

Determination of Methicillin Resistance in Coagulase Negative Staphylococci Isolates Obtained from Dogs

Özgül GÜLAYDIN^{1*}, İsmail Hakkı EKİN², Ziya İLHAN³, Muazzez YEŞİLYURT¹, Berivan KAPLAN⁴, Rabia ÇELİK⁴

¹Siirt University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, 56000, Siirt, Türkiye

²Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, 65000, Van, Türkiye

³Balikesir University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, 10000, Balikesir, Türkiye

⁴Van Yüzüncü Yıl University, Institute of Health Sciences, Department of Veterinary Microbiology, 65000, Van, Türkiye

ABSTRACT

Although coagulase negative staphylococci are opportunistic pathogens, they are also isolated from various disease cases in dogs. Methicillin resistant staphylococci also show resistance to other β -lactam group antibiotics, which limits treatment options. In this study, determination of methicillin resistance in coagulase negative *Staphylococcus* spp. isolates isolated from various samples taken from healthy and sick dogs was aimed. Agar dilution method was used for the determination of methicillin resistance in the isolates. Eighty nine (20.74%) strains were isolated from the total 429 samples by conventional bacteriological methods. Methicillin resistance was found in 19.10% of the isolates. The *mecA* gene was determined in 11 (64.70%) of the methicillin resistant isolates by PCR. In conclusion, in this study, it was concluded that methicillin resistance should be considered in the treatment of infections in dogs that caused by coagulase negative *Staphylococcus* spp. isolates, known as opportunistic pathogens.

Keywords: Coagulase Negative *Staphylococcus* spp., Dog, *MecA*, Methicillin resistance

Köpeklerden Elde Edilen Koagülaz Negatif Stafilokok İzolatlarında Metisilin Direncinin Araştırılması

ÖZ

Koagülaz negatif stafilokoklar, fırsatçı patojen olmalarının yanı sıra köpeklerde çeşitli hastalık olgularından da izole edilmektedir. Metisilin dirençli stafilokoklar diğer β -laktam grubu antibiyotiklere karşı da direnç göstermekte ve bu durum tedavi seçeneklerini kısıtlamaktadır. Bu çalışmada, sağlıklı görünen ve hasta olduğu belirlenen köpeklerden alınan çeşitli örneklerden izole edilen koagülaz negatif *Staphylococcus* spp. izolatlarında metisilin direncinin belirlenmesi amaçlandı. İzolatlarda metisilin direnci agar dilüsyon yöntemiyle belirlendi. Toplam 429 örnekten konvansiyonel bakteriyolojik yöntemlerle 89 (%20.74) adet koagülaz negatif *Staphylococcus* spp. izole edildi. İzolatların %19.10'u metisiline dirençli bulundu. Metisilin dirençli izolatların 11 (%64.70)'ünde PCR ile *mecA* geni tespit edildi. Sonuç olarak, bu çalışmada fırsatçı patojenler olarak bilinen koagülaz negatif *Staphylococcus* spp. izolatlarının köpeklerde neden olabileceği enfeksiyonların tedavisinde metisilin direncine dikkat edilmesi gerektiği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Koagülaz Negatif *Staphylococcus* spp., Köpek, *MecA*, Metisilin Direnci

To cite this article: Gülaydın Ö, Ekin İ.H, İlhan Z, Yeşilyurt M, Kaplan B, Çelik R. Determination Of Methicillin Resistance in Coagulase Negative Staphylococci Isolates Obtained From Dogs. Kocatepe Vet J. (2022) 15(4):368-373

Submission: 07.05.2022 Accepted: 05.10.2022 Published Online: 12.10.2022

ORCID ID; ÖG: 0000-0001-8376-2008, İHE: 0000-0001-5029-8130, Zİ: 0000-0003-3638-9196, MY: 0000-0003-4195-633, BK: 0000-0003-1671-8562,

RÇ: 0000-0002-6136-0443

*Corresponding author e-mail: ozgul.gulaydin@siirt.edu.tr

Stafilokoklar, insan ve hayvanların deri ve mukoz membranları ile gastrointestinal sistemlerinin doğal florasında bulunmaktadır (Misic ve ark. 2015, Bierowiec ve ark. 2016). Özellikle burun boşluğu mukozasında yer alan etkenlerin, hayvanlar ve insanlar arasında bulaşmada kritik öneme sahip olduğu vurgulanmaktadır (Quinn ve ark. 2011).

