

Hayvanlardan, Klinik Ortamından ve Klinik Çalışanlarından İzole Edilen Metisiline Dirençli Stafilokokların Tür Dağılımları

Arzu Funda BAĞCIGİL^{1*}, Serkan İKİZ¹, Özlem GÜZEL², Çağla PARKAN YARAMIŞ³, Atila ILGAZ¹

¹İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 34320 Avcılar, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, 34320 Avcılar, İstanbul

³İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Meslek Yüksek Okulu, Atçılık ve At Antranörlüğü Programı, 34320 Avcılar, İstanbul

*Sorumlu Yazar: A. Funda BAĞCIGİL İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 34320 Avcılar, İstanbul, Türkiye
e-posta: fucigil@istanbul.edu.tr

Geliş Tarihi / Received: 27.06.2011

ÖZET

Bu çalışmada, Veteriner fakültesi kliniklerinde görevli personelde ve kliniklere getirilen kedi ve köpeklerde, başta *Staphylococcus aureus* olmak üzere metisiline dirençli diğer stafilokokların varlığının ve kliniklerde çevresel kaynaklı bir kontaminasyon riskinin araştırılması amaçlandı. Bu amaçla; fakülte kliniklerinde çalışan personelden 18 kişiden nazal svab örnekleri, bu kliniklere getirilen 7 kedi ve 21 köpeğin nazal ve oral svab örnekleri toplandı. Çevresel kontaminasyonu saptamak için kliniklerde farklı yüzeylerden toplam 33 svab örneği toplandı. Bakteriyolojik inceleme sonucu izole edilen Gram pozitif kokların, disk difüzyon yöntemi ile metisiline direnç durumları saptandı ve ardından identifikasyonları yapıldı. Tüm izolatlar *mecA* geni yönünden PCR ile moleküler tiplendirme amacıyla da RAPD-PCR ile incelendi. Ayrıca izolatların antibiyotiklere duyarlılıkları saptandı. Yedi kedinin 3 (%42,9)'ünden, 21 köpeğin 5 (%23,8)'inden; 33 çevresel örneğin 19 (%57,6)'undan; personelden toplanan 18 svab örneğinin 13 (%72,2)'ünden metisiline dirençli koagülaz negatif stafilokoklar (MRCoNS) izole edildi. Örneklerin hiçbirinden metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) izole edilmezken, her iki örnek grubunda da en yüksek oranda *S. hominis* izole edildi. Toplam 41 izolatın %87,8'inde penisilin G direnci, %63,4'ünde eritromisin direnci, %58,5'inde tetrasiklin direnci saptandı.

Anahtar Kelimeler: *Staphylococcus* spp., metisilin, *mecA*

ABSTRACT

SPECIES DISTRIBUTION OF METHICILLIN RESISTANT STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM ANIMALS, ENVIRONMENTAL SAMPLES AND STAFFS

The aim of this study is to investigate the presence of methicillin resistant staphylococci, particularly methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), from the dogs and cats that brought to the Veterinary Faculty clinics and the staff in those clinics, and risk of the environmental contaminations in the clinics. For this purpose; swab samples were collected from nasal mucosa of 18 staffs, nasal and oral mucosa of 7 cats and 21 dogs. For determination of

environmental contamination 33 swab samples from various surfaces of the clinics were collected. Gram positive cocci were identified following after the determination of methicillin resistance by disc diffusion method. All the isolates examined for the presence of the *mecA* gene by PCR, for molecular typing by RAPD-PCR. Antibiotic susceptibilities of the isolates were determined. Three (42.9%), 5 (23.8%), 19 (57.6%) and 13 (72.2%) methicillin resistant coagulase negative staphylococci (MRCoNS) were isolated out of 7 cats, 21 dogs, 33 environmental and 18 staff samples, respectively. While *S. hominis* were isolated predominantly, no MRSA were isolated from the samples. Out of 41 isolates 87.7%, 63.4%, 58.5% of them were resistant to penicillin G, erythromycin and tetracycline, respectively.

