen Sn. Dr. Z. Seda MAVİLİ'ye ve çalışmamda kullandığım pozitif suşları sağlayan Sn. Dr. Anders Rhod Larsen'e çok teşekkür ederim.

İlk günden beri tüm eğitim hayatım boyunca yanımda olan, sonsuz emek ve özveri sahibi sevgili annem Hatice COŞGUN'a, sevgili babam Ahmet COŞGUN'a, her daim desteğiyle yanımda olan sevgili kardeşim Gökçe COŞGUN'a çok teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 27790

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....İİ
BEYAN..... **HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.**
İTHAF..... İİİ
TEŞEKKÜR..... V
İÇİNDEKİLER ..... Vİ
TABLOLAR LİSTESİ..... Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ .....İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ X
ÖZET .....Xİİ
ABSTRACT..... XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ..... 1
2. GENEL BİLGİLER 2
2.1. Stafilokoklar……2
2.1.1 *Staphylococcus aureus*……2
2.1.2 *Staphylococcus intermedius*……...3
2.1.3 *Staphylococcus pseudintermedius*……...4
2.1.4 *Staphylococcus delphini*……..4
2.2 Antibiyotik Direnci…….5
2.2.1 Metisilin Direnci…….6
2.2.2 Metisilin Direncinden Korunma……..…..8
3. GEREÇ VE YÖNTEM……....10
3.1. Gereç……....10
3.1.1. Örnekler…….....10
3.1.2. Besiyerleri……..…….16
3.1.2.1. Mueller Hinton Broth (MHB)……..16
3.1.2.2. Oxacillin Resistant Screening Agar Base (ORSAB)……...16
3.1.2.3. %5 Koyun Kanı İçeren Kanlı Agar……....…….…17
3.1.2.4. Mueller Hinton Agar (MHA) ……..……..…17
3.1.3. Standart Suşlar…….……18

3.1.4. Polymerase Chain Reaction (PCR)……18
3.1.4.1. Ekstraksiyon……18
3.1.4.2. Amplifikasyon……..…18
3.1.4.3. Elektroforez……19
3.1.5. Diğer Gereçler……19
3.2 Yöntem……20
3.2.1. Örneklerin Toplanması……...20
3.2.2. İzolasyon ve İdentifikasyon……....21
3.2.3. Metisilin Direncinin Fenotipik Yöntemle Belirlenmesi…….....22
3.2.4. Spesifik PCR Analizi…….……..23
3.2.4.1 Genomik DNA Ekstraksiyonu…….…….23
3.2.4.2. Amplifikasyonlar…….……24
3.2.4.3. Agaroz Jel Elektroforezi…….26
3.2.5. İstatistiksel Analiz…….……...27
4. BULGULAR……... 28
4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları…….……....28
4.2. Fenotipik Metisilin Direnci Bulguları……..29
4.3. Genotipik Metisilin Direnci Bulguları…….29
4.4. İstatiktik Bulguları…….……..31
5. TARTIŞMA……..…32
KAYNAKLAR 38
HAM VERİLER 47
FORMLAR 55
ETİK KURUL KARARI 56
PATENT HAKKI İZNİ 58
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI..... 59
ÖZGEÇMİŞ 60

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3-1: Örneklerin alındığı yerler ve köpeklere ait bilgiler …….....10
Tablo 3-2: Kullanılan primerlerin dizilimleri ve amplikon büyüklükleri …….....25
Tablo 3-3 : mecA/mecC genleri primerlerinin dizilimleri ve amplikon büyüklükleri….25
Tablo 4-1: İzolatların türlere göre fenotipik ve genotipik direnç durumları ……31

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3-1a: İzolatlaron BD Phoenix süspansiyonu hazırlanışı …….22

Şekil 3-1b: İzolatların identifiye edildiği BD Phoenix 100 cihazı……22

Şekil 3-2: 0,5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanışı …….23

Şekil 4-1: ORSAB agarda *S. intermedius* grup (SIG) kültür görüntüsü ……..28

Şekil 4-2: DDT tekniği sonucu metisilin duyarlı *S. pseudintermedius* izolatı ….29

Şekil 4-3: mecA *ve* mecC genleri için m-PCR sonuçları …….30

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Antibiyotik Kullanımı	Antib. Kul.
Base-pare	bp
Clinical Laboratory Standards Institute	CLSI
Deoksinükleotid Trifosfat	dNTP
Deoksiribonükleik asit	DNA
Disk Difüzyon Testi	DDT
Eosine Methylene Blue	EMB
Gen Adaları	GA
Gram	g
Hidrojen Klorür	HCl
Hidrojen Peroksit	H_2O_2
Koagülaz Pozitif Stafilokok	KPS
Kilogram	kg
Meme Tümörü	MT
Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*	MRSA
Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*	*MRPS*
Mikrogram	µg
Mikrolitre	µl
Mikromolar	µM
Miligram	mg
Mililitre	ml
Mueller-Hinton Agar	MHA
Multiplex Polymerase Chain Reaction	M-PCR

Patojenite Adaları	PA
Penisilin Bağlayan Protein	PBP
Polymerase Chain Reaction	PCR
Santigrat Derece	C°
Staphylococcus aureus	*S. aureus*
Staphylococcus intermedius	*S. intermedius*
Staphylococcus pseudintermedius	*S. pseudintermedius*
Staphylococcus delphini	*S. delphini*
Staphylococcal Cassette Chromosome	SCC
Tris EDTA	TE
Tris Acetate EDTA	TAE
Ultraviolet	UV
Unit	U

ÖZET

Coşgun, T. (2019). Köpeklerde Koagülaz Pozitif Stafilokokların Nazal Kolonizasyonu ve Metisinin Direncinin Araştırılması**,** İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Veterinerlik Mikrobiyolojisi ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Bu çalışmada, nazal sıvap örneklerinde koagülaz pozitif stafilokokların varlığı, oranı ve tür dağılımının saptanması ile fenotipik olarak metisilin direnci ve genotipik incelemeler sonucu mecA ve mecC gen varlığının ve prevalansının araştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla çalışmaya alınan 200 adet köpeğe ait nazal sıvap örneklerinden 21 (%10,5) adedinde koagülaz pozitif stafilokoklar (KPS) izole edilmiştir. BD Phoenix otomatize sistemi (BD Diagnostic Instrument Systems, ABD) kullanılarak, 7 tanesi (%33,3) *S. aureus,* 14 tanesi (%66,6) *S. intermedius* grup (SIG) olmak üzere 21 koagülaz pozitif stafilokok izolatı tanımlanmıştır.

İzolatlardan elde edilen DNA'lar kullanılarak, m-PCR yöntemi ile *S. intermedius ve S. pseudintermedius* izolatlarının identifikasyonu tamamlandı. Toplamda, 14 *S. intermedius* grup (SIG) üyesinin 14 tanesi (%100) de *S. pseudintermedius* olarak identifiye edildi.

Söz konusu izolatların, fenotipik metisilin direnç profilinin ortaya çıkarılması açısından disk difüzyon yöntemi kullanılarak MHA üzerindeki zon çapları belirlendi. Toplamda, 8 farklı klinik ve barınaktaki 200 köpekten izole edilen 21 koagülaz pozitif stafilokoktan 16 tanesinde (%76,19) fenotipik metisilin direnci gözlemlendi.

Genotipik metisilin direncinin saptanması amacıyla Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu yöntemiyle metisilin direnci sağlayan mecA ve mecC geni varlığı araştırıldı. Toplam 21 izolatın 8 tanesinde (%38,09) mecA geni saptandı. Fenotipik metisilin direnci gösteren izolatlar dahil olmak üzere çalışılan örneklerin hiçbirinde mecC genine rastlanmadı.

Gerek koagülaz pozitif stafilokokların varlığının gerekse mecA gen varlığının yaş, cinsiyet ve son bir yıl içinde antibiyotik kullanımı ile istatistiksel olarak ilişkili olmadığı saptandı. ($p>0,05$) Ayrıca KPS ve mecA pozitif izolatların alındığı kaynaklara göre

değerlendirildi. İzolatların barınaklardan ya da kliniklerden elde edilme durumlarının çalışmamız açısından bir önem taşımadığı belirlendi (p>0,05).

Anahtar Kelimeler: Koagülaz Pozitif Stafilokok, köpek, mecA, mecC

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 27790

ABSTRACT

Coşgun, T. (2019). Investigation on Nasal Colonization of Coagulase Positive Staphylococci and Their Methicillin Resistance in Dogs. İstanbul University-Cerrahpasa, Institute of Graduate Studies, Department of Veterinary Microbiology. Master of Science Thesis.İstanbul.

The aim of this study was to determine the presence, prevalence and distribution of coagulase positive staphylococci and their phyenotypic resistance to methicillin. It was also aimed to investigate the presence and prevalence of mecA and mecC genes by genotypic studies.

For this purpose, coagulase positive staphylococci (KPS) were isolated from 21 (10.5%) nasal swab samples of 200 dogs included in the study. A total of 21 coagulase positive staphylococci isolates were identified, 7 (33.3%) S. aureus and 14 (66.6%) S. intermedius group (SIG) using the BD Phoenix automated system (BD Diagnostic Instrument Systems, USA).

Identification of S. intermedius and S. pseudintermedius isolates was completed by m-PCR using DNA obtained from the isolates. In total, 14 (100%) of 14 S. intermedius group (SIG) members were identified as S. pseudintermedius.

Zone diameters on MHA were determined by disc diffusion method to determine phenotypic methicillin resistance profile of these isolates. In total, phenotypic methicillin resistance was observed in 16 (76.19%) of 21 coagulase positive staphylococci isolated from 200 dogs in 8 different clinics and shelters.

In order to determine genotypic methicillin resistance, the presence of mecA and mecC gene that provides methicillin resistance was investigated by Multiplex Polymerase Chain Reaction method. MecA gene was detected in 8 (38.09%) of 21 isolates. No mecC gene was found in any of the samples studied, including phenotypic methicillin-resistant isolates.

The presence of coagulase positive staphylococci and mecA gene were not found to be statistically correlated with age, sex and antibiotic use in the last year. ($p > 0.05$) In addition, KPS and mecA positive isolates were evaluated according to the sources. It was determined that isolates obtained from shelters or clinics were not important for our study ($p > 0.05$).

Key Words: coagulase positive staphylococci, dog, mecA, mecC

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University-Cerrahpasa. Project No. 27790

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son senelerde bakterilerde antimikrobiyal direnç oranının hızla arttığı ve bu artışın antibiyotik öncesi çağa dönüşe ve tedavisi mümkün olmayan hastalıklara sebep olabileceği bildirilmektedir.

Stafilokoklar, insanlarda ve hayvanlarda standart mikrobiyota etkeni şeklinde yer almasının yanında patojen, humanoz, zoonoz karakterli infeksiyonlar başta olmak üzere lokal ve sistemik infeksiyonlara neden olan piyojenik karakterli etkenlerdir. Koagülaz pozitif stafilokoklar antimikrobiyallere karşı geliştirdiği direnç mekanizmaları sayesinde dikkatleri üzerine çekerek günümüzde çok önemli bir konuma sahip olmuştur.

1960'lı yıllardan bu yana, metisiline dirençli stafilokok suşları dünyada oranı hızla artan hastane infeksiyonu etkeni durumuna gelmişlerdir. Metisilin dirençli stafilokokların yanlışlıkla duyarlı olarak tanımlanması tedavide başarısızlıklara yol açmaktadır. Yine aynı şekilde metisiline duyarlı stafilokokların da dirençli saptanması boş yere yere glikopeptid antibiyotiklerin kullanılmasına sebep olmaktadır.

Metisilin direnci penisilin bağlayan protein (PBP) içermeleri sonucunda gelişmektedir. Bu PBP normal stafilokok suşlarının ihtiva ettiği PBP-1, 2 ve 3'ten farklıdır ve PBP2a olarak adlandırılır ve sefalosporinler ve karbapenemler türevi antibiyotiklere düşük afinite gösterir, bu antibiyotiklerin varlığında aktivitesini sürdürerek hücre duvarındaki peptidoglikan çapraz bağlarını bağlayarak bakterinin canlılığını sürdürmesini sağlar. PBP2a enzimi, kromozomda bulunan mecA geni ya da mecC geni tarafından kodlanmaktadır. Çalışmalar, mecC geni taşıyan izolatların, çiftlik hayvanlarından insanlara bulaştığını desteklemektedir.

Bu çalışmada köpeklerin burun boşluklarında koagülaz pozitif stafilok (KPS) taşıyıcılığı ve tür dağılımı incelenmesi hedeflenmiştir. Bununla birlikte izole edilen stafilokoklarda metisilin direncinin araştırılması amaçlandı. KPS olduğu belirlenen izolatlarda, gerek fenotipik gerekse moleküler düzeyde (mecA ve mecC gen varlığı) metisilin direnci araştırılacaktır. Ulusal boyutta köpeklerde nazal stafilokok taşıyıcılık prevalansının saptanması, izolatların identifikasyonu ve mecA ve mecC gen verilerinin detaylı bir şekilde güncellenmesi ile ülkemize özgü güncel bilgilerin uluslararası bilimsel platforma taşınmasına da olanak sağlaması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Stafilokoklar

Stafilokoklar; yaklaşık 100 yılı aşkın süredir infeksiyon etkenleri arasında en çok dikkat çeken bakteriler olarak bilim dünyasında göz önünde bulunmaktadır. 1878'de Robert KOCH tarafından tanımlanmış olmasından sonra 1880'de Pasteur sıvı besiyerinde stafilokok üretmeyi başarmıştır (Kloos, 1990; Tünger ve ark., 2004).

Gram pozitif, 0.5 – 1.5 µm çaplı ve yuvarlak şekilli olan stafilokoklar, genelde düzensiz kümeler halinde, hareketsiz bakterilerdir. Genel itibariyle katalaz pozitif, oksidaz negatif (*S. vitulinus, S. sciuri* ve *S. lentus* hariç), kapsülsüz mikroorganizmalardır (Bannerman, 2003).

Sporsuz olmalarına karşın kuruluğa çok dayanıklıdırlar. Sporsuz bakteriler içinde çevre koşullarına karşı en dayanıklı bakteriler olan stafilokoklar, kültürel ortamlarda 4°C'de 2-3 ay, 20°C'de ise 3-6 ay canlılıklarını koruyabilmektedirler (Güneş, 2008; Kutlu, 2006; Yıldırım, 2007). Aerop ve fakültatif anaerobik olan stafilokoklar, yüksek tuz konsantrasyonunda (%10 NaCl) ve 18–40°C arasında klasik besiyerlerinde üreyebilme özelliğindedirler (Bilgehan, 2004).

Bazı türleri memelilerin muköz membranları ve derilerinde kommensal olarak bulunabilir, diğer türleri piyojen enfeksiyonlar ve öldürücü septisemilere yol açmaktadır (Koneman ve ark., 2006; Brooks ve ark., 2007). Stafilokokların koagülaz enzimi varlığına göre pozitif ve negatif olarak ayrılmakla birlikte 35 farklı türü bulunmaktadır. *S. aureus, S. intermedius, S. hyicus* (Bergdoll MS., 1989), *S. delphini* (Martin SE, Iandolo JJ., 2000), türleri koagulaz pozitif stafilokokları (KPS) oluşturmaktadır. Sasaki ve ark.'nın 2004 yılında yaptığı çalışmalara göre, *S. aureus, S. intermedius, S. epidermidis, S. xylosus, S. hyicus, S. simulans ve S. schleiferi* türleri hayvanlarda en çok hastalığa neden olan stafilokoklar olarak geçmektedir. Son gerçekleştirilen çalışmaların ışığında S. intermedius grup bir grup olarak tanımlanmış ve yeni tanımlanan *S. pseudintermedius*'un da dahil olduğu, *S. intermedius* ve *S. delphini* içeren bir grup olarak literatürlere girmiştir.