Koagulaz enzimi stafilokok türlerinin virülens özelliklerinin belirlenmesinde önemli bir kriter olarak kabul edilmekte ve stafilokok türleri, koagulaz negatif stafilokok (KNS) ve koagulaz pozitif stafilokok (KPS) olarak 2 ana gruba ayrılmaktadır (Quinn ve ark. 2011). KNS izolatlarının hastalık yapma yeteneklerinin sınırlı olduğu düşünülse de, köpeklerde yara enfeksiyonu, otitis eksterna, apse, pyoderma ve konjunktivitis vakalarından izole edilmektedir (Kloos ve Bannerman 1995, Litster ve ark. 2007, Hariharan ve ark. 2009, Suter ve ark. 2017).

Metisilin, bakterilerde hücre duvarı sentezi için gerekli olan penisilin bağlayan proteinleri (PBP) bloke ederek etkisini göstermektedir. Metisilin direnci stafilokok izolatlarında en sık rastlanan direnç mekanizması olup, hem halk sağlığını hem de hayvan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir (Chah ve ark. 2014, Samanta ve Bandyopadhyay 2020). KNS izolatlarında metisilin direncinin fenotipik olarak, sefoksitin (30 µg) diskinin kullanıldığı disk difüzyon testi ya da oksasilin minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri belirlenerek tespit edilmesi gerektiği belirtilmektedir (CLSI 2018).

Metisilin dirençli stafilokoklar beta laktam antibiyotiklerin daha az afinite duyduğu PBP2a'yı sentezleyerek direnç geliştirmişlerdir (Lim ve Strynadka 2002). PBP2a *mecA* geni tarafından kodlanmaktadır ve bu genin *Staphylococcus sciuri* ve *Staphylococcus fleuretti* izolatlarından *Staphylococcus aureus* izolatlarına horizontal olarak aktarıldığı bildirilmiştir (Tsubakishita ve ark. 2010). *MecA* dışında fem, aux ve hmt gibi faktörler de metisilin ya da diğer beta laktam antibiyotiklerin varlığında hücre duvarı sentezini bloke ederek dirence neden olabilmektedir (De Lencastre ve ark. 1999). Ayrıca PBP2a'da meydana gelen nokta mutasyonlar da metisilin direncinden sorumlu tutulan diğer mekanizmalardan biridir (Ba ve ark. 2013). Yapılan çeşitli araştırmalarda da sağlıklı görünen ya da klinik olarak hasta olduğu belirlenen köpeklerden *mecA* geni pozitif metisilin dirençli stafilokok suşlarının izole ve tanımlanması ve bu izolatların halk sağlığı açısından risk teşkil ettiği bildirilmiştir (Aslantaş ve ark. 2013, Gandolfi-Decristopharis ve ark. 2013, Elnageh ve ark. 2020, Khanal ve ark. 2021).

Bu çalışmada sağlıklı görünen ve/veya klinik olarak hasta olduğu tespit edilen köpeklerden alınan çeşitli örneklerden izole edilen KNS suşlarında metisilin direncinin fenotipik ve genotipik karakterizasyonu amaçlandı.

Materyal

Bu çalışmada, Van ve yöresinde klinik olarak sağlıklı görünen köpeklerden alınan 402 adet örnek (idrar=114, vaginal svap=81, rektal svap=115, burun svabı=57 ve kulak svabı=35) ile konjunktivitis ve otitis belirtileri gösteren köpeklerden alınan 20 adet göz svabı ve 7 adet kulak svabı örnekleri kullanıldı.