Key Words: *Staphylococcus* spp., methicillin, *mecA*

Giriş

Penisiline dirençli stafilocokların tedavisi amacıyla 1950'li yıllarda metisilin kullanımına başlanmasını takiben çok kısa bir süre içerisinde 1961 yılında ilk MRSA izolasyonu rapor edilmiştir. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) nozokomiyal infeksiyonların önemli bir nedeni olarak tanımlanmakta ve hızla artan bir şekilde insan sağlığını etkilemeye devam etmektedir. Metisilin, oksasilin, kloksasilin gibi yarı-sentetik penisilinler, β -laktamazlar tarafından hidrolize olmayan β -laktam halkaları içermektedir. Metisiline direnç, bakterinin hücre duvarında bulunan ve penisiline düşük oranda eğilimi olan 78 kd ağırlıktaki modifiye Penisilin-Bağlayan Proteine (PBP2a) bağlı olarak gelişmektedir. Bu protein de *mecA* olarak isimlendirilen kromozom üzerinde bulunan bir gen tarafından kodlanmaktadır (Duquette ve Nuttall, 2004; Epstein ve ark., 2009; Kwon ve ark., 2006; Morgan, 2008; van Duijkeren ve ark., 2004). Ayrıca *mecA* genine sahip olan *S. aureus* suşlarının yaklaşık %2'sinin metisiline duyarlı olması, direnç gelişiminde başka faktörlerin de rol aldığı görüşünü kuvvetlendirmektedir (Duquette ve Nuttall, 2004).

Hayvanlarda metisilin dirençli *S. aureus* olgusu ilk olarak 1972 yılında bir süt ineğinde rapor edilmiştir. O günden beri de birçok ülkede at, kedi, köpek, tavuk gibi birçok farklı hayvan türlerinde rapor edilmeye devam etmektedir (Busscher ve ark., 2006; Duquette ve Nuttall, 2004; Gortel ve ark., 1999; Kwon ve ark., 2006; Loeffler ve ark., 2005; Yasuda ve ark., 2000).

Son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar çeşitli hayvan türlerinden ve bu hayvanlarla ilgilenen veteriner hekim ya da bakıcılarından izole edilen MRSA'ların genetik olarak ilişkili oldukları ya da benzer olduklarını ortaya çıkarmıştır. Bu çalışmalar nazal mukozaya kolonize olmuş stafilocokların insanlar ve hayvanlar arasında bulaşabileceğini göstermektedir (Armand-Lefevre ve ark., 2005; Loeffler ve ark., 2005; Weese ve ark., 2005).

Bu çalışmada, fakültemiz kliniklerine getirilen kedi ve köpeklerde başta *S. aureus* olmak üzere metisiline dirençli stafilocokların varlığının araştırılması amaçlandı. Bunun yanında çevresel örnekler incelenerek, kliniklerde çevresel kaynaklı bir kontaminasyon riskinin olup olmadığı; çalışan personelde metisilin dirençli *Staphylococcus* türlerinin dağılımları araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi ve İç Hastalıkları Anabilim Dalı kliniklerine getirilen kedi ve köpeklerden nazal ve oral svab örnekleri, klinikte çalışan personelden nazal svab ve klinik ortamlarından yüzeylerden svab örnekleri toplandı. Fakülte kliniklerinde çalışan personelden 18 kişiden nazal svab örnekleri, İç Hastalıkları ve Cerrahi kliniklerine getirilen toplam 7 kedi ve 21 köpeğin nazal ve oral svab örnekleri toplandı. Çevresel kontaminasyonu saptamak için kliniklerde farklı yüzeylerden toplam 33 svab örneği toplandı. Klinik ortamı örnekleri de muayene, ameliyathane, röntgen masaları, sıklıkla kullanımın olduğu odaların kapı kulpları, özellikle muayene odalarının bulunduğu kattaki tuvalet kapıları gibi yoğun

temasın bulunduğu yerlerden toplandı. Kedi ve köpeklerden alınan örnekler 1 aylık süre içerisinde toplanırken, klinik ortamı ve personelden alınan örnekler her bölüm içerisinde tek bir günde toplandı. Klinik ortamından alınan örnekler özellikle hafta ortası günlerde ve gün sonuna doğru toplandı. Tüm örnekler hasta sahiplerinin ve personelin kendi bilgisinde ve izinleri ile toplanmıştır.

Swab örnekleri %7 sodyum klorür (NaCl) içeren Tryptone Soya Broth (TSB, Oxoid, Hampshire, United Kingdom) bulunan tüplere aktarıldı, 24 saat süreyle 37°C de inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon süresi sonunda oxacillin (2 µg/ml) ve polymyxin (5 µg/ml) ilave edilmiş Mannitol Salt Agar (MSA, Oxoid)'a pasajları yapıldı. Ön tarama besiyerinde üremiş olan izolatların hepsi saflaştırıldıktan sonra metisilin direncinin doğrulanması amacıyla öncelikle disk difüzyon testi yapıldı (NCCLS, 1997). Ayrıca izolatlar *mecA* geninin saptanmasına yönelik olarak *mecA*-fwd (5'-GTA GAA ATG ACT GAA CGT CCG ATA A-3') and *mecA*-rev (5'- CCA ATT CCA CAT TGT TTC GGT CTA A- 3') primerleri kullanılarak PCR ile incelendi (Jonas ve ark., 2002). PCR sonucunda *mecA* genini taşıdığı saptanan tüm izolatların biyokimyasal testler yardımıyla tür bazında identifikasyonları yapıldı (Koneman ve ark., 1997).