2.1.1 *Staphylococcus aureus*

S. aureus, 1880 senesinde, İskoçyalı cerrahi hekim Alexander Ogston tarafından identifiye edilmiştir. 1884 senesinde de Alman hekim Friedrich Julius Rosenbach bakteriyi kolonilerin renginden dolayı Latince'de altın manasındaki "aurum" kelimesine atfederek *S. aureus* olarak adlandırmıştır (Henry, 2013).

Leonard ve ekibinin 2006 yılında, Briscoe ve takımının 2008 yılında yaptıkları çalışmalar neticesinde *S. aureus*, köpeklerde en sık rastlanan mikroorganizmalar arasında yer almaktadır.

S. aureus sporsuz bakteriler içerisinde en dayanıklılarındandır. Kuruluğa, ısıya, yüksek tuz içeriğine sahip ortama dayanıklıdır. Bu nedenle etkili antibiyotiklerin, hastane enfeksiyonu kontrol programlarının ve uygun halk sağlığı koşullarının varlığına rağmen hala önemli sorunlar yaratan patojenlerdendir (Aydın, 2008).

S. aureus'un bütün suşları koagülaz pozitif olmakla birlikte mannitolü fermente ederler. Stafilokokların tanısında kullanılan ticari kit tanımlama sistemleri ve otomatize sistemler stafilokok türlerini % 70 ile % 90 doğrulukta ve nispeten hızlı ve kolay şekilde tanımlamaktadır (Murray ve ark., 2005).

S. aureus, virülansı en güçlü olan stafilokok olmasına rağmen infeksiyon gelişimi sadece virülansa bağlı değildir; bakteri virülansının, konak savunma sistemi ile kuracağı dengeye bağlıdır. *S. aureus* kökenlerinin kapsül, protein A, peptidoglikan tabakası, teikoik asit gibi hücre duvarında bulunan maddeler, salgıladıkları enzimler ve toksinler patojenitesinde etkili olup, virülans faktörü olarak görev almaktadır (Akan, 2006).

2.1.2 *Staphylococcus intermedius*

S. intermedius 1976 senesinde Hajek tarafından bildirilmiştir. Sonrasında Van de Kerckove ile Devriese yapmış oldukları çalışmalarla türü komfirme etmişlerdir (Hajek, 1976; Meyer ve Schleifer, 1978; Biberstein ve ark., 1984; Chesneau ve ark., 2000; Bannoehr ve ark., 2009).

Zoonoz özellikteki *S. intermedius*; toksin üretimi, süperantijen olma özelliği ile önemli bir patojendir. Son yıllarda nozokomiyal infeksiyonlarda sıklıkla izole edilmektedir (Petrov ve ark., 2013; Cristina ve Degi, 2013; Udegbunam ve ark., 2014). *S. intermedius* ile infekte köpeklerle temas sonrası görülen infeksiyonlar sayıca oldukça fazladır (Boost ve ark., 2008; Cristina ve Degi, 2013; Fitzgerald, 2009; Udegbunam ve ark., 2014; Bond ve Loeffler, 2012).

S. intermedius proteaz, koagulaz, enterotoksin, eksfoliatif toksin, leukotoksin, alfa ve beta hemolizin gibi birçok virulens faktöre sahiptir. Bunlar, bakterinin kolonizasyonunu, üreyip yayılmasını sağlamaktadır (Bes ve ark., 2002; Scott ve ark., 2001; Hill ve ark., 2006; Fitzgerald, 2009, Devriese ve ark., 2009; Petrov ve ark., 2013; Bond ve Loeffler, 2012).

Bazı çalışmalarda, çeşitli kaynaklardan izole edilen *S. intermedius* suşlarının genotipik ve fenotipik olarak farklılıklar gösterdikleri, heterojen biyotipli *S. intermedius* suşlarının, *S. pseudintermedius* ve *S. delphini* türlerini ihtiva edebileceğini göstermiştir. Fenotipik olarak *S.*

intermedius olarak identifiye edilen izolatların moleküler yöntemlerle sınıflandırıldığında bu izolatların 3 kümeye ayrıldığı - *S. intermedius, S. pseudintermedius ve S. delphini*- bildirilmiştir (Devriese LA.ve ark., 2005).

2.1.3 *Staphylococcus pseudintermedius*

Staphylococcus pseudintermedius ilk olarak 2005 yılında köpeklerde pyoderma, otitis eksterna, üriner sistem infeksiyonlarına yol açan; 16S rRNA geni sekans analizi tekniği kullanılarak, *S. intermedius*'tan farklı bir koagülaz pozitif stafilokok türü olarak tanımlanmıştır. *S. pseudintermedius* kolonizasyonu köpeklerde yaygındır, sağlıklı köpeklerde %68'e kadar rapor edilmiştir (Rubin ve Trejo, 2011).

S. pseudintermedius fırsatçı türdür ve sıklıkla kedi ve köpeklerde kolonize olarak infeksiyonlara sebep olur. Bununla birlikte *S. pseudintermedius* infekte veya kolonize petlerden insanlara geçebilmekte ve artan bir halk sağlığı problemi haline gelmektedir (Hoovals ve ark., 2006). Etken b-galaktosidaz, D mannitol asiti, koagülaz, asetoin üretimi, polimiksin B direnci ile diğer stafilokoklardan ayrılabilmektedir (Guardabassi ve ark., 2004).

S. pseudintermedius, fenotipik profillerindeki benzerlik açısından *S. intermedius* ile karıştırılmasına rağmen, 2005 yılından itibaren yapılan çalışmalar sonucu *S. intermedius* ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan çalışmalar ile *S. pseudintermedius* bakteri türünün, *S. intermedius* grubunun (SIG) türlerinden biri olduğu açıklığa kavuşmuş, infeksiyonlardaki yaygın patojenin *S. intermedius* değil *S. pseudintermedius* olduğu kanıtlanmıştır (Sasaki ve ark., 2007).

S. pseudintermedius infeksiyonları özellikle köpeklerde artan önemi, zoonotik geçiş potansiyeli ve bu patojenin yüksek dirençli doğası göz önüne alındığında büyük önem arz etmektedir.

2.1.4 *Staphylococcus delphini*

Staphylococcus delphini, Gram-pozitif kokların, bir üyesi olup; tek, çift ve kümelenmiş koklardan oluşur. Bu türün ilk olarak, deri lezyonlarından muzdarip akvaryumdaki yunuslardan izole edilmiştir (Stull W. J., 2014).

S. intermedius grubunun (SIG) üyelerinden olan *S. delphini*, özellikle son yıllarda karnivorlarda da infeksiyona yol açtığı belirlenen, çoklu ilaç direncine sahip bakterilerdir. SIG üyelerini biyokimyasal yöntemler kullanarak ayırt etmek zordur, patojenlerin yanlış

tanımlanması meydana gelebilir ve tür düzeyinde tanımlama için moleküler teknikler gerektirir (Weese JS, van Duijkeren E., 2010).

Son zamanlarda, *S. delphini* A ve B gruplarına ayrılmıştır. A grubu için tipik konakçıların mustelidae (vizon, yaban gelinciği, porsuk vb.) olduğuna inanılırken, B grubu için konakçılar henüz tam olarak bilinmemektedir ve halen *S. pseudintermedius* ile de karıştırılmaktadır (Ruscher C., Lubke-Becker A., Wleklinski CG., Soba A., Wieler LH., Walther B., 2009).

2.2 Antibiyotik Direnci

Bir bakteri türünün bazı suşlarının antibiyotiklerden etkilenmemesi veya antibiyotiğe duyarlı bir suşun çeşitli direnç mekanizmalarından biri yardımıyla dirençli şekle dönüşmesi antibiyotiklerde direnç olarak tanımlanabilir (Durupınar, 2001). Antibiyotiklerin tıp, tarım ve hayvancılıkta yaygın kullanımı sonucu bakteriler antibiyotiklere karşı direnç geliştirmiştir. Bu dirençli bakterilerden kaynaklanan infeksiyonlardaki artış dünya genelinde sağlık hizmetlerinde büyük sorunlar oluşturmaktadır (Spellberg ve ark., 2008; Arefi ve ark., 2014). ABD'de hastane kaynaklı infeksiyonların %70'inden antibiyotik direncinin mesul olduğu bildirilmiştir (Li ve ark., 2010).

Özellikle veteriner hekimlikte antibiyotik kullanımı, antibiyotik dirençliliğinin yayılmasında büyük pay sahibidir. Antibiyotikler çiftlik hayvanlarında, pet hayvanlarında ve balık yetiştiriciliğinde yüksek oranda tercih edilmektedir. Ayrıca penisilin, sefalosporin ve diğer beta laktam grubu antibiyotikler çiftlik hayvanlarında büyümeyi desteklemek amacıyla kullanılmıştır (Mishra ve ark., 2012). Antibiyotiklerin özellikle çiftlik hayvanlarında tedavi ve büyümeyi artırmak amacıyla kullanılması halk sağlığı açısından da önemli ölçüde risk teşkil etmektedir. Bakterilerde gelişen antibiyotik dirençliliği çeşitli gıdalar, direnç gelişmiş gıda patojenleri ve direncin diğer mikroorganizmalara transferiyle yayılabilmektedir (Rhee ve ark., 2010).

Antibiyotiklerin çok uzun süredir tercih edilmesi ile birlikte, *S. aureus*'da diğer çoğu mikroorganizma gibi önemli direnç mekanizmaları geliştirmiştir (Hardy ve ark., 2004).

S. aureus, günümüzde kullanımda olan antibiyotiklerin çoğuna direnç geliştirmiş olup, dünya genelinde muhtelif antibiyotiklere karşı farklı direnç oranları raporlanmıştır. Direnç gelişiminde ise çeşitli mekanizmalar rol oynamaktadır. Bunlardan en önemlileri patojenite adaları ve hareketli gen kaset gruplarıdır (*Staphylococcal Cassette Chromosome* (SCC) *mec* Gen Grubu). Antibiyotik direnci ve virulans mekanizmalarının moleküler temellerinin

anlaşılabilmesi için, bu genetik yapıların organizasyon ve fonksiyonlarının bilinmesi önemlidir (Köksal F., 2007).

Birçok patojenik faktör plazmidler, bakteriyofajlar, transpozonlar ve integronlar gibi hareketli genlerin üzerinde konjugasyon, transdüksiyon ve transformasyon gibi mekanizmalar ile aktarılmaktadır. DNA dizi analizi çalışmaları ile bilinen bu hareketli gen gruplarına ek olarak ‘’Patojenite Adaları (PA)’’ adı verilen ve bakteri kromozomu üzerinde belirli bölgelerde bir araya gelmiş gen gruplarının varlığı gösterilmiştir. Patojenite Adaları insan, hayvan ve bitki patojeni birçok bakteride gösterilmiş ve virulansa katkıları ispatlanmıştır. Bununla birlikte patojen olmayan bazı suşlarda da PA’nın varlığı gösterilmiş ve virulansa katkısı olmasa da bakteriye çoğalma, fiziksel koşullara adaptasyon ya da bağışıklık sisteminden kaçış gibi özellikler kazandırdığını düşündürmüştür. Bundan dolayı bu tür gen grupları "Ekolojik Adalar" olarak tanımlanmışlardır. Ekolojik adalar bazen PA ile yüksek oranda dizi benzerliği gösterseler de virulans özellikleri kazandırmamaktadırlar. Horizontal transfer ile kazanılan hareketli gen gruplarının hepsinin virulans ile ilgili olmadıklarının gösterilmesi ile birlikte, bu gen grupları genel olarak "Gen Adaları (GA)" olarak adlandırılmışlardır. GA bazı kaynaklarda; simbiyotik adalar, saprofitik adalar, ekolojik adalar, direnç adaları veya patojenite adaları gibi alt gruplara ayrılarak tanımlanmaktadır (Köksal F., 2007). PA’ların bir analoğu olan SCC*mec*, MRSA’lar tarafından taşınmakta ve metisilin direncinden sorumlu *mecA* gen dizisini içermektedir. Ayrıca bu genomik adacıklarda, *mec*A geninden başka, diğer antibiyotiklere dirençten sorumlu genler, insersiyon gen dizileri ve fonksiyonları henüz tanımlanmamış genler yer alır. SCC*mec* bölgesi virulans genlerini, bakteriyofajlarla ilgili genleri ve konjugatif gen dizisini *(tra)* içermez. Metisiline duyarlı *S. aureus* suşları SCC*mec* içermemektedirler. mec geni içermeyen SCC’ler de vardır ve stafilokok türlerinde gen aktarımı için oldukça uygundurlar. mecA içermeyen SCC’ler daha çok mikroorganizmanın stres durumlarında hayatta kalmasına yardımcı olan genleri taşımaktadırlar (Katayama ve ark., 2003).

2.2.1 Metisilin Direnci

Metisilin, beta-laktamaz enziminin hidrolizine direnç gösteren penisilin grubu antibiyotiklerde ilk olarak kullanıma başlanmış olan antibiyotiktir (Jevons MP., 1961). Metisilin direnci, beta-laktam grubu antibiyotiklere karşı gözlemlenen direnç şeklinde tanımlanır. Metisilin direnci, aynı zamanda intrinsik direnç yoluyla yani antibiyotiği içeren

faktörün beta-laktamaz enzimiyle değil, kromozomal şekilde oluştuğu bilinir (Chambers HF., 1997).

S. aureus'ta metisilin direnci, penisilinaz (beta-laktamaz) üretiminden farklı bir mekanizma olan "Penisilin Bağlayan Protein" (PBP)'ler ile sağlanmaktadır. PBP'ler, peptidoglikan öncüllerini oluşacak hücre duvarına ulaştırmak ve sabitlemekle görevlidir. MSSA'larda, beş tane "Penisilin Bağlayan Protein" bulunmaktadır. MRSA'larda ise buna ilaveten PBP2 ya da PBP2a olarak isimlendirilen 78 kDa ağırlıkta olan başka bir PBP sentezlenmektedir (Hackbarth CJ. ve Chambers HF., 1993). PBP2/2a, diğer PBP'lerden ayrı beta-laktam yapısındaki antibiyotiklere karşı düşük affinite göstermektedir. Bu nedenle, beta-laktam grubu antibiyotik var olmasında, yüksek affinite gösteren PBP'lerin fonksiyonunu (Gordon RJ. ve Lowy FD., 2008; Jonge BL. ve Tomasz A., 1993) görerek peptidoglikan sentezini sürdürebilme kapasitesine sahip olan tek transpeptidazdır.

PBP'leri mecA ve mecC şeklinde tanımlanmış genler kodlamaktadır ve bu genler bakteri kromozomunda SCCmec kasetleri üzerinde bulunmaktadır. MRSA'lar bu gene sahipken MSSA'larda bu gen mevcut değildir. SCCmec kasetlerinin büyüklükleri 20 kb'dan 68 kb'a dek çeşitlilik gösteren 11 farklı türü (Tip I-XI) mevcuttur (Appelbaum PC., 2006; Appelbaum PC., 2007; Shore AC. ve ark., 2011).