Metot

İzolasyon ve İdentifikasyon: Svap örnekleri direkt olarak, idrar örnekleri ise Papini ve ark. (2006)'nın bildirdiği yöntemle göre santrifüj edildikten sonra %5-7 oranında defibrine koyun kanı katılmış Columbia blood agar (Oxoid, CM 03331, İngiltere) ve Mannitol Salt Agar (Oxoid, CM85, İngiltere) besiyerine ekilerek, aerobik ortamda 37°C'de 24 saat inkübasyon periyoduna bırakıldı. Besiyerlerinde oluşan kolonilerden saf kültürler elde edildi. Saf kültürlerden alınan koloniler, Gram boyama, katalaz ve oksidaz reaksiyonu ile Mannitol Salt Agar besiyerinde üreme sonuçlarına göre değerlendirildi (Quinn ve ark. 2011). Stafilokok olarak belirlenen izolatların koagulaz reaksiyonunun belirlenmesinde tüp koagulaz testi uygulandı (Carter 1984).

Metisiline Karşı Duyarlılığın Belirlenmesi: Araştırmada incelenen KNS izolatlarının metisiline karşı duyarlılığı agar dilüsyon yöntemiyle belirlendi (CLSI 2018). Testte oxacillin sodium salt (28211-1G, Sigma, China) kullanıldı. Antimikrobiyal madde steril distile su ile sulandırılarak, Mueller Hinton Agar (Merck 1.05437, Almanya) besiyerinde 0.125 µg/ml'den 512 µg/ml'ye kadar dilüsyonları hazırlandı. Taze kültürlerden elde edilen izolatlar, steril fizyolojik tuzlu suda 0.5 MacFarland yoğunluğuna eşit olacak şekilde süspanse edildi. Hazırlanan süspansiyondan 1'er µl alınarak antibiyotik dilüsyonlarının ilave edildiği besiyerlerine ayrı ayrı inoküle edildi. Teste referans suş olarak *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 kullanıldı.

MecA Geninin Belirlenmesi:

Metisiline karşı dirençli olduğu belirlenen izolatlarda *mecA* geninin varlığı gen spesifik primerlerin (Zhang ve ark. 2005) kullanıldığı PCR ile araştırıldı. PCR işlemlerinde kullanılan genomik DNA, ticari genomik DNA izolasyon kiti (GeneAll, Exgene™ Clinic SV Mini, 108.101, Korea) kullanılarak elde edildi. Amplifikasyon protokolünde 94°C'de 10 dk ön denatürasyon aşamasını takiben toplam 35 siklusluk PCR işleminde 94°C'de 1 dk denatürasyon, 53°C'de 1 dk bağlanma ve 72°C'de 1 dk uzama aşamaları uygulandı. Final uzaması 72°C'de 10 dk olarak ayarlandı. PCR sonucu elde edilen ampikonlar %1.5'lik agaroz jelde elektroforeze tabi tutuldu. Ampikonlar DNA marker ile karşılaştırılarak UV translüminatörde

incelendi ve 147 bp'lik bant oluşturanlar *mecA* pozitif olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmada incelenen toplam 429 örnekten bakteriyolojik konvansiyonel yöntemlerle 89 (%20.74) adet koagulaz negatif *Staphylococcus* spp. izolatu elde edildi. İdrar örneklerinden 7 (%6.14), vaginal svap örneklerinden 5 (%6.17), rektal svap örneklerinden 4 (%3.47), burun svabı örneklerinden 43 (%75), kulak svabı örneklerinden 25 (%59), göz svabı örneklerinden ise 5 (%25) adet koagulaz negatif *Staphylococcus* spp. suşu izole edildi.

İncelenen 89 adet KNS suşunda belirlenen oksasiline MİK değerleri Tablo 1'de gösterildi. Yapılan değerlendirmede oksasiline için MİK₅₀ değeri 0.25

µg/ml, MİK₉₀ değeri ise 512 µg/ml olarak tespit edildi. MİK değerleri dikkate alındığında 89 izolatu 17 (%19.10)'si metisiline (oksasiline) dirençli bulundu. Metisiline dirençli izolatların çoğunluğu (%58.82) burun svabı örneklerinden elde edildi. Sağlıklı görünen ya da hastalık olgusu tespit edilen köpeklerden alınan örneklerden metisiline dirençli KNS izolasyon oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmedi ($p>0.05$).