İdentifikasyonları yapılan izolatlar sonra aynı türlerin kendi içerisinde genotipik tiplendirilmesinin yapılması amacıyla Bogado ve ark. (2002) yöntemine göre Eric-2 (5'-AAG TAA GTG ACT GGG GTG AGC G - 3') primerleri kullanılarak Randomly Amplified Polymorphic DNA Analysis (RAPD analizi) ile incelendi.

İzolatların diğer antibiyotiklere duyarlılıkları disk difüzyon yöntemiyle saptandı. Bu amaçla ticari olarak temin edilen amoxicillin/clavulonic acid (30 µg), ceftriaxone (30 µg), chloramphenicol (30 µg), ciprofloxacin (10 µg), enrofloxacin (5 µg), erythromycin (15 µg), gentamicin (10 µg), kanamycin (30 µg), penicillin (10 U), tetracycline (30 µg), rifampin (5 µg), fusidic acid (10 µg), vancomycin (30

µg), clindamycin (2 µg) emdirilmiş antibiyotik diskleri kullanıldı (NCCLS, 1997, NCCLS, 2004). Test edilen antibiyotiklerden en az dördüne orta duyarlı ya da dirençli olan izolatlar "çoğul dirençli izolatlar" olarak değerlendirildi (van Duijkeren ve ark., 2004).

Bulgular

Yedi kedinin 3 (%42,9)'ünden, 21 köpeğin 5 (%23,8)'inden metisiline dirençli koagulaz negatif stafilkoklar (MRCoNS) izole edildi. Klinik ortamlarından toplanan 33 çevresel örneğin 19 (%57,6)'undan, bir örnekten iki farklı izolat olmak üzere toplam 20 MRCoNS izole edildi. Personelden toplanan 18 swab örneğinin 13 (%72,2)'ünden MRCoNS izole edildi.

Örneklerin hiçbirinden metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) izole edilmezken, her iki örnek grubunda da en yüksek oranda *S. hominis* izole edildi. İzole edilen Stafilkok türlerinin dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Fenotipik özelliklerine göre isimlendirilen izolatlar kendi aralarında genotipik olarak tiplendirilmesi amacıyla RAPD ile incelendi. Toplam 27 *S. hominis* izolatının 9 farklı RAPD profili olduğu gözlemlendi. Özellikle aynı katlarda bulunan personelde, ya da çevresel örneklerde aynı profiller gözlemlendi. Ayrıca Cerrahi polikliniğinde operasyona alınan bir hayvanın burun svabından ve o gün ameliyat olduğu masadan alınan örnekte aynı profile sahip *S. hominis* türleri izole edildi. Beş *S. epidermidis* izolatının üç; üç *S. haemolyticus* izolatının iki farklı RAPD profillerine sahip oldukları, üç *S. xylosus* ve iki *S. simulans* izolatının da kendi içlerinde tek bir RAPD profiline sahip oldukları gözlemlendi.

İzole edilen bakteri türlerinin ayrımı yapılmaksızın genel olarak eritromisin, penisilin G, tetrasiklin ve siprofloksasine direnç saptandı. İzolatların kaynaklarına göre antibiyotik duyarlılık profilleri Tablo 2, Tablo 3 ve Tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 1. İzole edilen Stafilokok türlerinin dağılımı.**Table 1.** Diversity of isolated *Staphylococcus* spp.

Bakteri Türü	İnceleme örneği				Toplam
	Kedi	Köpek	Çevre	Personel	
<i>S. haemolyticus</i>		1	2		3
<i>S. hominis</i>	1	4	12	10	27
<i>S. simulans</i>	1		1		2
<i>S. epidermidis</i>			2	3	5
<i>S. warneri</i>			1		1
<i>S. xylosus</i>	1		2		3
Toplam	3	5	20	13	41

Tablo 2. Kedi ve köpek izolatlarının antibiyotik duyarlılık profilleri.**Table 2.** Antibiotic susceptiblity profiles of the canine and feline isolates.

İzolat No	Tür							
	<i>S. hominis</i> n=5					<i>S. haemolyticus</i> n=1	<i>S. xylosus</i> n=1	<i>S. simulans</i> n=1
	1	2	3	4	5	6	7	8
CRO	S	I	I	I	R	R	I	S
E	R	R	R	R	S	R	S	S
TE	S	R	S	R	S	R	R	S
AMC	S	S	S	S	S	R	R	S
P	S	R	R	R	R	R	R	S
CIP	R	S	R	R	R	R	S	S
ENR	R	S	I	I	R	R	S	S
C	S	S	S	R	S	R	S	S
K	S	R	S	S	S	R	R	S
CN	S	R	S	S	S	R	R	S
RA	S	S	S	S	S	S	S	S
Fc	S	S	S	S	S	S	I	S
VA	S	S	S	S	S	S	S	S
CD	S	S	S	R	S	I	I	I