Koagulaz pozitif stafilokoklarda mecA geninin varlığı ile ortaya çıkan bu direnç, fenotipik laboratuvar testlerinde homojen direnç ve heterojen direnç olarak iki şekilde tanımlanmıştır. Homojen direnç, kolonideki bütün *S. aureus*'larda mecA geminin bulunması ve tamamında da bu genin aktif olması halidir. Oluşan yüksek direncin çevresel etkenlerle ilişkisi yoktur (Peacock S., 2006). mecA geninin tamamında aktif olması durumunda oluşan fenotipik direnç yüksek seviyededir. Homojen dirençte bakterilerin konsantrasyonu yüksek metisilin varlığında üreme yeteneği ile yüksek düzeyde direnç oluştururlar (Chambers HF., 1997, Hartman BJ. ve Tomasz A. 1986). MRSA'larda görülen bu yüksek direnç yakın geçmişe kadar nadiren karşılaşılmasına rağmen günümüzde sıklıkla karşılaşılmaktadır. Heterojen direnç ise, koloniyi oluşturan tüm S. aureus suşlarında mecA geninin bulunmasına rağmen yüksek direncin 106 - 108 bakteriden birinde belirlenebilmesi olarak tarif edilmektedir ve izolasyon çalışmalarında en sık rastlanan direnç türüdür (Henze U. ve ark. 1993; Hiramatsu K. ve ark. 2002). Heterojen direnç gösteren MRSA'larda, stafilokokların çoğu (%99) düşük konsantrasyonlu metisiline (1-5 µg/mL) duyarlı olmasına rağmen, 103 -108 stafilokoktan biri yüksek metisilin konsantrasyonlarına (≥50 µg/mL) dirençlidir (Chambers HF., 1997).

MRSA'larda mecC geninin varlığı ilk olarak 2007 yılında Güneybatı İngiltere'de sığır mastitisinin epidemiyolojik bir çalışması sırasında tank sütü örneklerinden MRSA izolasyonu ile tanımlanmıştır (Álvarez L. ve ark., 2011). LGA251 olarak adlandırılan MRSA suşunun mecA geni ve PBP2/2a için doğrulayıcı testlerde tamamı negatif olarak belirlenmiştir. "Wellcome Trust Sanger Institute", LGA251 suşunun, başlangıçta mecALGA251 olarak adlandırdığı yeni bir mecA geni homoloğu taşıdığını bildirmiştir (Álvarez L. ve ark. 2011). LGA251 suşunun DNA'sı mecA genine %69 ve PBP'lerin amino asit kompozisyonuna %63 oranda benzediği saptanmıştır (Ito T., 2012).

mecA ve mecC genleri tarafından kodlanan proteinlerin davranışlarında önemli farklılıklar mevcuttur. Bu moleküllerin ayrımında yapısal ve evrimsel temeller henüz tam olarak belirlenememiştir ve bu konuda çalışmalar sürmektedir (Tsubakishita S. ve ark. 2010).

2.2.2 Metisilin Direncinden Korunma

İnsanlara hayvansal kökenli antibiyotik direncinin aktarımı; hayvanlar ile direkt temas ve hayvansal ürünlerdeki antibiyotik dirençli bakterilerin uygun işlem görmeden tüketilen gıdalarla insanlara bulaşması, ve bu ürünlerin tüketilmesi sonucu şekillenmektedir (Frieden T., 2013).

Özellikle MRSA ve diğer koagülaz pozitif stafilokoklar ile çapraz kontaminasyonu en aza indirmek için, yönergeler doğrultusunda iyi veteriner klinikleri kurulmalıdır (Duquette ve Nuttall, 2004). El yıkama ve çevre dezanfeksiyonlarını içeren iyi hijyen koşulları korunma hususunda önemlidir (Durand ve ark., 2006; Catry ve ark., 2010). Vücut sıvılarıyla temas edileceği zaman temizliği klinikte tamamlanacak giysi ve eldivenler kullanılmalıdır (Leonard ve Markey, 2008).

Veteriner hekimliğinde antibiyotik direncini engellemek amacıyla öncelikle tedavide doğru antibiyotiğin seçilmesi önemlidir ki bu da doğru laboratuvar uygulamaları ile gerçekleşecektir. Hastalığın doğru tanısının konması, hayvan türüne göre doğru antibiyotiğin seçilmesi, sahada etkinliği kanıtlanmış antibiyotiklerin seçilmesi ve antibiyotik duyarlılık testi sonucunda belirlenmiş antibiyotiğin uygun sürelerde kullanımı önemlidir (FVE, 2015). Gıda değeri taşıyan hayvanlarda ilaç kalıntıları ile ilgili yasal düzenlemeler bulunmaktadır ve veteriner hekimler bu düzenlemeler göre çiftlikleri denetlemelidir, bu şekilde gıdalardaki

kalıntılar ile insanlara geçişler engellenebilecektir. Bu noktada veteriner hekimlerin yanı sıra Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, imalatçı ve ithalatçılar, hayvancılık işletme sahipleri ve çiftçiler gibi birçok meslek grubu sorumluluk sahibidir (GTHB, 2009; Bhavsar SK. ve ark, 2012).

Günümüzde hayvanlarda kolonizasyonu önlemek için kanıtlanmış, tamamen güvenilir bir yöntem yoktur. Ancak bireysel olarak başarılı şekilde kullanılan yöntemler mevcuttur (Catry ve ark., 2010; Loeffler ve ark., 2010).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1 Örnekler

Çalışmada Şubat-Kasım 2018 arasındaki dönem içerisinde İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi kliniklerine getirilen ve İstanbul'da bulunan bazı özel klinik ve barınaklardaki 200 adet köpekten alınan nazal sıvaplar kullanıldı. Örneklerin alındığı hayvanlara ait belirli bilgiler not edilerek numune bilgi formları oluşturuldu (Tablo 3-1).

Tablo 3-1: Örneklerin alındığı yerler ve köpeklere ait bilgiler

Örnek No	Örneğin Alındığı Yer	Yaş	Cinsiyet	Antib. Kullanımı
1	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	2 yaş	♂	E
2	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	9 yaş	♂	H
3	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	1,5 ay	♂	E
4	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	1,5 ay	♀	E
5	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	3 aylık	♂	H
6	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	11 yaş	♂	H
7	Özel Veteriner Kliniği 1	2 yaş	♀	E
8	Özel Veteriner Kliniği 1	5 yaş	♂	H
9	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	10 yaş	♀	E
10	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	9 yaş	♀	H
11	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	11 yaş	♀	H
12	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	11 yaş	♀	H
13	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	9 yaş	♀	E
14	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	12 yaş	♀	H

15	Özel Veteriner Kliniği 1	4 yaş	♀	E
16	Özel Veteriner Kliniği 1	5 yaş	♀	H
17	Özel Veteriner Kliniği 1	3 aylık	♂	H
18	Özel Veteriner Kliniği 1	5 yaş	♂	H
19	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	13 yaş	♂	H
20	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	1 yaş	♀	E
21	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	2 yaş	♂	E
22	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	8 aylık	♀	H
23	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	2 yaş	♂	H
24	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	4 yaş	♀	H
25	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	10 yaş	♀	H
26	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	5 yaş	♀	H
27	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	2 yaş	♂	H
28	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	2 yaş	♀	H
29	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	2 yaş	♂	H
30	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	1 yaş	♂	H
31	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	9 yaş	♂	H
32	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	1,5 aylık	♀	H
33	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	1,5 aylık	♂	H
34	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	3 yaş	♂	H
35	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	10 yaş	♀	H
36	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	7 aylık	♀	H

37	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	8 yaş	♂	H
38	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	1 yaş	♀	E
39	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	3 yaş	♂	H
40	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	4 yaş	♀	H
41	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	2 yaş	♀	H
42	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	3 yaş	♂	H
43	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	1 yaş	♂	H
44	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	8 aylık	♀	H
45	İ. Ü. C. Vet. Fak. Kliniği	10 yaş	♂	H
46	Barınak 1	4 aylık	♀	H
47	Barınak 1	2 aylık	♂	H
48	Barınak 1	2 aylık	♂	H
49	Barınak 1	2 aylık	♂	H
50	Barınak 1	3 yaş	♀	H
51	Barınak 1	4 aylık	♂	H
52	Barınak 1	2 yaş	♀	H
53	Barınak 1	7 aylık	♂	H
54	Barınak 1	5 yaş	♂	H
55	Barınak 1	2 yaş	♀	H
56	Barınak 1	1 yaş	♂	H
57	Barınak 1	2 yaş	♂	H
58	Barınak 1	4 yaş	♀	H
59	Barınak 1	2 yaş	♀	H
60	Barınak 1	3 yaş	♂	H
61	Barınak 1	1 yaş	♂	H
62	Barınak 1	4 yaş	♀	H
63	Barınak 1	1 yaş	♂	H
64	Barınak 1	4 aylık	♀	H
65	Barınak 1	3 yaş	♂	E
66	Barınak 1	3 yaş	♂	H
67	Barınak 1	2 yaş	♀	E
68	Barınak 1	3 yaş	♀	H
69	Barınak 1	6 aylık	♀	H
70	Barınak 1	3 yaş	♂	H
71	Barınak 1	4 yaş	♂	H
72	Barınak 1	5 yaş	♂	H
73	Barınak 1	7 aylık	♀	H

74	Barınak 1	4 yaş	♀	E
75	Barınak 1	4 yaş	♀	H
76	Barınak 1	3 yaş	♂	H
77	Barınak 1	4 yaş	♂	H
78	Barınak 1	10 aylık	♀	H
79	Barınak 1	3 yaş	♀	H
80	Barınak 1	3 yaş	♂	E
81	Barınak 1	3 aylık	♀	H
82	Barınak 1	3 aylık	♂	H
83	Barınak 1	5 aylık	♀	H
84	Barınak 1	7 aylık	♂	H
85	Barınak 1	4 yaş	♂	H
86	Barınak 1	1 yaş	♀	H
87	Barınak 1	1 yaş	♀	H
88	Barınak 1	3 yaş	♂	E
89	Barınak 1	3 yaş	♂	H
90	Barınak 1	4 aylık	♀	E
91	Barınak 1	4 aylık	♂	H
92	Barınak 1	4 aylık	♀	H
93	Barınak 1	3 yaş	♂	H
94	Barınak 2	1.5 yaş	♂	H
95	Barınak 2	2 yaş	♂	H
96	Barınak 2	1 yaş	♀	H
97	Özel Veteriner Kliniği 2	4 aylık	♂	E
98	Özel Veteriner Kliniği 2	5 yaş	♂	E
99	Özel Veteriner Kliniği 2	1,5 yaş	♀	H
100	Özel Veteriner Kliniği 2	11 aylık	♂	H
101	Özel Veteriner Kliniği 2	3 yaş	♂	H
102	Özel Veteriner Kliniği 2	1,5 yaş	♀	E
103	Özel Veteriner Kliniği 2	1 yaş	♂	H
104	Özel Veteriner Kliniği 2	1,5 yaş	♀	H
105	Özel Veteriner Kliniği 2	4,5 aylık	♂	E
106	Özel Veteriner Kliniği 2	3 yaş	♀	H
107	Özel Veteriner Kliniği 2	5 yaş	♀	H
108	Özel Veteriner Kliniği 2	8 yaş	♂	H

109	Özel Veteriner Kliniği 2	2 yaş	♀	H
110	Özel Veteriner Kliniği 2	4 yaş	♀	H
111	Özel Veteriner Kliniği 2	3 yaş	♂	H
112	Özel Veteriner Kliniği 2	9 yaş	♂	H
113	Özel Veteriner Kliniği 2	1 yaş	♀	H
114	Özel Veteriner Kliniği 3	7 yaş	♂	E
115	Özel Veteriner Kliniği 3	8 yaş	♀	H
116	Özel Veteriner Kliniği 3	11 aylık	♀	H
117	Özel Veteriner Kliniği 3	3 yaş	♀	E
118	Özel Veteriner Kliniği 3	3 yaş	♀	H
119	Özel Veteriner Kliniği 3	1 yaş	♀	E
120	Özel Veteriner Kliniği 3	11 yaş	♀	H
121	Özel Veteriner Kliniği 3	4 yaş	♂	H
122	Özel Veteriner Kliniği 3	1 yaş	♂	H
123	Özel Veteriner Kliniği 3	1 yaş	♂	H
124	Özel Veteriner Kliniği 3	1 yaş	♀	H
125	Özel Veteriner Kliniği 3	2 yaş	♀	H
126	Özel Veteriner Kliniği 3	8 aylık	♂	H
127	Özel Veteriner Kliniği 3	2 yaş	♂	E
128	Özel Veteriner Kliniği 3	3 yaş	♀	H
129	Özel Veteriner Kliniği 3	4 yaş	♂	H
130	Özel Veteriner Kliniği 3	2 yaş	♂	E
131	Özel Veteriner Kliniği 3	5 yaş	♀	H
132	Özel Veteriner Kliniği 3	10 yaş	♀	H

133	Özel Veteriner Kliniği 3	3 yaş	♂	H
134	Özel Veteriner Kliniği 3	5 yaş	♀	E
135	Özel Veteriner Kliniği 3	8 yaş	♂	H
136	Özel Veteriner Kliniği 3	3 yaş	♂	H
137	Özel Veteriner Kliniği 3	4 yaş	♀	H
138	Özel Veteriner Kliniği 3	1 yaş	♂	H
139	Özel Veteriner Kliniği 3	2 yaş	♂	H
140	Barınak 3	3 aylık	♂	H
141	Barınak 3	4 aylık	♂	H
142	Barınak 3	3 aylık	♀	H
143	Barınak 3	3 aylık	♀	H
144	Barınak 3	2 aylık	♂	H
145	Barınak 3	3 aylık	♀	H
146	Barınak 3	3 aylık	♂	H
147	Barınak 3	3 aylık	♀	E
148	Barınak 3	3 aylık	♀	H
149	Barınak 3	3 aylık	♂	E
150	Barınak 3	3 aylık	♀	H
151	Barınak 3	3 aylık	♂	H
152	Barınak 3	3 aylık	♀	E
153	Barınak 3	3 aylık	♂	E
154	Barınak 3	3 aylık	♀	H
155	Barınak 3	3 aylık	♂	H
156	Barınak 3	3 aylık	♀	H
157	Barınak 3	3 aylık	♂	H
158	Barınak 3	3 aylık	♀	H
159	Barınak 3	3 aylık	♂	H
160	Barınak 3	3 aylık	♀	H
161	Barınak 3	3 aylık	♀	H
162	Barınak 3	3 aylık	♀	H
163	Barınak 3	2 aylık	♀	H
164	Barınak 3	2 aylık	♂	H
165	Barınak 3	2 yaş	♂	E
166	Barınak 3	1 aylık	♀	H
167	Barınak 3	1 aylık	♂	H
168	Barınak 3	1 aylık	♂	H
169	Barınak 3	4 aylık	♀	H
170	Barınak 3	8 aylık	♂	H
171	Barınak 3	4 yaş	♀	H

172	Barınak 3	5 yaş	♂	H
173	Barınak 3	8 aylık	♂	E
174	Barınak 3	8 yaş	♂	H
175	Barınak 3	6 yaş	♀	H
176	Barınak 3	4 yaş	♂	H
177	Barınak 3	4 yaş	♀	H
178	Barınak 3	6 yaş	♂	H
179	Barınak 3	5 yaş	♂	H
180	Barınak 3	8 yaş	♀	H
181	Barınak 3	4 yaş	♂	E
182	Barınak 3	4 yaş	♀	H
183	Barınak 3	6 yaş	♀	E
184	Barınak 3	6 yaş	♀	H
185	Barınak 3	8 yaş	♂	H
186	Barınak 3	8 yaş	♂	H
187	Barınak 3	5 yaş	♂	H
188	Barınak 3	5 yaş	♀	E
189	Barınak 3	7 yaş	♀	H
190	Barınak 3	8 yaş	♀	H
191	Barınak 3	10 yaş	♂	H
192	Barınak 3	10 yaş	♂	E
193	Barınak 3	10 yaş	♀	H
194	Barınak 3	5 yaş	♂	E
195	Barınak 3	5 yaş	♂	H
196	Barınak 3	8 yaş	♀	E
197	Barınak 3	5 yaş	♀	H
198	Barınak 3	10 yaş	♂	H
199	Barınak 3	8 yaş	♀	H
200	Barınak 3	6 yaş	♀	H

♀: Dişi ♂: Erkek E: Evet H: Hayır

3.1.2 Besiyerleri

3.1.2.1 Mueller Hinton Broth (MHB)

MUELLER-HINTON Broth (Merck, 1.05437.0500) 34 g

Distile Su 1000 ml

Karışım oranlar dahilinde hazırlandıktan sonra 4’er ml besiyerlerine dağıtıldı ve 121°C’de 15 dakika süreyle sterilize edildi. Kullanılıncaya dek 4°C’de muhafaza edildi.