Metisiline karşı fenotipik olarak direnç tespit edilen izolatlarda metisiline direncinden sorumlu *mecA* geninin varlığı PCR ile araştırıldı. Metisiline dirençli olduğu belirlenen 17 izolatu 11 (%64.70)'inde *mecA* geni belirlendi (Tablo 2).

Tablo 1. Koagulaz negatif *Staphylococcus* spp. izolatlarında (n=89) oksasiline MİK değerinin dağılımı.

Table 1. Distribution of oxacillin MIC value in coagulase negative *Staphylococcus* spp. isolates (n=89).

Antibiyotik	MİK (µg/ml)														
	0.125	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	>512	
OX	41	<u>31</u>	4	1	0	0	0	0	0	1	0	1	9	1	

Ox: Oksasiline

Altı Çizili Değer: MİK₅₀

Koyu Renkli Değer: MİK₉₀

Tablo 2. Metisiline (oksasiline) dirençli izolatlarda *mecA* gen pozitifliğinin dağılımı.

Table 2. Distribution of *mecA* gene positivity in methicillin (oxacillin) resistant isolates.

İzolat No	Kaynak	MİK (µg/ml)	<i>mecA</i>
4	Burun Svabı	512	+
5	Burun Svabı	0.50	-
6	Burun Svabı	512	+
8	Burun Svabı	512	+
9	Burun Svabı	0.50	-
27	Göz Svabı (Konjunktivitis)	>512	+
28	Kulak Svabı (Otitis)	0.50	-
35	İdrar	256	+
38	Vaginal Svap	0.50	+
55	Kulak Svabı	512	+
56	Kulak Svabı	512	-
66	Kulak Svabı	64	-
70	Burun Svabı	512	+
77	Burun Svabı	512	+
81	Burun Svabı	512	+
83	Burun Svabı	1	-
86	Burun Svabı	512	+

TARTIŞMA

Beşeri hekimlikte nazokomiyal enfeksiyonlardan sıklıkla izole edildiği bildirilen metisiline dirençli stafilkok türleri, sağlıklı hayvanların mukoz

membranlarının doğal florasında bulunabildiği gibi hastalık olgularından da izole ve tanımlanmaktadır (Yiğit ve ark. 2008, Köck ve ark. 2010, Dantes ve ark. 2013). KPS suşlarının KNS suşlarına göre virülenslerinin daha yüksek olduğu

düşünülmektedir. Ancak hem beşeri hekimlikte, hem de veteriner hekimlikte KNS suşlarının neden olduğu enfeksiyonların oranları gün geçtikçe artmaktadır. KNS izolatları, antimikrobiyal direnç gelişiminde rol oynayan genleri suşlar arasında aktarma özelliğine de sahiptir (Nemeghaire ve ark. 2014, Suepaul ve ark. 2021).

Çeşitli araştırmalarda insanların sosyal hayatlarında yakın temas halinde oldukları köpeklerin, antimikrobiyal maddelere karşı dirençli olan bakteriyel etkenleri taşıyıcı konumunda olduklarına dikkat çekilmektedir (Aslantaş ve ark. 2013, Chah ve ark. 2014, Siugzdaite ve Gabinaitiene 2017, Teixeira ve ark. 2019, Elnageh ve ark. 2020).