CRO= ceftriaxone (30 µg); E= erythromycin (15 µg); TE= tetracycline (30 µg); AMC= amoxicillin/clavulonic acid (30 µg); P= penicillin (10 U); CIP= ciprofloxacin (10 µg); ENR= enrofloxacin(5 µg); C= chloramphenicol (30 µg); K= kanamycin (30 µg); CN= gentamicin(10 µg); RA= rifampin(5 µg); FC= fusidic acid (10 µg); VA= vancomycin (30 µg); CD= clindamycin (2 µg); R= resistant (dirençli); I= Intermediate (orta duyarlı); S= Susceptible (duyarlı).

Tablo 3. Personel izolatlarının antibiyotik duyarlılık profilleri.**Table 3.** Antibiotic susceptiblity profiles of the staff isolates.

İzolot No	Tür												
	<i>S. hominis</i> n=10										<i>S. epidermidis</i> n=3		
	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
CRO	S	S	R	R	R	S	R	I	I	S	I	R	S
E	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R
TE	S	R	S	R	R	S	R	S	R	R	S	R	S
AMC	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
P	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
CIP	S	S	R	S	R	S	R	R	S	R	S	S	S
ENR	S	S	I	R	R	S	R	S	S	R	S	S	S
C	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
K	S	I	S	R	S	S	R	S	R	S	R	S	I
CN	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	R	S	S
RA	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S
Fc	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S
VA	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CD	S	R	S	R	I	S	R	R	S	S	R	S	S

CRO= ceftriaxone (30 µg); E= erythromycin (15 µg); TE= tetracycline (30 µg); AMC= amoxicillin/clavulonic acid (30 µg); P= penicillin (10 U); CIP= ciprofloxacin (10 µg); ENR= enrofloxacin(5 µg); C= chloramphenicol (30 µg); K= kanamycin (30 µg); CN= gentamicin(10 µg); RA= rifampin(5 µg); FC= fusidic acid (10 µg); VA= vancomycin (30 µg); CD= clindamycin (2 µg); R= resistant (dirençli); I= Intermediate (orta duyarlı); S= Susceptible (duyarlı).

Tartışma ve Sonuç

Pet hayvanlarından metisilin direncine sahip *S. epidermidis*, *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. hominis*, *S. xylosus*, *S. haemolyticus*, *S. lentus*, *S. sciuri*, *S. warneri* izolasyonları rapor edilmiştir (Bacigil ve ark., 2007; Gortel ve ark., 1999; van Duijkeren ve ark., 2004). Gortel ve ark. (1999), köpek yaralarından ve deri lezyonlarından 25 metisilin dirençli stafilokok izole etmiş, bunların 23 adedinde *mecA* geni varlığını saptamışlardır. Kwon ve ark. (2006), 157 köpeğin sadece üçünde MRSA izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. Epstein ve ark. (2009), 36 köpek nasal svabının 6 tanesinde metisilin dirençli *S. intermedius* izole etmişlerdir. Her geçen yıl yapılan çalışmaların sayısı artmakta, izolasyon oranlarında da artışlar göze çarpmaktadır. Ülkemizde metisilin dirençli stafilokoklar üzerine yapılan çalışmalar çiftlik

hayvanları üzerine yoğunlaşmıştır. Köpeklerle yapılan bir çalışmada 390 nasal svab örneğinden 80 adedinde *S. aureus* izole edilmiş ve bunların sadece 3 (%3,75)'ünde *mecA* geni saptanmıştır (Fındık ve ark., 2009). Bu çalışmamızda özellikle kliniklerde çalışan personel için mevcut riskleri görebilmek için, bir aylık kısa bir süre içerisinde aynı ortamdaki insan, kedi, köpek ve çevresel yüzeylerden örnekler toplanarak bir tarama yapılmıştır. Örneklerden MRSA izole edilmemiş, ancak her bir örnek grubundan değişen oranlarda metisilin dirençli stafilokok türleri izole edilmiştir. Metisiline direnci etkileyen SCCmec kaseti; MRCoNS stafilokoklarla, MRSA izolatlarında aynı olması, metisilin direncinin koagulaz negatiflerde daha sıklıkla karşılaşılması gen transferi şüphesini ortaya koymuştur. *mecA* geninin horizontal olarak *S. haemolyticus* ve *S.*

sciuri gibi koagülaz negatif stafilokoklardan *S. aureus*'a transfer olabilmektedir (Duquette ve Nuttall, 2004; Epstein ve ark., 2009; Yasuda ve ark., 2000). Bu gen transferi gözünde tutulduğunda, bu ön tarama amaçlı çalışmadaki yaklaşık %50 civarında MRCoNS izolasyonu bir uyarı niteliğinde olabileceği düşünülmektedir ve metisilin direncinin gelişimini tetikleyen tüm faktörlere gerekli önem gösterilmesi gerekliliği unutulmamalıdır.