3.1.2.2. Oxacillin Resistant Screening Agar Base (ORSAB)

Oxacillin Resistant Screening Agar Base (Oxoid, CM1008)	51.75 g
Distile Su	500 ml

Sterilizasyon işlemi 15 dakika süreyle 121°C'de gerçekleştirildi. Yaklaşık 50°'ye soğutuldu ve petri kutularına döküldü. 4°C'de muhafaza edildi.

3.1.2.3. %5 Koyun Kanı İçeren Kanlı Agar

Pepton	23 g
Nişasta	1 g
Sodyum klorür	5 g
Agar	10 g
Distile su	1000 ml

Hazır dehidrate besiyerinden 39 g balon içerisinde bir litre distile suda eritilmiş, pH 7,3'e ayarlanmış 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir. Besiyeri soğutularak içerisine 50 ml defibrine steril koyun kanı eklenmiş, karıştırılarak uygun sıcaklıkta ve aseptik şartlarda petri kutularında soğumaya bırakılmıştır.

3.1.2.4. Mueller Hinton Agar (MHA)

Mueller Hinton Agar (Oxoid 1.05404)	38 g
Distile Su	1000 ml

pH'ı 7.2–7.4'e ayarlı karışım, 15 dakika otoklav edildikten sonra, petrilere dökülerek soğumaya bırakıldı.

3.1.2.5. Biyokimyasal Testler, Ayraçlar, İdentifikasyon Kitleri ve Antibiyotik Diskleri

- Gram Boyama Seti (GBL 5026/01,02,03,04)
- Katalaz Testi, Hidrojen peroksit (H_2O_2, Sigma, H3410)
- Koagülaz Testi, Liyofilize Tavşan Plazması (Bactident®)
- Sefoksitin (30µg) (Oxoid, İngiltere)
- Oksasilin (1µg) (Oxoid, İngiltere)

- Gram pozitif ticari identifikasyon kiti (BD Diagnostic Instrument Systems, Becton, Dickinson and Company, USA)

3.1.3. Standart Suşlar

Metisilin direncinin fenotipik belirlenmesinde *S. aureus* K-12 suşu, genotipik belirlenmesinde ATCC 53678 referans suşlar kullanıldı.

3.1.4. Polymerase Chain Reaction (PCR)

3.1.4.1. Ekstraksiyon

İzolatların genomik DNA ekstraksiyonunda BIO-RAD InstaGene Matrix DNA Isolation Kit (K732-6030), kullanıldı.

3.1.4.2. Amplifikasyon

S. intermedius ve *S. pseudintermedius* M-PCR için Taq DNA polimeraz (Thermo Scientific, EP0402) core kit kullanıldı.

- 100mM Tris-HCl
- 10mM dNTP Mix (Thermo Scientific, R0192)
- 10X PCR Buffer
- 25mM $MgCl_2$
- 500 U Taq DNA polimeraz (5U/µl)
- 500mM KCl
- DNase ve RNase'dan arınmış sterilize distile su (Thermo Scientific, 10977035)
- Isıtıcı blok (56 °C) (Labnet)
- Primerler
- Su banyosu (70 °C) (Biosan)

- Vorteks (Biosan)

mecA ve mecC genlerinin amplifikasyonu için QIAGEN® Multiplex PCR ticari kiti kullanıldı (206143).

Kit içeriği aşağıdaki gibidir:

- QIAGEN® Multiplex PCR Master Mix*
- Q - solution
- Distile su (DNAz ve RNAz'dan arındırılmış)

*15 mM $MgCl_2$ içerir ve reaksiyon konsantrasyonu 1,5 mM olacak şekilde ayarlanmıştır.

3.1.4.3. Elektroforez

Agaroz jel elektroforezi için kullanılan gereçler:

- 6X yükleme boyası (R0611, Thermo Scientific)
- Agaroz (A9539, Sigma)
- Agaroz jel elektroforez sistemi (Agagel Mini-Wide)
- Etidyum Bromür (E1510, Sigma)
- Güç kaynağı (Biometra-Power pack P25)
- Mikrodalga ısıtıcı (Vestel)
- O'GeneRuler 100 bp marker (SM1153, Thermo Scientific)
- TAE tamponu (AM9869, Thermo Scientific)
- UV Jel görüntüleme sistemi (Infinity, Vilber Lourmat)

3.1.5. Diğer Gereçler

- 10 µl Pipet uçları (Axygen, steril, filtreli, DNaz ve RNaz' dan arındırılmış)
- 100 µl Pipet uçları (Axygen, steril, filtreli, DNaz ve RNaz' dan arındırılmış)

- 1000 µl Pipet uçları (Axygen, steril, filtreli, DNaz ve RNaz' dan arındırılmış)
- 96 kuyucuklu plakalar (Sigma)
- Digital Dry Bath (Labnet)
- Etüv (Aerob, Nüve)
- Güç kaynağı (Biometra-Power pack P25)
- Hassas terazi (BEL)
- Mikrodalga ısıtıcı (Vestel)
- Mikrosantrifüj (Hetttich)
- Mikrosantrifüj tüpleri (1,5 ml kapaklı, Nest)
- Otoklav (Atık ve kirli malzeme için, ALP)
- Otoklav (Temiz malzeme için, Nüve)
- Otomatik pipetler (0.5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl, Thermo Scientific)
- Öze (Halka uçlu ve iğne uçlu)
- Öze (halka ve iğne uçlu)
- PCR tüpleri (0,2 ml'lik ince çeperli RNaz ve DNaz'dan arındırılmış, Axygen)
- PCR tüpleri (0,5 ml'lik ince çeperli RNaz ve DNaz'dan arındırılmış, Axygen)
- Petri kutuları (Lamtek, steril, 9cm)
- Steril kabin (Heal Force)
- Thermal cycler (Axygen Maxygen)
- UV Transilluminator, Jel imaj sistemi (Infinity, Vilber Lourmat)

3.2 Yöntem

3.2.1. Örneklerin Toplanması

Çalışmamızda 200 köpekten alınan 200 burun sıvabı stafilokok izolasyonu yapılmak için belirli aralıklarla Şubat 2018 – Kasım 2018 tarihleri arasında toplandı. CaryBlair sıvaplar ile direkt nazal bölgeden, her iki burun deliğinden 1-2 cm içeri sokularak ve 5-10 saniye içerde bekletilerek ; 4-5 kez çevrilerek örnekler alındı. Örnekler toplandıktan sonra soğuk zincir altında İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına ulaştırıldı.

3.2.2. İzolasyon ve İdentifikasyon

Laboratuvara ulaştırılan örnekler 6.5% NaCl içeren Mueller Hinton Broth (Oxoid Ltd, Basingstoke, UK) besiyerine ekilerek 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda sıvı besiyerinden ORSAB (Oxoid) Agar besiyerine ekildi ve 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Mavi renkli stafilokok şüpheli kolonilerden öncelikle Gram boyası yapıldı. Gram pozitif kok olarak tespit edilen izolatlar lama yayılarak üzerlerine %3'luk H_2O_2 damlatıldı. Gaz kabarcığı oluşturan, katalaz pozitif bakteriler stafilokok olarak kabul edildi (Katakweba ve ark., 2016). Son olarak identifikasyon öncesi Kanlı Agar besiyerinde 24 saat 37°C'de inkübe edilerek saflaştırılan izolatların kesin identifikasyonu ise otomatik sistem (Phoenix 100, BD Diagnostic Systems, ABD) kullanılarak yapıldı. (Şekil 3-1a) BD Phoenix otomatize sistemle değerlendirme Phoenix sistemle değerlendirme, üretici firmanın (Becton Dickinson and Company, Sparks, Maryland, ABD) talimatları doğrultusunda yapıldı (Şekil 3-1b). Otomatize sistemde KPS olarak belirlenen türlerin konfirmasyonu için lam ve tüpte koagülaz testleri uygunlandı.

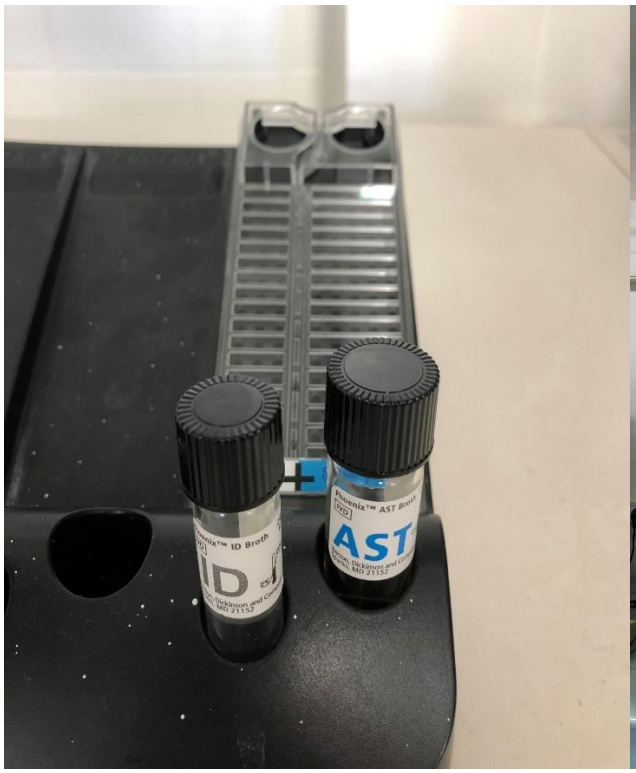
• Her bir örnek için Phoenix ID Broth tüpü etiketlendi.
• Kanlı agar besiyerinde 18-24 inkübe edilen saf kültürlerden koloniler, aseptik olarak steril öze ile alınarak Phoenix ID Broth içerisine aktarıldı.
• Tüp kapatılarak 5 saniye vortekslendi.
• Hava kabarcıklarının yüzeye çıkması için 10 saniye beklendi.
• Tüp, 0,5 McFarland bulanıklığa ayarlandı. Bakteri süspansiyonunun yoğunluğu düşükse izole edilen kolonilerden eklendi ve tekrar bulanıklık ölçüldü. ID Broth içerisinde standart hale getirilmiş bakteri süspansiyonu, hazırlandıktan sonra 15 dakika içerisinde kullanıldı.
• Phoenix AST Broth tüpü etiketlenip içerisine 1 damla AST indikatör solüsyonu eklendi ve alt-üst edilerek karıştırıldı. AST indikator solüsyonu ışıktan etkilendiğinden, solüsyona indikatör eklenmesinden sonraki kısa sürede kullanıldı.
• 25 µl standardize bakteri süspansiyonu ID tüpünden AST Broth'una aktarıldı.
• AST tüpü kapağı kapatılıp birkaç kez çevrilerek karıştırıldı. Hava kabarcıklarının yüzeye çıkması için birkaç saniye beklendi.

• ID Broth tüpünün tamamı panelin ID tarafındaki, AST Broth tüpü ise AST Broth tarafındaki doldurma yuvasına boşaltıldı ve panel kapağı sıkıca kapatıldı.

• Gram pozitif identifikasyon panelleri inokülasyondan sonra hemen cihaza yerleştirildi.

• Programın sonlanmasından sonra örneklere ait raporlar alındı.

İzolatlar sonraki aşamalarda kullanılmak üzere %50'lik gliserol içeren -20°C'de, TSB besiyeri içerisinde saklandı (Quinn ve ark., 1994).





Şekil 3-1a: İzolatların BD Phoenix süspansiyonu hazırlanışı

Şekil 3-1b: İzolatların identifiye edildiği BD Phoenix 100 cihazı

3.2.3. Metisilin Direncinin Fenotipik Yöntemle Belirlenmesi

KPS'larda metisilin direncinin incelenmesi için oksasilin ve sefoksitin duyarlılıkları DDT (Kirby-Bauer yöntemi) ile incelendi. 24 saatlik bakteri kültüründen %0.9' luk NaCl içinde 0.5 McFarland (1×10^8 CFU/ml) bulanıklığında (Şekil 3-1), süspansiyon hazırlandı ve Mueller-Hinton Agar besiyerine yayıldı (CLSI, 2015). Besiyeri yüzeyi kuruduktan sonra oksasilin (1µg) ve sefoksitin (30 µg) (Oxoid) diskleri yerleştirildi, 35ºC'de 24 saatlik inkübasyondan sonra

disklerin zon çapları ölçüldü ve yorumlandı. Disk difüzyon testlerinin değerlendirilmesinde oksasilin için dirençli ve duyarlı zon çapları sırasıyla ≤10 mm ve ≥13 mm olarak kabul edilirken sefoksitin için ise inhibisyon zon çapları ≤21 mm ve ≥22 mm olarak kabul edildi.



Şekil 3-2: 0,5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanışı

3.2.4. Spesifik PCR Analizi

3.2.4.1. Genomik DNA Ekstraksiyonu

BIO-RAD InstaGene Matrix DNA Isolation (K732-6030) kiti kullanılarak izolatların genomik DNA ekstraksiyonu yapıldı. Protokole göre;

- Önceki geceden MSA besiyeri içerisinde inkübe edilen kültürlerden izole edilen bakteri kolonisi 1 Ml distile su içerisinde süspanse edildi.
- 1 dakika boyunca 1200 rpm'de santrifüj edilir ve süpernatant atıldı.
- Pellet üzerine manyetik karıştırıcıda karıştırılan InstaGene Matrix kitinden 200 µl eklendi.
- 56^0C de 20 dakika süreyle inkübasyona bırakıldı.
- Süre sonunda süspansiyon yüksek hızda 10 saniye vortekslendi.
- Ependorf 100^0C de 8 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Yüksek hızda 10 saniye vortekslendi.
- 1200 rpm'de 3 dk santrifüj edildi.
- PCR reaksiyonu için süpernatant kullanıldı.

DNA'lar kullanılıncaya kadar -20^0C'de saklandı.

3.2.4.2. Amplifikasyonlar

-20°C'de saklanmış olan koagülaz pozitif stafilokoklar *S. intermedius* ve *S. pseudintermedius* açısından değerlendirilmek amacıyla multiple PCR yöntemi ile identifiye edildi (Sasaki ve ark., 2010).

S. intermedius ve *S. psuedintermedius* gen bölgelerine yönelik yapılan amplifikasyonlar için standart ve ortak bir PCR Mix hazırlandı. Buna göre 5µl template DNA, 1,5mM MgCl2, 1X PCR buffer, 0,2mM dNTP mix, 0,5 U taq polimeraz 0,4µM forward primer, 0,4µM reverse primer eklenerek total hacim 50µl olacak şekilde DNase ve RNase'dan ari sterile distile su eklendi.

Sasaki ve arkadaşlarının (2010) belirlediği PCR protokolüne göre ön denatürasyon 95°C'de 2 dk yapıldı. Başlangıç denatürasyonunu takiben 30 siklus 90°C'de 30 sn denatürasyon, 56°C'de 30 sn primerlerin bağlanması, 72°C'de 1 dk sentez olarak optimizasyon gerçekleştirildi. Son sentez adımı 72°C'de 2 dk olarak çalışıldı.