Aslantaş ve ark. (2013) sağlıklı köpeklerden aldıkları 162 nazal svap örneğinin %15.43'ünde metisilin dirençli KNS suşunun izole edildiğini bildirmişlerdir. Benzer başka bir çalışmada da bu oran %16.7 olarak rapor edilmiştir (Gomez-Sanz ve ark. 2019). Pet hayvanlarında farklı klinik olgulardan alınan svap örneklerinden %20.51 oranında metisilin dirençli KNS izole edildiği bildirilmiştir (Göçmen ve ark. 2020). Evcil memeli hayvanlardan alınan çeşitli klinik örneklerin ise %23.88'inde metisilin dirençli KNS izole ve identifiye edildiği belirtilmiştir (Göçmen ve ark., 2018). Khanal ve ark. (2021) köpek nazal svap örneklerinden metisilin dirençli KNS suşunun izolasyon oranının %23.6, Elnageh ve ark. (2020) ise %18.75 olduğunu rapor etmişlerdir. Buna karşın Abdel-Moein ve Zaher (2020) köpeklerden aldıkları nazal svap örneklerinden sınırlı sayıda (%3.2) metisilin dirençli KNS izole ettiklerini bildirmişlerdir. Köpeklerden alınan inguinal svap, kulak svabı, rektal svap örnekleri ile pyoderma ve otitis externa vakalarında metisilin dirençli KNS izolasyon oranının ise %6-14 arasında değiştiği bildirilmektedir (Gandolfi-Decristopharis ve ark. 2013, Chah ve ark. 2014, Siugzdaite ve Gabinaitiene 2017, Teixeira ve ark. 2019).

Yapılan değerlendirmede sağlıklı ve/veya hasta olduğu belirlenen köpeklerden alınan çeşitli örneklerde metisilin dirençli KNS izolasyon oranının %3-25 arasında değiştiği belirlendi. Sunulan bu çalışmada da sağlıklı görünen ve/veya klinik olarak hastalık tespit edilen köpeklerden alınan örneklerden metisilin dirençli KNS izolasyon oranının %3.96 olduğu belirlendi. Elde edilen verinin Abdel-Moein ve Zaher (2020)'in bildirdiği sonuçlarla uyumlu olduğu, diğer çalışmalarda bildirilen izolasyon oranına göre ise düşük olduğu görüldü. Bu duruma kullanılan test yöntemlerindeki farklılıkların ya da örnekleme yapılan köpeklerde daha önceden uygulanan antibiyotik tedavi protokollerinin neden olabileceği düşünüldü.

Metisilin dirençli stafilocok izolatlarının diğer β -laktam grubu antimikrobiyal maddelere karşı da

dirençli olarak rapor edilmesi gerektiği önemle vurgulanmaktadır. Bunun yanı sıra izolatlarda direnç mekanizmasının açıklanmasında *mecA* gen pozitifliğinin araştırılması gerektiği, *mecC* geninin neden olduğu metisilin dirençlilik oranının oldukça nadir olarak karşılaşıldığı belirtilmektedir (CLSI 2018). Köpeklerden alınan örneklerden izole edilen metisilin dirençli stafilocok suşlarında *mecA* gen varlığının araştırıldığı çalışmaların çoğunda izolatların tamamında ilgili genin pozitif olduğu rapor edilmiştir (Aslantaş ve ark. 2013, Gandolfi-Decristopharis ve ark. 2013, Chah ve ark. 2014, Teixeira ve ark. 2019, Khanal ve ark. 2021). Elnageh ve ark. (2020) ise metisilin dirençli KNS izolatlarının %11.11'inde *mecA* geni tespit ettiklerini bildirirken, Abdel-Moein ve Zaher (2020) izole ettikleri 1 adet metisilin dirençli KNS izolatının *mecA* negatif olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmada ise 17 adet metisilin dirençli KNS izolatının çoğunda (%64.70) *mecA* geni PCR ile pozitif bulundu. Geri kalan 6 (%35.30) izolatta metisilin direncinden diğer direnç mekanizmalarının sorumlu olabileceği (Ba ve ark. 2013, CLSI 2018) düşünüldü.

SONUÇ

Sonuç olarak bu çalışmada metisilin dirençli koagülaz negatif *Staphylococcus* spp. izolatlarının köpeklerde hem doğal floradan hem de enfeksiyon olgularından izole edilebileceği belirlendi. KNS izolatlarında *mecA* geninin rol oynadığı metisilin direncine dikkat edilmesi gerektiği belirlenirken, suşların hayvan sağlığının yanı sıra halk sağlığı açısından da önem arz edebileceği görüldü. İleriki çalışmalarda pet hayvanlarında özellikle hastalık olgularından izole edilecek suşlarda metisilin dirençliliğinin belirlenmesinin epidemiyolojik çalışmalara katkı sağlayacağı kanaatine varıldı.