Evlerde beslenen kedi, köpek gibi pet hayvanlarının insanlardaki stafilokokkal infeksiyonlar için bir kaynak olabileceği çok uzun zamandır belirtilmektedir. Ayrıca kontamine çevrenin de ortak kullanımı stafilokokların kross-kontaminasyonu ile sonuçlandığı vurgulanmaktadır (Duquette ve Nuttall, 2004; Moodley ve Guardabassi, 2009). Ancak bunun yanında bu hayvanların da özellikle MRSA'yı yine insanlardan ya da insanlar tarafından kontamine edilmiş çevrelerden aldıkları da belirtilmektedir (Boost ve ark., 2008; Duquette ve Nuttall, 2004; Loeffler ve ark., 2010; Morgan, 2008). Örneğin Scott ve ark. (1988), bir hastane ortamında karşılaşılan MRSA salgınının kaynağı olarak hastanede dolaşan bir kedi olduğunun saptandığını, ancak etkenin asıl kaynağının insan olduğu, çevresel kontaminasyon sonucu kedinin de taşıyıcı duruma geldiği ve bunu takiben salgının devamında rol oynadığını belirtmişlerdir. Loeffler ve ark. (2010), MRSA'nın taşıyıcı köpeklerden sağlıklı hayvanlara kolaylıkla geçişinin söz konusu olmadığını, köpeklerde uygun tedavi sonrası kısa sürede etkenin uzaklaştırıldığını, diğer risk faktörleri olmadığı, çevre hijyeninin olumlu olduğu durumlarda böyle bir geçişin olma riskinin çok düşük olduğunu belirtmişlerdir. Koagülaz negatif stafilokoklar sağlıklı hayvanların florasında bulunabildikleri gibi bazı türleri hayvanlarda infeksiyonlara neden olmaktadır. *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* özellikle cerrahi girişimlerle ilişkili olan insan izolatları olarak bilinmektedirler. Bununla beraber *S. haemolyticus*' un bazı hayvan türlerinin doğal florasında da bulunduğu saptanmıştır. *S. hominis* ise özellikle insanlarda kolonize olan bir türdür. *S. hominis* türleri,

diğer türlere oranla birkaç ay gibi daha kısa süreler için deride kolonize olmaktadır. Koagülaz negatif stafilokok türleri arasında *S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. hominis* sağlıklı insan deri örneklerinden sıklıkla izole edilen türlerdir. Hayvanlardan ise *S. xylosus*, *S. sciuri* türleri izole edilmektedir (Bağcıgil ve ark., 2007; Kitao, 2003; Moodley ve Guardabassi, 2009; Nagase ve ark., 2002; van Duijkeren ve ark., 2004). Bu çalışmada izole edilen stafilokokların tür dağılımına bakıldığında; personelden izole edilen türler *S. hominus* ve *S. epidermidis*'ti. Kedi ve köpeklerden izole edilen türler de, *S. hominis* dışında yine bu grup hayvanlarda sıklıkla karşılaşılabilecek türlerdi. Çevresel izolatlar ise her iki grubu yansıtabilecek şekilde bir dağılım göstermekteydi. En sık izole edilen tür *S. hominis*'ti ve bu etken özellikle insanlarda karşılaşılan bir tür olduğu için kliniklerdeki kontaminasyonun daha çok insan kaynaklı olabileceği daha ağırlık kazanmaktadır.

İnsanlarda birçok yere kolonize olabilmesine karşın, *S. aureus* için en sık taşıyıcılık yeri burnun ön boşluğudur. Bunun dışında deri, perineum, farenkste etken lokalize olabilmektedir. Pet hayvanlarında da *S. aureus*, *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). Bu nedenle MRSA yönünden ön tarama amaçlı olarak yapılan bu çalışmada personelden nazal svab ve pet hayvanlarından hem nazal hem de ağızdan svab örnekleri incelendi. Alınan örneklerde MRSA izole edilmemesine karşılık, *S. aureus* taşıyıcılığının bazen geçici taşıyıcılık şeklinde olabileceği (Wertheim ve ark., 2005) düşünüldüğünde, bu tarz taramaların belli periyodlar ile devamlı yapılması gerektiği de unutulmamalıdır.