Tablo 3-2 : Kullanılan primerlerin dizilimleri ve amplikon büyüklükleri

Hedef Gen	Dizi	Primer	Amp (bp)	Kaynak
S. intermedius	CATGTCATATTATTGCGAATGA AGGACCATCACCATTGACATATTGAAACC	in-F in-R3	430	Sasaki ve ark., 2010
S. pseudintermedius	TRGGCAGTAGGATTCGTTAA CTTTTGTGCTYCMTTTTGG	pse-F2 pse-R5	926	Sasaki ve ark., 2010

Elde edilmiş genomik DNA'larda ayrıca mecA ve mecC gen varlığının sorgulanması için amplifikasyon yapıldı. İzolatlarda mecA gen amplifikasyonu Stegger ve ark. (2012)'nın belirttikleri metoda göre PCR ile gen üzerindeki 162 bp fragmenti kodlayan primerler kullanılarak, mecC gen varlığı ise 138 bp fragmenti kodlayan primerler ile gerçekleştirildi. Çalışmada kullanılan hedef gen bölgelerine ait amplikon büyüklükleri ile primerler Tablo 3-3'de verilmiştir.

Tablo 3-3: mecA/mecC genleri primerlerinin dizilimleri ve amplikon büyüklükleri

Hedef Gen	Dizi	Amp(bp)	Kaynak
mecA	5'-TCCAGATTACAACTTCACCAGG-3' 5'-CCACTTCATATCTTGTAACG-3'	162	Stegger ve ark., 2012

mecC	5’-GAAAAAAAGGCTTAGAACGCCTC-3’ 5’-GAAGATCTTTTCCGTTTTCAGC-3’	138	Stegger ve ark., 2012

Primerlerden stok solüsyonlar 100 µM konsantrasyonlu TE Buffer ile oluşturuldu. Primer çalışma solüsyonları 10 µM’lık son konsantrasyonlu olacak şekilde TE Buffer ile sulandırıldı, bu şekilde hazırlanan stoklar PCR karışımında kullanıldı.

Stegger ve arkadaşlarının (2012) optimize ettiği PCR protokolü uygulandı. Jelde yürütme işlemine dek +4°C de saklandı.

3.2.4.3. Agaroz Jel Elektroforezi

Agaroz jel elektroforez yöntemi ile elde edilen PCR ürünleri görüntülendi. Elektroforez jelinin hazırlanması: hassas terazide ölçülen 1 gr agaroz, 500 ml’lik bir şise içinde 100 ml ölçülen TAE solüsyonu ile karıştırıldı. Mikrodalga fırında 4 dakika kaynatılan karışımoda sıcaklığına gelene dek soğutuldu. 8 µl ethidium bromid eklenen sıvı karısım, jel kalıbının içerisine dökülmüş ve içerisine yükleme kuyucuklarını olusturacak olan taraklar yerleştirilmiş, 15–20 dk. oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı.

Agaroz jeldeki ilk kuyucuğa DNA marker (1 µl 6X yükleme solüsyonu ve 5 µl DNA marker), ikinci kuyucuktan itibaren örneklerin amplikonları (2 µl 6X yükleme solüsyonu + 10 µl amplikon), negatif ve pozitif kontrol yüklendi. Görüntüleme aşaması stafilokok amplikonları için 100 dakika boyunca 90 Voltta devam ettirildi. Bu basamaklar sonucunda jel görüntüleme sistemi UV ışığı altında gerçekleştirildi (Sambrook ve Green, 2012).

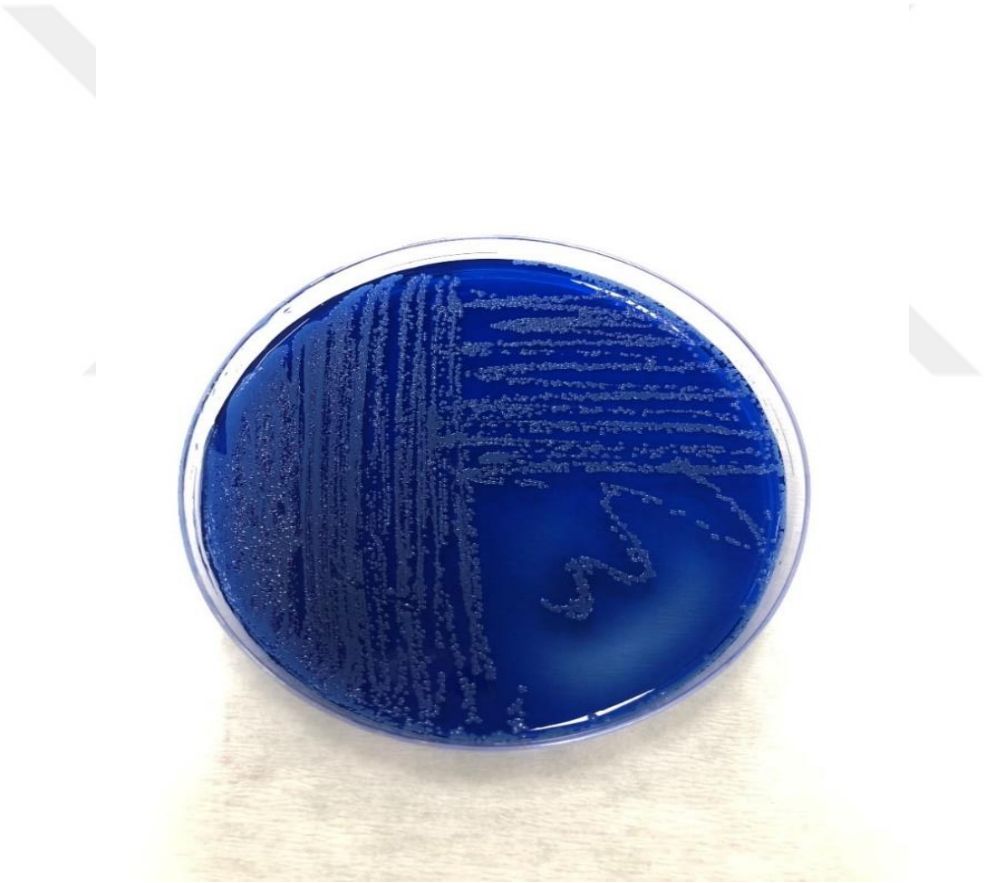
3.2.5. İstatiksel Analiz

İzolatların tür dağılımı ile genotipik olarak saptanan direnç oranlarının izolasyon gerçekleştirilen hayvanlara ait yaş gruplarına, cinsiyetlerine, son 1 yıl içerisinde antibiyotik kullanım durumlarına ve alındığı kaynağa (barınak/klinik) göre karşılaştırılması amacıyla Statistical Package for Social Science (SPSS) 13.0 paket programı kullanılarak Khi-Kare (x2) Testi uygulandı. “p” değeri 0,05’ten büyük olanların istatiksel açıdan anlam taşımadığı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları

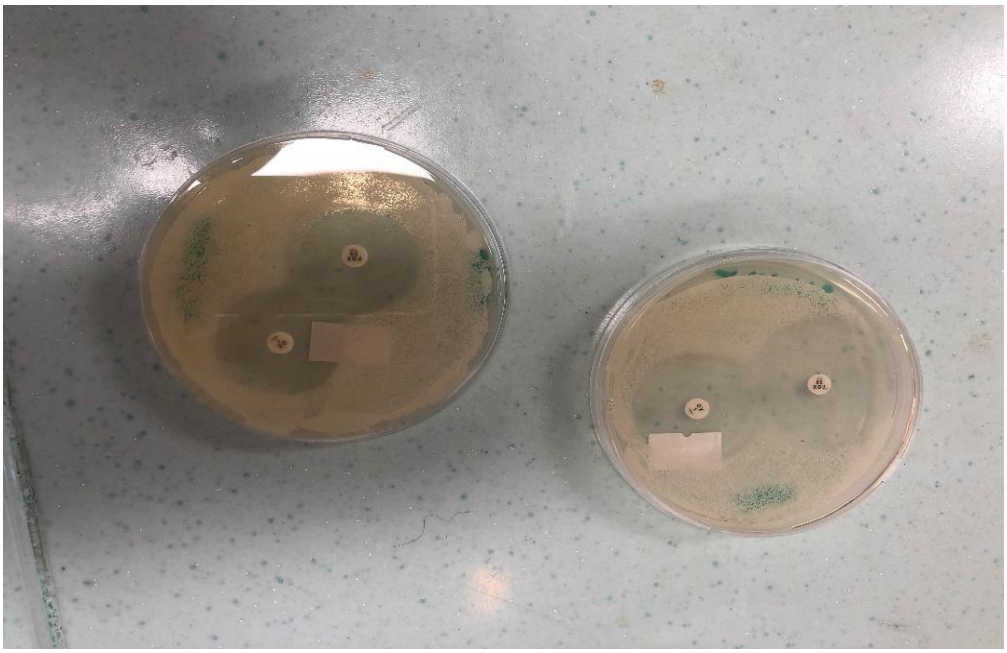
İncelen 200 adet nazal sıvap örneğinin 21'inden (%10,5) koagülaz pozitif stafilokoklar izole edildi. Örneklerin 14'ü (%66,6) *S. intermedius* grup (SIG), 7 tanesi (%33,3) *S. aureus* olarak tanımlandı. Saptanan, 14 *S. intermedius* grup (SIG) üyesinin tamamı, spesifik primerler ile gerçekleştirilen PCR sonucunda, *S. pseudintermedius* olarak identifiye edildi (Şekil 4-1).



Şekil 4-1: ORSAB agarda *S. intermedius* grup (SIG) kültür görüntüsü

4.2. Fenotipik Metisilin Direnci Bulguları

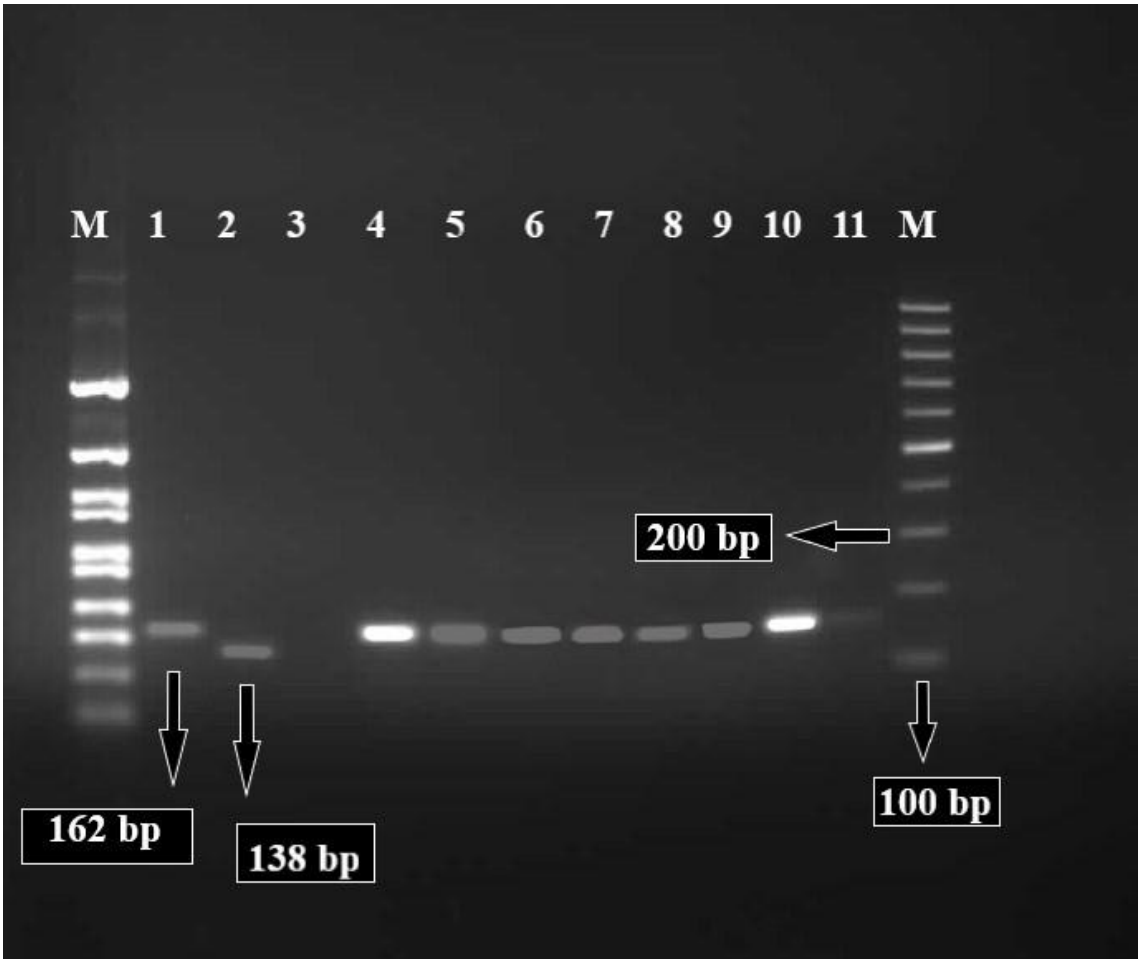
Toplam 21 izolatın 16'sında (% 76,1) fenotipik olarak metisilin direnci gözlendi. İncelenen 14 *S. pseudintermedius*'un 11'inde (%78,5), 7 *S. aureus*'un 5'ünde (%71,4) metisilin direnci saptandı (Şekil 4-2).



Şekil 4-2: DDT tekniği sonucu metisilin duyarlı *S. pseudintermedius* izolatı

4.3. Genotipik Metisilin Direnci Bulguları

PCR amplifikasyonu sonucunda 21 KPS örneğinin 8'inde (38,09) mecA geni saptandı. Hiçbirinde mecC geni tespit edilemedi. mecA pozitif PCR bulguları Şekil 4.3'de gösterilmiştir.



Şekil 4-3: mecA *ve* mecC genleri için m-PCR sonuçları

M: Marker **1:** mecA pozitif kontrol **2:** mecC pozitif kontrol **3:** Negatif kontrol

4-11: Çalışılan izolatlar

İzolatların identifiye edilen tür dağılımına göre direnç profilleri Tablo 4-1'de verilmiştir.

Tablo 4-1 : İzolatların türlere göre fenotipik ve genotipik direnç durumları

Tür	Fenotipik Dirençli Örnek (n)	Genotipik Dirençli Örnek (n)
S. aureus (n=7)	5	1
S. pseudintermedius (n=14)	11	7

Genotipik olarak dirençli tek *S. aureus* örneğinde fenotipik olarak metisilin direnci de göstermektedir. Genotipik olarak dirençli 7 *S. pseudintermedius* izolatın tamamı aynı zamanda fenotipik olarak da metisiline dirençli saptandı. Bir diğer deyişle 4 adet fenotipik dirençli *S. aureus*'ta ve 4 adet fenotipik dirençli *S. pseudintermedius*'ta genotipik direnç saptanmadı.

4.4. İstatistik Bulguları

Yapılan istatiksel analiz sonucu izolatların tür dağılımının ve genotipik direnç oranları arasındaki farkların, nazal sıvap örneği alınan hayvanların cinsiyetine, yaş gruplarına ve antibiyotik kullanım durumlarına göre anlam taşımadığı tespit edildi ($p>0,05$). Bakılan bir diğer olgu ise KPS ve mecA pozitif izolatların alındığı kaynaklara göre değerlendirilmesidir. KPS ve mecA pozitif izolatların barınaklardan ya da kliniklerden elde edilme oranlanları çalışmamız açısından bir önem taşımamaktadır ($p>0,05$).