Finansal destek: Bu çalışma hiçbir kurum ya da kuruluş tarafından maddi olarak desteklenmemiştir.

Etik izin: Bu çalışma "Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik" Madde 8 (k) gereği HADYEK iznine tabi değildir (Çalışma, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 31.03.2022 tarih ve 2022/03-28 nolu kararı ile onaylandı).

Çıkar çatışması: Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Yazarların Katkı Oranı: ÖG:%50, İHE:%15, Zİ:%15, MY: %10, BK:%5, RÇ:%5

KAYNAKLAR

- Abdel-Moein KA, Zaher HM.** The nasal carriage of coagulase-negative staphylococci among animals and its public health implication. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2020; 20(12):897-902.
- Aslantaş Ö, Türkyılmaz S, Yılmaz MA, Yılmaz EŞ.** Prevalence of methicillin-resistant staphylococci in dogs. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2013; 19(1):37-42.
- Ba X, Harrison EM, Edwards GF, Holden MT, Larsen AR, Petersen A, Holmes MA.** Novel mutations in penicillin-binding protein genes in clinical *Staphylococcus aureus* isolates that are methicillin resistant on susceptibility testing, but lack the mec gene. *J Antimicrob Chemother.* 2013; 69(3):594-597.
- Bierowiec K, Płoneczka-Janecko K, Rypuła K.** Is the colonisation of *Staphylococcus aureus* in pets associated with their close contact with owners? *PLoS One.* 2016; 11(5):e0156052.
- Carter GR.** Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology, 4th Ed., Thomas, USA. 1984.
- Chah KF, Gómez-Sanz E, Nwanta JA, Asadu B, Agbo IC, Lozano C, Zarazaga M, Torres C.** Methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from healthy dogs in Nsukka, Nigeria. *Braz J Microbiol.* 2014; 45(1):215-220.
- CLSI.** Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals, 4th Ed., CLSI supplement VET08, Wayne, Pennsylvania. 2018.
- Dantes R, Mu Y, Belflower R, Aragon D, Dumyati G, Harrison LH, Ray SM.** National burden of invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections, United States, 2011. *JAMA Intern Med.* 2013; 173(21):1970-1978.
- De Lencastre H, Wu SW, Pinho MG, Ludovice AM, Filipe S, Gardete S, Tomasz, A.** Antibiotic resistance as a stress response: complete sequencing of a large number of chromosomal loci in *Staphylococcus aureus* strain COL that impact on the expression of resistance to methicillin. *Microb Drug Resist.* 1999; 5(3):163-175.
- Elnageh HR, Hiblu MA, Abbassi MS, Abouzeed YM, Ahmed MO.** Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus* species isolated from cats and dogs. *Open Vet J.* 2020; 10(4):452-456.
- Gandolfi-Decristophoris P, Regula G, Petrini O, Zinsstag J, Schelling E.** Prevalence and risk factors for carriage of multi-drug resistant Staphylococci in healthy cats and dogs. *J Vet Sci.* 2013; 14(4):449-456.
- Gómez-Sanz E, Ceballos S, Ruiz-Ripa L, Zarazaga M, Torres C.** Clonally diverse methicillin and multidrug resistant coagulase negative Staphylococci are ubiquitous and pose transfer ability between pets and their owners. *Front Microbiol.* 2019; 10:485.
- Göçmen H, Tamakan H, Şükür H, Esendal ÖM.** Kedi ve köpeklerden izole edilen *Staphylococcus* türlerinde çoklu ilaç dirençliliğinin araştırılması. Atatürk Üniversitesi Vet Bil. Derg. 2020; 15(2):156-166.
- Göçmen H, Şükür H, Tamakan H, Esendal ÖM.** Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde hayvanlardan izole edilen stafilokok türlerinin metisilin dirençliliği üzerine retrospektif bir çalışma. *Etlık Vet Mikrobiol Derg.* 2018; 29(2):87-93.
- Hariharan H, Sylvester EB, Matthew V.** Clinical isolates of bacteria from domestic cats in Grenada, and their antimicrobial susceptibility. *WIVJ.* 2009; 9:14-16.