S. aureus'un burun boşluğuna ulaşmasında da en önemli yollardan biri ellerdir. Kontamine yüzeylerden ellere geçen etken buradan da burun boşluğuna yerleşebilmektedir. Diğer yol direkt hava yolu ile etkenin yerleşmesidir ki bu durum daha az gözlenmektedir (Wertheim ve ark., 2005). Hastane ortamında metisilin

dirençli koagulaz negatif stafilkokların kontaminasyonunu araştırma amaçlı yapılan bir çalışmada, henüz klinik ortamında çalışmaya başlamamış hemşirelik öğrencilerinden MRCoNS izole edilmez iken, klinik çalışmasını yeni bitirmiş öğrencilerin %32,5'inde MRCoNS izolasyonu gerçekleşmiştir (Kitao, 2003). Bu nedenle çalışmada çevresel kontaminasyon riskini araştırma amacıyla gün boyunca elle temasın yoğun olduğu yüzeylerden örnek alınmasına dikkat edildi. Çalışmada MRSA izole edilmemiş olması sevindirici olmakla birlikte, personelden izole edilen etkenlerle çevresel etkenlerin benzer olması olası bir MRSA olgusu/salgını sırasında dezenfeksiyon işlemlerinin önemini tekrar vurgulamaktadır.

Kruse ve ark. (1996), penisilin direncinin yanında, ülkedeki antibiyotik kullanımının bir yansıması olarak eritromisin ve linkosamidlere karşı direncinden göze çarptığını vurgulamışlardır. Boost ve ark. (2008), *S. aureus* izolatları arasında penisilin, eritromisin, tetrasiklin ve fusidik aside dirençlilik oranını yüksek saptamışlar bu direnç oluşumunu bu preparatların veteriner hekimlik alanında kullanımının fazla olmasından kaynaklandığını düşünmüşlerdir. Bu çalışmada da her üç örnek grubundaki izolatlarda da penisilinden sonra en fazla eritromisine ve tetrasikline direnç göze çarpmaktaydı. Her üç antibiyotik ülkemizde veteriner kliniklerinde sıklıkla kullanılan antibiyotiklerdir. Bu hem düzensiz antibiyotik kullanımının bir yansıması olarak değerlendirilebileceği gibi özellikle belli infeksiyonların tedavisinde ilk akla gelen bu ajanların kullanımını da sınırlandırmaktadır.

Enrofloksasin ülkemizde pet hayvanlarında kullanımı olan bir antibiyotiktir, bunun yanında bazı infeksiyonlarda siprofloksasin preparatları da kullanılmaktadır. İnsanlarda ise siprofloksasinin kullanımı daha yüksektir. Bu çalışmada özellikle kedi-köpek izolatlarında siprofloksasin ve enrofloksasine direnç %50'ler civarında seyretmekteydi. Günümüzde pet hayvanlarında özellikle Gram pozitif kok infeksiyonlarında β -laktam grubu antibiyotiklerin kullanımının daha yoğun olması; siprofloksasinin insan hekimliğinde önemli bir alternatif olduğunun veteriner hekimlerce

bilinmesi nedeniyle az kullanımı sonucu, henüz enrofloksasine çok yüksek bir direnç gelişmediği gözlenmiştir, ancak daha ileri dönemlerde bu grup antibiyotiklere direnç te önemli sorun oluşturabilecek gibi görünmektedir.

Varges ve ark. (2009), çoğul direncin %40 ların üzerinde olduğu çalışmalarında, amoksisilin klavulonik asit kombinasyonuna direncin %20 seviyelerinde olduğunu, köpeklerde stafilkokkal infeksiyonlarda klinik açıdan kullanımının daha yararlı olabileceğini gözlemlemişlerdir. Bu çalışmadaki elde edilen izolatlar arasında amoksisilin klavulonik aside direnç %15 ile %25 arasında değişmekteydi ki bu da gerekli durumlarda tedavide laboratuvar sonuçları çıkana kadar bu antibiyotiğin kullanımına olanak vermektedir.

Varges ve ark. (2009), eksternal oküler hastalık olgularından izole ettikleri stafilkok türlerinin %42,5'inde çoğul dirençlilik saptadıklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca bir izolatlarının kullanılan tüm antibiyotiklere dirençli olduğunu saptadıklarını, bu gibi çoğul dirençliliklerin köpeklerde "süper-dirençli" bakteriyel infeksiyonların varlığının bir kanıtı olduğunu, tedavisi güç infeksiyonların bir uyarısı olduğunu yorumlamışlardır. Van Duijkeren ve ark. (2004), 10 *mec-A* pozitif stafilkok türünün biri hariç hepsinin çoğul dirence sahip olduklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada kedi köpek izolatlarının %75'inde, personel izolatlarının %76,9'unda ve çevresel izolatların da %80'inde çoğul dirençlilik saptandı. Bu durum gereksiz antibiyotik kullanımının oluşturabileceği risklere önemli bir örnek olarak düşünülmektedir. Koagulaz negatif stafilkoklar çoğu zaman flora bakterisi olarak kabul edilse de özellikle hastane ortamlarında immun sistemi zayıflamış insan ve hayvanlarda ciddi infeksiyonlara neden olabilmektedir. Bir müdahale sırasında uygun giriş yolunu buldukları durumlarda oluşturacakları infeksiyonlarda bu çoğul antibiyotik direnci tedavide ciddi sorunlara neden olabileceği unutulmamalıdır.