5. TARTIŞMA

Köpeklerde stafilokokal infeksiyonların teşhisi ve tedavisi, stafilokokların çeşitli antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesinin yanında infekte yada taşıyıcı köpeklerden insanlara aktarılarak zoonotik infeksiyonlara sebebiyet verdiklerinin ortaya çıkmasıyla oldukça önemli hale gelmiştir (Guardabassi ve ark., 2004; Manian, 2003; Tanner ve ark., 2000). *S. aureus* köpek deri florasında bulunan ve irinli infeksiyonlara sebep olabilen bir KPS türü olarak karşımıza çıkmaktadır (Kloos, 1980). *S. intermedius* da köpek deri infeksiyonlarından ve sağlıklı olan köpek derisinden en sık elde edilen tür olarak bildirilmiştir (Biberstein ve ark., 1984; Ihrke, 1987). Etken ayrıca dış kulak yolunda, anal mukozada veya nazal boşluktan izole edilmektedir (Sasaki ve ark., 2005). *S. pseudintermedius* ise ilk olarak, *S. intermedius*'tan farklı bir koagülaz pozitif stafilokok türü olarak tanımlanmıştır. Ancak son yıllarda gen teknolojisi kullanılarak yapılan çalışmalar *S. intermedius* olarak identifiye edilen izolatların aslında *S. intermedius, S. pseudintermedius* ve *S. delphini* olmak üzere üç farklı türden oluştuğunu göstermiştir ve *S. intermedius* grup (SIG) olarak bildirilmiştir. Bu durumda infeksiyonlardaki yaygın patojenin *S. intermedius* değil *S. pseudintermedius* olduğu gerçeği ortaya çıkmıştır. 2005 yılında Sasaki ve ark. *S. intermedius*'u biyokimyasal yöntemlerle diğer SIG üyelerinden ayırabilmiş fakat *S. pseudintermedius* ve *S. delphini* ayrımını yapmak için gereken fenotipik belirleyicileri tanımlayamamışlardır (Sasaki ve ark., 2005).

mecA ve mecC geni tarafından kodlanan metisiline dirençli suşlar, betalaktam antibiyotiklere düşük afinite gösteren bir PBP olan PBP2a üretmeleri nedeniyle metisiline ve diğer beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç geliştirmiştir. Günümüzde MRS dünya çapında yaygın olarak gözlenmekte olup, prevalansı ülkeler göre değişiklik göstermektedir (Chambers HF., 1997, Stegger ve ark., 2011).

Pet hayvanlarında *S. aureus, S. pseudintermedius ve S. intermedius* gibi patojen türler burun, deri ve anal bölgelerden izole edilmektedir ve etkenlerin özellikle burun ve ağızdan deri ya da diğer bölgelere geçtiği düşünülmektedir (Boost ve ark., 2008; Wertheim ve ark., 2005).

Nagase ve ark. (2002), sağlıklı hayvanların derilerinde stafilokok türlerinin varlığını araştırmışlar ve 25 adet sağlıklı ev köpeğinin 10'unda sırt derisinden KPS izole etmişlerdir.

2006 yılında M. Daaloul-Jedıdı ve A. Soudanı, L. Messadı yaptıkları çalışmada köpeklerden alınan nazal sürüntü örneklerinin %22,2'sinin KPS olduğunu bildirmişlerdir.

2013 yılında Petrov ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada otitis eksternalı 193 köpekten %45,2 oranında koagulaz pozitif stafilokok izole ettiklerini rapor etmişlerdir.

2014 yılında Hariharan ve çalışma arkadaşları yaptıkları çalışmada, köpeklerden 116 izolat elde etmişler ve çalışmalarına göre en fazla izole edilen Gram pozitif bakterinin koagülaz pozitif stafilokoklar olduğunu bildirmişlerdir.

Bu tez çalışmasında, 200 adet köpekten toplanan burun sürüntüsü örneklerinin 31 tanesinde (%17,5) *Staphylococcus* sp. izole edilmiştir. Bunların 21 tanesi (%10,5) KPS olarak izole edilmiştir. Elde edilen bu sonuçların daha önce yapılan çalışmalardaki bulguları destekler nitelikte olduğu görülmüş ve nazal bölgenin, Devriese ve De Pelsmaecker (1987)'in de bildirdiği gibi KPS için rezervuar olduğu fikrini desteklemektedir.

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

Hoekstra ve Paulton (2002), farklı yaş ve cinsiyetteki 2206 köpeğin farklı bölgelerinden (burun, göz, kulak, genital bölge, abse, deri ve boğaz) elde ettikleri 867 *S. aureus* ve 1339 adet *S. intermedius* izolatının lokalizasyon, yaş, cinsiyetle ilişkisi ve antibiyotik duyarlılıklarını araştırdıkları bir çalışmada deri lezyonlu köpeklere ait 325 burun izolatından 153'ünün (%47,07) *S. aureus*, 172'sinin (%52,92) *S. intermedius* olduğunu ortaya koymuşlardır.

Epstein ve ark. 2009 yılında, 36 köpek nazal svabının 6 tanesinde metisilin dirençli *S. intermedius* izole etmişlerdir.

2014 yılında Hariharan ve çalışma arkadaşları yaptıkları çalışmada, 66 köpekten 116 izolat elde etmişler ve çalışmalarına göre en fazla izole edilen Gram pozitif bakteri Stafilokoklar olduğunu bildirmişlerdir. API yöntemini kullanarak saptadıkları 29 adet *S. intermedius* izolatlarını Multipleks PCR ile yöntemi ile tekrar tekrarladıklarında 27 tanesini *S. pseudintermedius*, 1 tanesini *S. aureus* ve 1 tanesini de *S. schleiferi subsp. coagulans* olarak tanımlamışlardır. Öncesinde fenotipik olarak *S. intermedius* olarak bulunan suşa M-PCR gen dizilimi metodu uygulanmış ve aslında *S. pseudintermedius* olduğunu gözlemlemişlerdir. Benzer olarak çalışmamızda da BD Phoenix otomatize sistemi ile *S. intermedius* grup (SIG) olarak tanımlanan 14 izolatın tümü Multiplex PCR yöntemi ile tekrarlandığında *S. pseudintermedius* olarak tanımlanmıştır. Kawakami ve ark., köpeklerde infeksiyona neden olan en önemli patojenin *S. pseudintermedius* olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında da benzer olarak izolatların 14 tanesi (%66,6) *S. intermedius* grup (SIG), 7 tanesi (%33,3) *S. aureus* olarak tanımlanmıştır. Çalışmamızda da aynı şekilde saptanan, 14 *S. intermedius* grup (SIG) üyesinin tamamı, spesifik primerler ile

gerçekleştirilen PCR sonucunda, *S. pseudintermedius* olarak identifiye edildi. Bu çalışmada da *S. pseudintermedius*'un *S. aureus* ve *S. intermedius*'a göre köpeklerin nazal florasında daha baskın olduğu ve geçmişte *S. intermedius* olarak izole edilen örneklerin aslında *S. pseudintermedius* olabileceği kanaatine varılmıştır.

Ülkemizde metisilin dirençli stafilokoklar üzerine yapılan çalışmalar özellikle çiftlik hayvanları üzerine yoğunlaşmış olsa da her geçen yıl yapılan çalışmaların sayısı artmakta ve izolasyon oranlarında artışlar dikkat çekmektedir.

Çoğu veteriner tanı laboratuvarında stafilokoklarda metisilin direncinin saptanması için fenotipik yöntemler uygulanmaktadır. Oksasilin veya sefoksitin, daha duyarlı ve daha güvenilir olduğu için metisilinin direncini saptamada sıklıkla kullanılmaktadır. Bu amaçla, tüp dilüsyon ve disk difüzyon testleri yaygın olarak uygulanmaktadır. Disk difüzyon testi klinik mikrobiyolojide en fazla tercih edilen metottur (Kocatepe,2015). 2002 senesinde Özgüneş ve ekibi, agar tarama, agar dilüsyon, disk difüzyon ve API staph ATB (bioMeriéux) yöntemlerini metisilin direncini saptama yönünden birbirleri ile kıyaslamışlar ve yöntemler arasında metisilin direncini saptama oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır. Sünbül ve ark (1998), ise disk difüzyon testinin duyarlılık, özgüllük ve temel uyumunu diğer testlere göre daha yüksek bulmuşlardır. Diler ve ark (1998), mikrodilüsyon ve agar tarama yöntemini %100 uyumlu bulurken, disk difüzyon testinin iki yönteme göre duyarlılığını %100, özgüllüğünü ise %97,5 olarak saptamışlardır.

Bu tez çalışmasında da metisilin direncinin fenotipik olarak saptanması için, CLSI'nın önerdiği standartlara göre disk difüzyon testi uygulanmıştır.

Kaynarca (2009) Aydın ilinde mastitisli ineklerden izole ve identifiye edilen 71 adet *S. aureus* suşunun disk diffüzyon yöntemi ile metisiline %93 olarak dirençli; Abed ve ark (2018) Mısırda yaptıkları çalışmada izole edilen 237 adet *S. aureus* suşlarının disk diffüzyon yöntemi sonucunda metisiline %75 dirençli olduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda metisilin dirençli stafilokok izolasyonunun artarak ilerlediği bildirilmiştir (Leonard ve Markeley, 2007). Türkiye'de mastitisli ineklerden elde edilen çiğ sütlerde metisilin direnci ile yapılan çalışmalarda Uçan ve Aslan (2002) 75 *S. aureus* izolatından birinin ve Hadimli ve ark. (2001)'ları 78 *S. aureus* izolatından 14'ünün metisilin direncine sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Aydın ve Gültekin'in 2001 yılında insanlardan izole edilen 274 Stafilokok suşu üzerinde Kirby-Bauer methodu ile yaptığı çalışmada izolatların %10,9'unda metisilin direnci saptandı.

2006 yılında Bağcıgil ve arkadaşlarının Danimarka'da yaptıkları çalışmada, köpeklerin burunlarından elde edilen koagülaz negatif stafilokok izolatlarında %13 oranında metisilin direnci saptanmıştır.

Bu çalışmada fenotipik direnç profillerini belirlemek için yapılan antibiyogram testleri sonucu, 21 izolatın 16'sında (%76,19) metisilin direnci gözlenmiştir. Dirençli izolatların 11 tanesi *S. pseudintermedius,* 5 tanesi ise *S. aureus* izolatlarından bildirilmiştir. Fenotipik yöntemle saptanan metisilin direnç oranının göreceli olarak yüksek olduğu kanaatine varılmıştır.

Yapılan araştırmalar coğrafik bölgelerde farklı antibiyogram testlerinin ve antibiyotiklerin seçildiğini göstermektedir. Sonuçların arasındaki farklılıkların, test edilen suşların farklılığından ve orijininden, bölgesel kullanım alışkanlıkları veya hedef mikroorganizma için etkisiz antibiyotik kullanımı, araştırma yapılan hayvanların genotipik yapıları, yaş, immun sistem gücü, ortamda eksik hijyen gerekliliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Tamakan ve Göçmen, 2019).

Araştırıcılar, esasında, stafilokoklarda heterojen metisilin direnci varlığı ve bu direncin de çevresel faktörlerden etkilenmesi, halen çözüme ulaştırılamamış bir sorundur. Dolayısıyla, bu konu açıklık kazanıncaya dek moleküler incelemenin mümkün olmadığı koşullarda, metisilin direncini tespit etmek için stafilokok suşlarının *mec*A genini indükleyen farklı antibiyotik diskleri ile aynı anda test edilmesi ve uyumsuz sonuçlar alınması halinde, direncin moleküler yöntemlerle referans laboratuvarlarda araştırılması uygun olacağını bildirmiştir (Akgün-Karapınar ve ark., 2018).

İnsanlarda yapılan bir çalışmada, Kılıç ve Doğan (2015) 1700 *S. aureus* izolatında mecA ve mecC gen varlığı ve prevalansı araştırılmıştır. Çalışmada değerlendirilen 1700 izolatın 523 (%30,7)'ünde mecA geni pozitif bulunmuş; mecC genine ise hiçbir izolatta rastlanmamıştır.

Köpeklerle yapılan bir çalışmada 390 nazal sıvap örneğinden 80 adedinde *S. aureus* izole edilmiş ve bunların sadece 3 (%3,75)'ünde moleküler düzeyde mecA geni saptanmıştır (Fındık ve ark., 2009).

2011'de Metiner ve arkadaşları, otitis eksternalı köpeklerden izole ettikleri 40 stafilokok suşunun yalnızca 1 tanesinde mecA direnci saptamışlardır.

2015 yılında Hancı klinik örneklerde yaptığı doktora çalışmasında ise MRSA olarak tanımlanmış 86 suşun 78'inde (%90,7) mecA geni saptamıştır.

Genotipik olarak antibiyotik direnç profillerini belirmemek amacıyla, 21 izolatın tümüne mecA ve mecC gen varlığını belirlemek için multiplex PCR yöntemi yapılması uygun görüldü.

7 *S. pseudintermedius*, 1 *S. aureus* izolatı olmak üzere toplam 8 tanesinin (%38,09) mecA geni ihtiva ettiği saptanmıştır. 8 izolatta metisilin direnci saptanmış olmasına karşın bu izolatların mecA genine sahip olmamasının nedeni tam olarak anlaşılamamakla birlikte fenotipik dirençli olmasına rağmen ilgili geni içermeyen bakterilerde dirençten sorumlu olan başka genlerin olabileceği düşünülmektedir. Mevcut PBP'lerde nokta mutasyonları, başka bir PBP'in aşırı yapımı gibi durumlarda fenotipik testlerde direnç olmasına rağmen mecA negatifliği görülebilmektedir (Hackbarth CJ. ve ark., 1995).

Bu denenlerden dolayı mecA geninin yalnızca fenotipik olarak disk yöntemi ile belirlenmesi yeterli değildir hatalı pozitif ve negatif sonuçlar çıkabileceğinden elde edilen bulguların moleküler yöntemlerle de doğrulanması oldukça yararlıdır (Murakami ve ark., 1991).

2016 yılında Diaz ve ekibi, insan ve hayvanlarda mecC insidensinin seneden seneye arttığını bildirmişlerdir. Aynı şekilde İngiltere'deki çiftliklerde de insidensde yüksek oranda artış tespit edilmiştir (Paterson ve ark., 2014). 2010 senesinde Danimarka'da insanlar üzerinde yapılan çalışmada MRSA'lar içinde mecC MRSA yüzdesinin %1.9 olduğu, 2011 senesinde yüzdenin yükselerek %2.8'e ulaştığı belirtilmiştir (Kumurya, 2015). Çalışmamızda mecC geni pozitif stafilokok izolatı saptanmamış olması ülkemiz için ümit vaat edici olarak düşünülmektedir. Buna rağmen pet hayvanlarında zamanla oluşabilecek mecC geni değişimlerini izleyerek sürveyans çalışmalarının devam etmesi epidemiyolojik olarak önemlidir.

İzolatların tür dağılımının ve genotipik direnç oranları arasındaki farkların, örnek alınan hayvanların cinsiyetine, yaş gruplarına ve antibiyotik kullanım durumlarına göre anlam taşımadığı tespit edildi ($p>0,05$). Son 1 yıl içerisindeki antibiyotik kullanım durumu hakkındaki verilerin yeterince önemli bir anlam ifade etmemesi, merkezlerden doğru/sağlıklı bilgi edinilmediği düşündürmektedir. 200 örnekten izole edilen 21 KPS örneği alındığı kaynaklara göre değerlendirmeye alındığında yapılan istatistiksel çalışmaya göre KPS izolatların barınaklardan ya da kliniklerden elde edilme oranlanları çalışmamız açısından kayda değer bir önem taşımamaktadır.