- Khanal M, Joshi PR, Paudel S, Acharya M, Rijal KR, Ghimire P, Banjara MR.** Methicillin-resistant coagulase negative staphylococci and their antibiotic susceptibility pattern from healthy dogs and their owners from Kathmandu Valley. *Trop Med Infect Dis.* 2021; 6:194.
- Kloos WE, Bannerman T.** Update on clinical significance of coagulase-negative Staphylococci. *Clin Microbiol Rev.* 1994; 7(1):117-140.
- Köck R, Becker K, Cookson B, van Gemert-Pijnen JE, Harbarth S, Kluytmans JAJW, Tacconelli E.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. *Eurosurveillance.* 2010; 15(41):19688.
- Lim D, Strynadka NC.** Structural basis for the β lactam resistance of PBP2a from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Struct Biol.* 2002; 9(11):870-876.
- Litster A, Moss SM, Honnery M, Rees B, Trott DJ.** Prevalence of bacterial species in cats with clinical signs of lower urinary tract disease: recognition of *Staphylococcus felis* as a possible feline urinary tract pathogen. *Vet Microbiol.* 2007; 121:182-188.
- Misic AM, Davis MF, Tyldsley AS, Hodgkinson BP, Tolomeo P, Hu B, Nachamkin I, Lautenbach E, Morris DO, Grice EA.** The shared microbiota of humans and companion animals as evaluated from Staphylococcus carriage sites. *Microbiome.* 2015; 3:2.
- Nemeghaire S, Argud'n MA, Feßler AT, Hauschild T, Schwarz S, Butaye P.** The ecological importance of the *Staphylococcus sciuri* species group as a reservoir for resistance and virulence genes. *Vet Microbiol.* 2014; 171(3):342-356.
- Papini R, Ebani VV, Cerri D, Guidi G.** Survey on bacterial isolates from dogs with urinary tract infections and their in vitro sensitivity. *Rev Med Vet.* 2006; 157(1):35-45.
- Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, FitzPatrick ES, Fanning S, Hartigan PJ.** *Staphylococcus species*, In: *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*, 2nd Ed., John Wiley & Sons Ltd., UK. 2011. pp. 179-187.
- Samanta I, Bandyopadhyay S.** *Staphylococcus*, In: *Antimicrobial Resistance in Agriculture*, Academic Press, London, UK. 2020. pp. 195-215.
- Siugzdaite J, Gabinaitiene A.** Methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci in healthy dogs. *Vet Med.* 2017; 62(09):479-487.
- Suepaul S, Georges K, Unakal C, Boyen F, Sookhoo J, Ashraph K, Yusuf A, Butaye P.** Determination of the frequency, species distribution and antimicrobial resistance of staphylococci isolated from dogs and their owners in Trinidad. *PLoS One.* 2021; 16(7):e0254048.
- Suter A, Voelter K, Hartnack S, Spiess BM, Pot SA.** Septic keratitis in dogs, cats, and horses in Switzerland: associated bacteria and antibiotic susceptibility. *Vet Ophthalmol.* 2017; 104:353-360.
- Teixeira IM, de Oliveira Ferreira E, de Araújo Penna B.** Dogs as reservoir of methicillin resistant coagulase negative staphylococci strains—A possible neglected risk. *Microb Pathog.* 2019; 135:103616.
- Tsubakishita S, Kuwahara-Arai K, Sasaki T, Hiramatsu K.** Origin and molecular evolution of the determinant of

methicillin resistance in staphylococci. *Antimicrob Agents and Chemother.* 2010; 54(10):4352-4359.

Yiğit N, Aktaş AE, Doğruman Al F. Klinik örneklerden izole edilen stafilokokların metisilin, fusidik asit ve mupirosin direnci. *THDBD.* 2008; 65(1):17-23.

Zhang K, McClure JA, Elsayed S, Louie T, Conly JM. Novel Multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of Staphylococcal cassette chromosome mec types I to V in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2005; 43(10):5026-5033.