Tablo 4. Çevresel izolatların antibiyotik duyarlılık profilleri.**Table 4.** Antibiotic susceptibility profiles of the environmental isolates.

İzolot No	Tür																			
	<i>S. hominis</i> n=12												<i>S. epidermidis</i> n=2		<i>S. xylosum</i> n=2		<i>S. haemolyticus</i> n=2		<i>S. simulans</i> n=1	<i>S. warneri</i> n=1
	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41
CRO	I	I	I	R	I	I	I	I	I	I	I	S	S	R	R	I	R	R	I	I
E	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	I	S
TE	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	S	S	R	S	R
AMC	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	S	R	R	S	S
P	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R
CIP	R	I	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
ENR	I	I	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
C	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S
K	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S
CN	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S	R	S	R
RA	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R
Fc	S	R	R	R	S	R	I	R	S	S	S	R	S	R	I	S	I	S	S	S
VA	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CD	S	S	R	R	S	R	S	S	S	S	R	S	I	R	R	S	I	S	S	S

CRO= ceftriaxone (30 µg); E= erythromycin (15 µg); TE= tetracycline (30 µg); AMC= amoxicillin/clavulonic acid (30 µg); P= penicillin (10 U); CIP= ciprofloxacin (10 µg); ENR= enrofloxacin(5 µg); C= chloramphenicol (30 µg); K= kanamycin (30 µg); CN= gentamicin(10 µg); RA= rifampin(5 µg); FC= fusidic acid (10 µg); VA= vancomycin (30 µg); CD= clindamycin (2 µg); R= resistant (dirençli); I= Intermediate (orta duyarlı); S= Susceptible (duyarlı).

Sonuç olarak, ön tarama amaçlı olarak yapılan bu çalışmada MRSA izole edilmemesi sevindirici olmakla birlikte, *mecA* geninin türler arasındaki transferi olasılığı gözünde tutulduğunda, metisilin direncinin gelişimini tetikleyen tüm faktörlere gerekli önemin gösterilmesi gerekmektedir. Gelişigüzel antibiyotik kullanımı, bu antimikrobiyal ajanlara duyarlılığı düşürmektedir. Bu tarz direnç tablolarının şekillenmemesi için de özellikle bakteriyel infeksiyonların tedavisinde antibiyogram duyarlılık testi sonuçlarına göre uygun antibiyotiğin belirlenmesi ve tedaviye başlanması gerekmektedir. Ayrıca türler arasındaki bulaşma da önemli rol oynayan çevresel kontaminasyon riskini en minimumda tutmak için özellikle hastane, klinik gibi ortamlarda dezenfeksiyon protokolleri aksatılmamalıdır.

KAYNAKLAR

- Armand-Lefevre, L., Ruimy, R., Andreumont, A., 2005.** Clonal comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from healthy pig farmers, human control, and pigs. *Emerging Infectious Diseases* 11 (5), 711-714.
- Bagcigil, F.A., Moodley, A., Baptiste, K.E., Jensen, V.F., Guardabassi, L., 2007.** Occurrence, species distribution, antimicrobial resistance and clonality of methicillin- and erythromycin-resistant staphylococci in the nasal cavity of domestic animals. *Veterinary Microbiology* 121 (3-4), 307-315.
- Bogado, I., Limansky, A., Sutich, E., Marchiaro, P., Marzi, M., Putero J., Viale, A., 2002.** Molecular characterization of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from a neonatal intensive care unit. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 23 (8), 447-451.
- Boost, M.V., O'Donoghue, M.M., James, A., 2008.** Prevalence of *Staphylococcus aureus* carriage among dogs and their owners. *Epidemiology and Infection* 136 (7), 953-964.
- Busscher, J.F., van Duijkeren, E., van Oldrutenborgh-Oosterbaan, S., 2006.** The prevalence of methicillin-resistant staphylococci in healthy horses in the Netherlands. *Veterinary Microbiology* 113 (1-2), 131-136.
- Duquette, R.A., Nuttall, T.J., 2004.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dogs and cats: an emerging problem? *Journal of Small Animal Practice* 45 (12), 591- 597.
- Epstein, C.R., Yam, W.C., Peiris, J.S.M., Epstein, R.J., 2009.** Methicillin-resistant commensal staphylococci in healthy dogs as a potential zoonotic reservoir for community-acquired antibiotic resistance. *Infection, Genetics and Evolution* 9 (2), 283-285.
- Fındık, A., Akan, N., Onuk, E.E., Çakıroğlu, D., Çiftçi, A., 2009.** Methicillin resistance profile and molecular typing of *Staphylococcus aureus* strains isolated from noses of the healthy dogs. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 15 (6), 925-930.
- Gortel, K., Campbell, K.L., Kakoma, I., Whittam, T., Schaeffer, D.J., Weisiger, R.M., 1999.** Methicillin resistance among staphylococci isolated from dogs. *American Journal of Veterinary Research* 60 (12), 1526-1530.
- Jonas, D., Speck, M., Daschner, F.D., Grundmann, H., 2002.** Rapid PCR-based identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from screening swabs. *Journal of Clinical Microbiology* 40 (5), 1821-1823
- Kitao, T., 2003.** Survey of methicillin-resistant coagulase negative staphylococci isolated from the fingers of nursing students. *Journal of Infection and Chemotherapy* 9 (1), 30-34.
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Winn, W.C., 1997.** Chapter II: The Gram positive cocci: Part I: Staphylococci and related organisms. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th edition, Lippincott, Philadelphia, New York. pp. 539-555.
- Kruse, H., Hofshagen, M., Thoresen, S.I., Bredal, W.P., Vollset, I., Soli, N.E., 1996.** The antimicrobial susceptibility of staphylococcus species isolated from canine dermatitis. *Veterinary Research Communications* 20 (3), 205-214.
- Kwon, N.H., Park, K.T., Jung, W.K., Youn, H.Y., Lee, Y., Kim, S.H., Bae, W., Lim, J.Y., Kim, J.Y., Kim, J.M., Hong, S.K., Park, Y.H., 2006.** Characteristics of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat and hospitalized dogs in Korea and their epidemiological relatedness. *Veterinary Microbiology* 117 (2-4), 304-312.