Sonuç olarak, incelenen 200 hayvanın 21 (%10,5) tanesinin nazal mukozasında KPS kolonizasyonu saptanmıştır. Nazal portörlüğe yol açan baskın türün *S. pseudintermedius* olduğu belirlenmiştir. Toplam 21 izolatın 16'sında (% 76,1) fenotipik olarak metisilin direnci gözlemlendi. Bu 16 suşun ise 8 tanesinde mecA geni saptandı. Bu bulgular, epidemiyolojik çalışmalarda saptanan fenotipik direncin moleküler yöntemlerle desteklenmesi gerektiğini

düşündürmektedir. Göreceli olarak yüksek oranda (%38,09) saptanan genotipik olarak metisilin direnci önemlidir. Çalışmamızda mecC geni pozitif stafilokok izolatı saptanmamış olması ülkemiz için ümit vaat edici olarak düşünülmektedir. Ancak, zamanla oluşabilecek mecC geni varlığını araştıran epidemiyoljik araştırmaların devam etmesinin önemli olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

Akan, M., (2006). Staphylococcus infeksiyonları. In: Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar), Ankara, Emek Yayınevi.

Akgün-Karapınar B., Yılmaz M., Ömeroğlu M., Erbudak E., Akdağ-Köse A., Aydın D., (2018) Determination of frequency and nasal carriage of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients with pyoderma. *Klimik Derg*.; 31(2): 115-9.

Akkan HA., Karaca M., (2003). Veteriner iç hastalıklarında antibiyotiklerin kullanımı. YYÜ Vet Fak Derg; 14(2):72-7.

Alok K. C., Ashok K. and Mukesh S., (2019). Study on Prevalence and Resistance Patterns of Bacterial Pathogens Isolated from Canine Pyoderma. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci. 8(01): 2305-2311.

Álvarez L., Holden M., Lindsay H., Webb C., Brown D., Curran M., Walpole E., Brooks K., Pickard DJ., Teale C., Parkhill J., Bentley SD., Edwards GF., Girvan EK., Kearns AM., Pichon B., Hill LRL, Larsen AR., Skov RL., Peacock SJ., Maskell DJ., Holmes M., (2011). Meticillin-resistant Staphylococcus aureus with a novel mecA homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. The Lancet. 11(8):595-603.

Álvarez L, Webb C, Holmes M (2011). A novel fieldbased approach to validate the use of network models for disease spread between dairy herds. Epidemiol Infect. 139(12):1863-1874.

Appelbaum PC., (2006). MRSA the tip of the iceberg. Clin Microbiol Infect. 12(2) : 3-10.

Appelbaum PC., (2007). Microbiology of antibiotic resistance in Staphylococcus aureus. Clin Infect Dis. (45) : 65- 70.

Ariza-Miguel J., Hernandez M., Fernandez-Natal I., Rodriguez-Lazaro D., (2014). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harboring *mecC* in livestock in Spain. J Clin Microbiol, 52, 4067-4069.

Atay T., Gülay Z. (2004) Comparison of Latex Agglutination Test with Disk Diffusion, mecA PCR and VITEK for the Detection of Methicillin Resistant *S. aureus* Isolates. ANKEM Dergisi, 18(4): 205- 208.

Aydın N., (2006). Brucella İnfeksiyonları, 14. Bölüm, Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar), 1. Baskı, 145-163, N Aydın ve J Paracıkoğlu (Editörler), İlke-Eme Yayınları, Ankara.

Bannerman T. (2003). *Staphylococcus*, *Micrococcus*, and other catalase positive cocci that grow aerobically. In Manual of Clinical Microbiology;8: 384-404.

Bannoehr J., Franco A., Iurescia M., Battisti A., Fitzgerald J., (2009) Molecular diagnostic identification of Staphylococcus pseudintermedius. Journal of Clinical Microbiology ;47(2):469-471.

Barraud O., Laurent F., Francois B., Bes M., Vignon P., Ploy MC., (2013). Severe human bone infection due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the novel *mecC* variant. J Antimicrob Chemother, 68, 2949-2950.

Bergdoll MS., (1989): Staphylococcus aureus. 463-523. In: Doyle MP.

Bes M., Guerin-Faublee V., Freney J., Etienne J., (2002) Isolation of *Staphylococcus schleiferi subspecies coagulans* from two cases of canine pyoderma. Veterinary Record;150(15):487-488.

Bhavsar SK., Thaker AM., (2012) Pharmacokinetics of antimicrobials in food producing animals. In: Noreddin A, ed. Readings in Advanced Pharmacokinetics - Theory, Methods and Applications. Croatia: In Tech. p.157-78.

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

Bilgehan H., (2004) Klinik mikrobiyolojik tanı. Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, 3. Basım;35-45.

Bond R., Loeffler A., (2012) What's happened to *Staphylococcus intermedius* Taxonomic revision and emergence of multidrug resistance. Journal of Small Animal Practice;53: 147-154.

Briscoe JA., Morris DO., Rankin SC., Hendrick MJ., Rosenthal KL., (2008) Methicillin resistant Staphylococcus aureus associated dermatitis in a congo african grey parrot (psittacus erithacus erithacus). Journal of Avian Medicine and Surgery;22(4):336-343.

Brooks GF., Butel JS., Morse SA., (2007) The Staphylococci. In: Jawetz, Melnick, and Adelberg s Medical Microbiology. 24th Ed. USA: The McGraw Hill Companies. p: 224-230.

Catry B., Duijkeren Van., Pomba M. C., Greko C., Moreno M. A., S. Pyörälä S., Sanders M. R., Threlfall E. J., Ungemach F., Törneke K., Munoz-Madero C. and Torren-Edo J., (2010). Scientific Advisory Group on Antimicrobials (SAGAM): Reflection paper on MRSA in food-producing and companion animals: Epidemiology and control options for human and animal health. Epidemiol. Infect., 138(5): 626-644.

Chambers HF., (1997). Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. Clin Microbiol Rev. (10):781-791.

Chambers HF., Hackbarth CJ., (1987). Effect of NaCl and nafcillin on penicillin-binding protein 2a and heterogeneous expression of methicillin resistance in Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemother. (31):1982-1988.

Chesneau O., Morvan A., Aubert S., El Solh N., (2000) The value of rRNA gene restriction site polymorphism analysis for delineating tax a in the genus Staphylococcus. International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology; 50:689-697.

CLSI/NCCLS Document M100-S19 (2015) Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing-Nineteenth Informational Supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania.

Cristina RT., Degi J., (2013) Multiresistant Staphylococcus intermedius isolated from otitis externa in dogs and them human owners –A practical approach. African Journal of Pharmacy and Pharmacology; 29:1351-1356.

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, 243-260.

Devriese LA., Vancanneyt M., Baele M., Vaneechoutte M., De Graef E., Snauwaert C., Cleenwerck I., Dawyndt P., Swings J., Decostere A., Haesebrouck F., (2005). *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase positive species from animals. Int J Syst Evol Microbiol, 55, 1569-1573.

Devriese LA., Hermans K., Baele M., Haesebrouck F. (2009). *Staphylococcus pseudintermedius versus staphylococcus intermedius*. Veterinary Microbiology ;133(1-2):206-207.

Diaz R., Ramalheira E., Afreixo V., Gago B., (2016). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the new *mec*C gene a meta-analysis. Diagn Micr Infec Dis, 84, 135-140.

Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*, (2008), 46:155-64. Döneminde Stafilokokkal Enterotoksin Miktarının Belirlenmesi. TUBİTAK, Proje No: 106O793, Antalya, 2007.

Duquette R.A. and T.J. Nuttall, (2004). Methicillinresistant Staphylococcus aureus in dogs and cats: An emerging problem. J. Small Anim Pract., 45(12): 591-597.

Durand G., Bes H., Meugnier M.C., Enright F., Forey N., Liassine A., Wenger K., Kikuchi G., Lina F., Vandenesch and J. Etienne, (2006). Detection of new Methicillin-resistant Staphylococcus aureus clones containing the toxic shock syndrome toxin 1 gene responsible for hospital- and community-acquired infections in France. J. Clin. Microbiol., 44(3): 847-853.

Durupınar B., (2001) Antibiyotiklere Dirençlerde Yeni Eğilimler. *Klinik Dergisi*,
Edwards J Jr, Infectious Diseases Society of America. The epidemic of antibioticresistant.

Eriksson J., Espinosa-Gongora C., Stamphoj I., Larsen AR., Guardabassi L., (2013). Carriage frequency, diversity and methicillin resistance of *Staphylococcus aureus* in Danish small ruminants. Vet Microbiol, 163, 110-115.

Fitzgerald RJ., (2009) The *Staphylococcus intermedius* group of bacterial pathogens: species re-classification, pathogenesis and the emergence of meticillin resistance. Veterinary Dermatology; 20:490-495.

Frieden T., (2013) Antibiotic resistance threats in the United States. U.S. Department of Health and Human Services. Centers for Disease Control and Prevention, http://www.cdc.gov/drugresistance/ threat-report-2013/

FVE., (2015) Antibiotic resistance & prudent use of antibiotics in veterinary medicine. Federation of Veterinarians of Europe (FVE). http://www. fve.org/ news/publications/pdf/antibioen.pdf Erişim tarihi: 07.05.2015.

Garcia-Alvarez L., Holden MT., Lindsay H., Webb CR., Brown DF., Curran MD., et al, (2011). Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mec*A homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: A descriptive study. Lancet Infect Dis, 11, 595-603.

Garcia-Garrote F., Cercenado E., Marin M., Bal M., Trincado P., Corredoira J., et al, 2013. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the *mecC* gene: emergence in Spain and report of a fatal case of bacteraemia. J Antimicrob Chemother, 69, 45-50.

Gordon RJ., Lowy FD. (2008). Pathogenesis of methicillinresistant Staphylococcus aureus infection. Clin. Infect. Dis. (46):350-359.

GTHB. Kaçak ve illegal ilaç. Tamim No: 36. 21.10.2009. http://www.tarim.gov.tr/Belgeler/Mevzuat/ Genelgeler/kacak_ilac.pdf. Erişim tarihi: 07.06.2015.

Guardabassi L., Schwarz S., Lloyd DH. (2004). Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. J Antimicrob Chemother. 54, 321-332

Gülay Z., (2009) Çoklu Dirençli Hastane İnfeksiyonu Etkenlerinin Kontrolünde Hızlı Tanı Testleri. ANKEM Dergisi, 23(Ek 2): s.: 193-200

Güneş H., (2008) Metisiline Dirençli Stafilokoklarda Glikopeptid Antibiyotiklere Duyarlılık Durumunun Araştırılması. Uzmanlık Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta.

Hackbarth CJ., Kocagoz T., Kocagoz S., Chambers HF., (1995) Point mutations in Staphylococcus aureus PBP 2 gene affect penicillin-binding kinetics and are associated with resistance. Antimicrob Agents Chemother. Jan;39(1):103-6.

Hackbarth CJ., Chambers HF. (1993). blaI and blaR1 regulate β-lactamase and PBP 2a production in methicillin resistant S. aureus. Antimicrob Agents Chemother. (39):1144-1149.

Hajek V., (1976) Staphylococcus intermedius a new species isolated from animals. International Journal of Systemaiıc Bacteriology; 26:401-408.

Hardy KJ., Hawkey PM., Gao F., Oppenheim BA., (2004) Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the critically ill. *Br. J. Anaesthesia*, , 92:121-130.

Hartman BJ., Tomasz A., (1986). Expression of methicillin resistance in heterogeneous strains of Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents and Chemother. (29):85-92.

Henry R., (2013) *Staphylococcus. Emerging Infectious Diseases*, 19(9):1553.

Henze U., Sidow T., Wecke J., Labischinski H., Berger-Bachi B., (1993). Influence of femB on methicillin resistance and peptidoglycan metabolism in *S.aureus*. J Bacteriol. (175):1612-1620.

Hill PB., Lo A., Eden CA., Huntley S., Morey V., Ramsey S., Richardson C., Smith DJ., Sutton C., Taylor MD., Thorpe E., Tidmarsh R., Williams V., (2006) Survey of the prevalence, diagnosis and treatment of dermatological conditions in small animals in general practice. Veterinary Record ;158(16):533-539.

Hiramatsu K., Katayama Y., Yuzawa H., Ito T. (2002). Molecular genetics of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Int. J. Med. Microbiol. (292):67-74.

Ihrke P.J., (1987). An overview of bacterial skin disease in the dog. *Br. Vet. J*., 143: 112

Ito T., (2012) International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWGSCC). Guidelines for reporting novel mecA gene homologues. Antimicrob. Agents Chemother. (56):4997- 4999.

Jevons MP., (1961). Celbenin resistant in Staphylococci. BMJ. (1):124-125.

Jonge BL., Tomasz A., (1993). Abnormal peptidoglycan produced in a methicillin-resistant strain of S. aureus grown in the presence of methicillin: functional role for penicillin-binding protein 2A in cell wall synthesis. Antimicrob. Agents Chemother. (37):342-346.

Kaya S., (2009) Farmakolojiye giriş. Veteriner Farmakoloji. Cilt 5. Baskı. Ankara: Medisan Yayınevi; p.1-4.

Kılıç A., Doğan E., Kaya S., Baysallar M., (2015). Investigation of the presence of *mec*C and Panton-Valentine leukocidin genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical specimens during seven years period. Mikrobiyol Bul, 49, 594-599.

Kloos W.E., (1990) Systematic and The Natural History of Staphylococci. J Aplied Bacteriol; 69: 25-37.

Koneman EW., Allen SD., Janda WM., Schreckenberger PC., Winn WC., (2006) The Gram Positive Cocci. The Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology.6th ed. Philadelphia: JB Lippincott Co.2006:623-671.

Kumurya AS., (2015). A potential diagnostic problem: The newly emerging *mecC* methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. IOSR-JPBS, 10, 84-93.

Kutlu B. S., (2006) Çeşitli Klinik Materyallerden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarında Metisilin Direnci ve E-Test İle Vankomisin MIC Değerlerinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi. Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul.

Laurent F., Chardon H., Haenni M., Bes M., Reverdy ME., Madec JY., Lagier E., Vandenesch F., Tristan A., (2012). MRSA harboring *mec*A variant gene *mec*C, France. Emerg Infect Dis, 18, 1465-1467.

Leonard FC., Abbott Y., Rossney A., Quinn PJ., (2006) Methicillin resistant Staphylococcus aureus isolated from a veterinary surgeon and five dogs in one practice. Veterinary Record;158(5):155-159.

Loncaric I., Kubber-Heiss A., Posautz A., Stalder GL., Hoffmann D., Rosengarten R., Walzer C., (2013). Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp. carrying the *mec*C gene, isolated from wildlife. J Antimicrob Chemother, 68, 2222-2225.

Manian F.A., (2003). Asymptomatic nasal carriage of mupirocin-resistant, methicillinresistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a pet dog associated with MRSA infection in household contacts. *Clin. Infect. Dis.,* 36: 26-28.mec of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Bacteriol. 2003; 185:2711–2722.

Medhus A., Slettemea JS., Marstein L., Larssen KW., Sunde M., (2013). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with the novel *mec*C gene variant isolated from a cat suffering from chronic conjunctivitis. J Antimicrob Chemother, 68, 968-969.

Metiner K. ve ark., (2015) Determination of the diversity and antibiotic resistance profiles of Staphylococcus species from dogs with otitis externa and examination of mecA gene occurrence. Veterinarni Medicina, 60, (5):261-267.

Meyer SA., Schleifer KH., (1978) Deoxyribonucleic acid reassociation in the classification of coagulase positive staphylococci. Archives of Microbiology; 117:183-188.*Microbiol.*, 34: 559-592.

Mishra R. P. N., Oviedo-Orta E., Prachi P., Rappuoli R., Bagnoli F., (2012). Vaccines and antibiotic resistance. Current Opinion in Microbiology. 15: 596- 602.). Moleküler Mikrobiyoloji Kursu. Durmaz R. (ed). İnönü Üniversitesi Turgut Özal.

Muray PR., (2005) Rosenthal KS, Pfaller PA. Medical Microbiology. Philadelphia: Elsevier Press;. P .203-212.

Öztürk D., Avki S., Türütoğlu H., Yiğitarslan K., Sağnak S. (2010) Methicillin resistance among coagulase positive staphylococci isolated from dogs with otitis externa, skin wounds and pyoderma. Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2010 ;16(4) : 651-656.

Paterson GK., Harrison EM., Holmes MA., (2014b). The emergence of *mec*C methicillin-resistant *Staphylococcus aureus.* Trends Microbiol, 22, 42-47.

Paterson GK., Larsen AR., Robb A, Edwards GE., Pennycott TW., et al, (2012). The newly described *mec*A homologue, *mec*ALGA251, is present in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a diverse range of host species. J Antimicrob Chemother, 67, 2809-2813.

Paterson GK., Morgan FJE., Harrison EM., Peacock SJ., Parkhill J., Zadoks RN., Holmes MA, (2014a). Prevalence and properties of *mec*C methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in bovine bulk tank milk in Great Britain. J Antimicrob Chemother, 69, 598-602.

Paulin S., Horn B., Hudson AJ. (2012): Factors influencing staphylococcal enterotoxin production in Dairy Products. NewZealand Ministry for Primary Industries, Wellington. Erişim: http://www.foodsafety.govt.nz/ elibrary/industry/factors-staphylococcal-enterotoxin-dairy.pdf

Petrov V., Mihaylov G., Tsachev I., Zhelev G., Marutsov P., Koev K. (2013) Otitis externa in dogs microbiology and antimicrobial susceptibility. Revue de Médecine Vétérinaire ; 164:18-22.

Regasa TH., Koelsch RK., Wortmann CS., Randle RF., Abunyeva AA (2015). Antibiotic use in animal production: Environmental concerns. http:// ianrpubs.unl.edu/live/rp196/build/rp196.pdf Erişim tarihi: 20.05.2015.

Rhee C. H., Woo G. J., (2010). Emergence and characterization of foodborne methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Korea. Journal of Food Protection. 73 (12): 2285- 2290.).

Rubin JE., Chirino-Trejo M. (2011) Prevalence, sites of colonization, and antimicrobial resistance among *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from healthy dogs in Saskatoon, Canada. J Vet Diagn Invest 23:351-354

Sasaki T., Shımızu A., Kawano J., Wakıta Y., Hayashı T., Ootsukı S. (2005) Characteristics of Staphylococcus intermedius isolates from diseased and healthy dogs. The Journal of Veterinary Medical Science 2005; 67:103-106.

Sasaki T., Kikuchi K., Tanaka Y., Takahashi N., Kamata S., Hiramatsu K., (2007). Reclassification of phenotypically identified *Staphylococcus intermedius* strains. J ClinMicrobiol, 45, 2770-2778.

Scott D.W., Miller W.H., Griffin C.E. (2001) Diseases of eyelids, claws, anal sacs, and ears. Muller and Kirk's Small Animal Dermatology; 6:1203-1235.

Sevgican E., Sınırtaş M., Özakın C., Gedikoğlu S. (2009). Staphylococcus türlerinde metisilin direncinin farklı yöntemlerle saptanması İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection); 23 (2): 63- 68.

Shore AC., Deasy EC., Slickers P., Brennan G., O'Connell B., Monecke S., Coleman DC. (2011). Detection of Staphylococcal Cassette Chromosome mec Type XI Carrying Highly Divergent mecA, mecI, mecR1, bla Z, and ccr Genes in Human Clinical Isolates of Clonal Complex 130 Methicillin Resistant Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemother. 55(8):3765–3773.

Spohr A., Schjoth B., Wiinberg B., House G., Willesen J., Jessen LR., et al. (2009) Antibiotic use guidelines for companion animal practice. Danish Small Animal Veterinary Association, 2009. http://www.fecava.org /sites/default/ files/files/DSAVA_Antibiotic Guidelines%20-%20v1-1_3%281%29.pdf. Erişim tarihi: 25.05.2015.

Stegger M., Andersen P.S., Kearns A., Pichon B., Holmes M.A., Edwards G., Laurent F., Teale C., Skov R. and Larsen A.R., (2012) Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus harbouring either mecA or the new mecA homologue mecALGA251 Clin Microbiol Infect 2012; 18: 395–400.

Tamakan H., Göçmen H., (2019) Kedi ve Köpeklerde Metisilin Dirençli *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) Taşıyıcılığı. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.,14(1): 98-106, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.434642.

Tanner M.A., Everett C.L., Youvan D.C. (2000). Molecular phylogenetic evidence for noninvasive zoonotic transmission of *Staphylococcus intermedius* from a canine pet to a human. *J. Clin. Microbiol.*, 38: 1628-1631.

Tsubakishita S., Kuwahara-Arai K., Baba T., Hiramatsu K. (2010). Staphylococcal Cassette Chromosome mec-Like Element in Macrococcus caseolyticus. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 54(4):1469–1475.

Tünger A., Ulusoy S., Usluer G., Ünal S. (2004). *Staphylococcus aureus* : Mikrobiyoloji, Patogenez ve Epidemiyoloji. Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara. P : 9-38.

Udegbunam SO., Udegbunam RI., Anyanwu MU. (2014) Occurrence of Staphylococcal Ocular Infections of Food Producing Animals in Nsukka Southeast, Nigeria. Veterinary Medicine International 2014; 52:80-84.

Ungemach FR., Müller-Bahrdt D., Abraham G. (2006). Guidelines for prudent use of antimicrobials and their implications on antibiotic usage in veterinary medicine. International J Med Microbiol;296 (41):33-8.

Unnerstad HE., Bengtsson B., Horn af Rantzien M., Borjesson S., (2013). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* containing *mec*C in Swedish dairy cows. Acta Vet Scand, 31, 55-56.

Vandendriessche S., Vanderhaeghen W., Soares FV., Hallin M., Catry B., Hermans K., Butaye P., Haesebrouck F., Struelens MJ., Denis O., (2013). Prevalence, risk factors and genetic diversity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carried by humans and animals across livestock production sectors. J Antimicrob Chemother, 68, 1510-1516.

Winn W.Jr., Allen S., Janda W., Koneman E., Procop G., Schreckenberger P., Woods G. (2006). Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th Ed. Lippincott Williams and Wilkins. Baltimore, MD, USA.

HAM VERİLER

Crosstabs- Coagulaz stap-200

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
sex * durum	200	100,0%	0	,0%	200	100,0%

sex * durum Crosstabulation

			durum		
			+	-	Total
sex	erkek	Count	13	89	102
		% within sex	12,7%	87,3%	100,0%
		% within durum	61,9%	49,7%	51,0%
		% of Total	6,5%	44,5%	51,0%
	diþi	Count	8	90	98
		% within sex	8,2%	91,8%	100,0%
		% within durum	38,1%	50,3%	49,0%
		% of Total	4,0%	45,0%	49,0%
Total		Count	21	179	200
		% within sex	10,5%	89,5%	100,0%
		% within durum	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	10,5%	89,5%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,117[b]	1	,291		
Continuity Correction[a]	,682	1	,409		
Likelihood Ratio	1,128	1	,288		
Fisher's Exact Test				,359	,205
Linear-by-Linear Association	1,111	1	,292		
N of Valid Cases	200				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 10,29.

Crosstabs-coagulaz stap- 21

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
sex * durum	21	100,0%	0	,0%	21	100,0%

sex * durum Crosstabulation

			durum		
			+	-	Total
sex	erkek	Count	1	12	13
		% within sex	7,7%	92,3%	100,0%
		% within durum	33,3%	66,7%	61,9%
		% of Total	4,8%	57,1%	61,9%
	diþi	Count	2	6	8
		% within sex	25,0%	75,0%	100,0%
		% within durum	66,7%	33,3%	38,1%
		% of Total	9,5%	28,6%	38,1%
Total		Count	3	18	21
		% within sex	14,3%	85,7%	100,0%
		% within durum	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	14,3%	85,7%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,212[b]	1	,271		
Continuity Correction[a]	,210	1	,647		
Likelihood Ratio	1,177	1	,278		
Fisher's Exact Test				,531	,316
Linear-by-Linear Association	1,154	1	,283		
N of Valid Cases	21				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,14.

Crosstabs **Mec A+ 21**

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
sex * durum	21	100,0%	0	,0%	21	100,0%

sex * durum Crosstabulation

			durum		
			+	-	Total
sex	erkek	Count	6	7	13
		% within sex	46,2%	53,8%	100,0%
		% within durum	75,0%	53,8%	61,9%
		% of Total	28,6%	33,3%	61,9%
	diþi	Count	2	6	8
		% within sex	25,0%	75,0%	100,0%
		% within durum	25,0%	46,2%	38,1%
		% of Total	9,5%	28,6%	38,1%
Total		Count	8	13	21
		% within sex	38,1%	61,9%	100,0%
		% within durum	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	38,1%	61,9%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,940[b]	1	,332		
Continuity Correction[a]	,257	1	,612		
Likelihood Ratio	,968	1	,325		
Fisher's Exact Test				,400	,310
Linear-by-Linear Association	,895	1	,344		
N of Valid Cases	21				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 3 cells (75,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,05.

Crosstabs - yaş - mec A+ - 21

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
yas * durum	21	100,0%	0	,0%	21	100,0%

yas * durum Crosstabulation

			durum		
			+	-	Total
yas	genç	Count	1	4	5
		% within yas	20,0%	80,0%	100,0%
		% within durum	16,7%	26,7%	23,8%
		% of Total	4,8%	19,0%	23,8%
	yetiþkin	Count	5	11	16
		% within yas	31,3%	68,8%	100,0%
		% within durum	83,3%	73,3%	76,2%
		% of Total	23,8%	52,4%	76,2%
Total		Count	6	15	21
		% within yas	28,6%	71,4%	100,0%
		% within durum	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	28,6%	71,4%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,236[b]	1	,627		
Continuity Correction[a]	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,249	1	,618		
Fisher's Exact Test				1,000	,550
Linear-by-Linear Association	,225	1	,635		
N of Valid Cases	21				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 3 cells (75,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,43.

Crosstabs - antibiotik Mec A+ - -21

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
antibiotik * durum	21	100,0%	0	,0%	21	100,0%

antibiotik * durum Crosstabulation

			durum		
			+	-	Total
antibiotik	+	Count	0	3	3
		% within antibiotik	,0%	100,0%	100,0%
		% within durum	,0%	20,0%	14,3%
		% of Total	,0%	14,3%	14,3%
	-	Count	6	12	18
		% within antibiotik	33,3%	66,7%	100,0%
		% within durum	100,0%	80,0%	85,7%
		% of Total	28,6%	57,1%	85,7%
Total		Count	6	15	21
		% within antibiotik	28,6%	71,4%	100,0%
		% within durum	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	28,6%	71,4%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,400[b]	1	,237		
Continuity Correction[a]	,243	1	,622		
Likelihood Ratio	2,213	1	,137		
Fisher's Exact Test				,526	,342
Linear-by-Linear Association	1,333	1	,248		
N of Valid Cases	21				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,86.

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
grup * durum	200	100,0%	0	0,0%	200	100,0%

grup * durum Crosstabulation

			durum		
			+	-	Total
grup	barınak	Count	10	101	111
		% within grup	9,0%	91,0%	100,0%
		% within durum	47,6%	56,4%	55,5%
		% of Total	5,0%	50,5%	55,5%
	klinik	Count	11	78	89
		% within grup	12,4%	87,6%	100,0%
		% within durum	52,4%	43,6%	44,5%
		% of Total	5,5%	39,0%	44,5%
Total		Count	21	179	200
		% within grup	10,5%	89,5%	100,0%
		% within durum	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	10,5%	89,5%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,590[a]	1	,442		
Continuity Correction[b]	,287	1	,592		
Likelihood Ratio	,586	1	,444		
Fisher's Exact Test				,491	,295
Linear-by-Linear Association	,587	1	,444		
N of Valid Cases	200				

Crosstabs-mec A +

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
grup * durum	200	100,0%	0	0,0%	200	100,0%

grup * durum Crosstabulation

			durum		
			+	-	Total
grup	barınak	Count	2	109	111
		% within grup	1,8%	98,2%	100,0%
		% within durum	25,0%	56,8%	55,5%
		% of Total	1,0%	54,5%	55,5%
	klinik	Count	6	83	89
		% within grup	6,7%	93,3%	100,0%
		% within durum	75,0%	43,2%	44,5%
		% of Total	3,0%	41,5%	44,5%
Total		Count	8	192	200
		% within grup	4,0%	96,0%	100,0%
		% within durum	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	4,0%	96,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3,139[a]	1	,076		
Continuity Correction[b]	1,984	1	,159		
Likelihood Ratio	3,200	1	,074		
Fisher's Exact Test				,142	,080
Linear-by-Linear Association	3,123	1	,077		
N of Valid Cases	200				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,56.

b. Computed only for a 2x2 table

FORMLAR

ETİK KURUL KARARI

Tarih ve Sayı: 16/11/2017-430384

BE84A71RT

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı



Sayı :35980450-050.01.04-
Konu :Prof.Dr.Serkan İKİz'e ait Etik Kurul Onayı gerektirmeyen proje Hk.

Sayın Prof. Dr. Serkan İKİZ

İlgi :11.10.2017 tarihli proje başvurunuz.

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, **Biyolog/Yüksek Lisans Öğrencisi TUĞÇE COŞGUN**'a ait **"Köpeklerde Nazal Staphylococcus aureus Kolonizasyonu ve İzolatların Karakterizasyonunun Araştırılması"** başlıklı projeniz; incelenmiş olup, Orman ve Su İşleri Bakanlığının 15.02.2014 tarih ve 28914 sayılı Resmi Gazete'de yayınlanarak yürürlüğe giren "Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmeliği'nin 8.Maddesi (k-5) bendi hükümlerince, araştırmanızda kullanılacak materyal dikkate alındığında, çalışmanızın Etik Kurul Onayı almayı gerektirmediğine karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Fatma Alev KAYMAZ
Başkan

Doğrulamak İçin:http://194.27.128.66/envision.Sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BE84A71RT

Ayrıntılı bilgi için irtibat : Canan SÖNMEZTÜRK
İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı İ.Ü. Veteriner Fakültesi Dekanlı nolu oda Avcılar/İSTANBUL
Tel : (212) 473 7070 Faks : 2124400377
e-posta : hadyek@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ : www.istanbul.edu.tr

K Q TSE-ISO-EN 9000

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

PATENT HAKKI İZNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Tuğçe	**Soyadı**	Coşgun
Doğ.Yeri	İstanbul	**Doğ.Tar.**	06/10/1990
Uyruğu	T.C	**TC Kim No**	23678107734
Email	tugcecosgunn@gmail.com	**Tel**	0554 990 61 93

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mez. Yılı**
Lisans	Erciyes Üniversitesi	2012
Lise	İhsan Mermerci YDAL	2008

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1.	Klinik Araştırma Koordinatörü	Atlas CRO Medikal Araştırma ve Geliştirme	2017- …
2.	Biyolog	Genway Genetik Araştırma Merkezi	2016-2017
3.	Biyolog	Acıbadem Hastaneler Grubu	2014-2016
4.	Biyolog	Funda Tıbbi Tahlil Laboratuvarı	2013-2014

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***	**KPDS/ÜDS Puanı**	**(Diğer) Puanı**
İngilizce	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi		İ.Ü. İngilizce Sınavı 50
Fransızca	Orta	Orta	Orta		

*****Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	69,53	67,24	65,91
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Kamp yapmak, Tiyatro