- Loeffler, A., Boag, A.K., Sung, J., Lindsay, J.A., Guardabassi, L., Dalsgaard, A., Smith, H., Stevns, K.B., Lloyd, D.H., 2005.** Prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 56 (4), 692-697.
- Loeffler, A., Pfeiffer, D.U., Lindsay, J.A., Soares-Magalhaes, R., Lloyd, D.H., 2010.** Lack of transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) between apparently healthy dogs in a rescue kennel. *Veterinary Microbiology* 141 (1-2), 178-181.
- Moodley, A., Guardabassi, L., 2009.** Clonal spread of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci among horses, personnel and environmental sites at equine facilities. *Veterinary Microbiology* 137(3-4), 397-401.
- Morgan, M., 2008.** Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and animals: zoonosis or humanosis? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 62 (6), 1181-1187.
- Nagase, N., Sasaki, A., Yamashita, K., Shimizu, A., Wakita, Y., Kitai, S., Kawano, J., 2002.** Isolation and species distribution of staphylococci from animal and human skin. *Journal of Veterinary Medical Science* 64 (3), 245-250.
- NCCLS, 1997.** Methods for dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for bacteria that grow aerobically- Fourth Edition, Approved Standard. NCCLS document M7-A4 (ISBN 1-56238-309-4).
- NCCLS, 2004.** Performance standarts for antimicrobial disk and dilution tests for bacteria isolated from animals; Informational supplement. NCCLS document M31-S1 (ISBN 1-56238-534-8)
- Scott, G.M., Thomson, R., Malonelee, R., Ridgway, G.L., 1988.** Cross-infection between animals and man: possible feline transmission of *Staphylococcus aureus* infections in humans? *Journal of Hospital Infection* 12 (1), 29-34.
- Van Duijkeren, E., Box, A.T.A., Heck, M.E.O.C., Wannet, W.J.B., Fluit, A.C., 2004.** Methicillin resistant staphylococci isolated from animals. *Veterinary Microbiology* 103 (1-2), 91-97.
- Varges, R., Penna, B., Martins, G., Martins, R., Lilenbaum, W., 2009.** Antimicrobial susceptibility of staphylococci isoated from naturally occurring canine external ocular diseases. *Veterinary Ophthalmology* 12 (4), 216-220.
- Weese, J. S., Archambault, M., Willey, B.M., Hearn, P., Kreiswirth, B.N., Said-Salim, B., McGeer, A., Likhoshvay, Y., Prescott, J. F., Low, D.E., 2005.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel, 2000-2002. *Emerging Infectious Diseases* 11 (3), 430-435.
- Wertheim, H.F.L., Melles, D.C., Vos, M.C., van Leeuwen, W., van Belkum, A., Verbrugh, H.A., Nouwen, J.L., 2005.** The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *The Lancet Infectious Diseases* 5 (12), 751-762.
- Yasuda, R., Kawano, J., Onda, H., Takagi, M., Shimizu, A., Anzai, T., 2000.** Methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci isolated from healthy horses in Japan. *American Journal of Veterinary Research* 61 (11), 1451-1455.