



Kedi ve Köpeklerde Metisilin Dirençli *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) Taşıyıcılığı

Hazel TAMAKAN^{1a}, Hüban GÖÇMEN^{1b}✉

1. Yakın Doğu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti.
ORCID: 0000-0002-5515-9727^a, 0000-0001-5405-8943^b

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
19.06.2018	11.11.2018	28.04.2019

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

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

Öz: Dünya genelinde insan ve hayvanlarda stafilocokal enfeksiyonlar giderek yaygınlaşmaktadır. Normal deri florası üyelerinden olan stafilocoklar, fırsatçı patojen olarak çeşitli enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Fenotipik karakterde *Staphylococcus intermedius* olarak tanımlanan izolatlar; *S. intermedius* grubunu (SIG) temsilen *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* ve *S. delphini* dahil olmak üzere üç farklı türden oluşmaktadır. *Staphylococcus pseudintermedius*, nispeten yeni bir tür olup kedi ve köpeklerden sıklıkla izole edilebilmektedir. Yakın zamanda, metisilin dirençli *S. pseudintermedius* (MRSP) dünya çapında ortaya çıkmış ve yayılımının giderek artmakta olduğu bildirilmiştir. Günümüzün önemli halk sağlığı sorunlarından olan çoklu antibiyotik dirençliliği, yeni kuşak antibiyotiklerin ve kombinasyonlarının kullanımını zorunlu hale getirmiştir. Antibiyotik dirençliliği kazanmış mikroorganizmalar, bugün nozokomiyal ve halk sağlığı ile ilişkili enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Nitekim bu kapsamda, özellikle metisilin dirençli stafilocok suşları uzun süredir bu enfeksiyonların ortaya çıkışında önemli rol oynayarak, birçok hastanın ölümüne neden olabilmektedir. Veteriner hekimlikte sürekli artan antibiyotik kullanımı, antibiyotik dirençliliğinin yayılmasında önemli rol oynamaktadır. Son zamanlarda insan ve hayvanlarda MRSP taşıyıcılığı ile ilgili çalışmalar; MRSP izolasyonundaki artışı ve bu da özellikle pet hayvan sahiplerine bakterinin taşınmasındaki artışı göstermektedir. Uygulanan tedavilerdeki başarısızlık ise; metisilin direncini temsil eden sefoksitin ve oksasilin antibiyotiklerine karşı dirençlilik mekanizmasının artışı ifade etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kedi, Köpek, MRSP taşıyıcılığı, *Staphylococcus intermedius* grup, *Staphylococcus pseudintermedius*.

Transmission of Methicillin Resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) in Cats and Dogs

Abstract: Staphylococcal infections are increasingly widespread worldwide in humans and animals. Staphylococci, which are members of normal skin flora, can cause various infections as opportunistic pathogens. The isolates identified as *Staphylococcus intermedius* in phenotypic character; *S. intermedius* group (SIG) is composed of three different species including *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* and *S. delphini*. *Staphylococcus pseudintermedius*, a relatively new species, is frequently isolated from cats and dogs. Recently, methicillin-resistant *S. pseudintermedius* (MRSP) has emerged worldwide and has been reported increasingly. Multiple antibiotic resistance, one of the public health problems, has made necessary to use new generation antibiotics and combinations. Today, antibiotic resistance of microorganisms causes nosocomial and public health related infections. Methicillin resistant staphylococci strains have played an important role in the emergence of these infections for a long time and cause many patients to die. The increasing use of antibiotics in veterinary medicine plays an important role in the spread of antibiotic resistance. Recent studies about the carriage of MRSP in humans and animals showed that increase of MRSP isolation and related to high rate of bacterial transmission to pet owners. The failure in applied treatments indicates that increased of resistance mechanism against cefoxitin and oxacillin antibiotics which representing methicillin resistance.

Keywords: Cat, Dog, Transmission of MRSP, *Staphylococcus intermedius* group, *Staphylococcus pseudintermedius*.

✉Hüban Göçmen

Yakın Doğu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti
e-posta: huban.gocmen@neu.edu.tr

GİRİŞ

İnsan ve hayvanlarda Stafilocok türleri 'fırsatçı patojen' olarak tanımlanmalarının yanında birçok lokal ve genel irinli infeksiyonlara neden olmaktadır. Veteriner hekimlikte önemli Stafilocok türlerinden biri olan *Staphylococcus pseudintermedius*; deride ve mukozada kommensal olarak bulunabilmekte ve sağlıklı köpeklerin ve kedilerin burun, ağız, farenks, alın, kasık ve anüsünden izole edilebilmektedir. Konakçı direncinin düşmediği ve predispoze faktörler (cerrahi işlemler, atopik dermatitis) tarafından cilt bariyeri etkilenmediği sürece herhangi bir hastalığa neden olmamaktadır (1). *S. pseudintermedius*, fırsatçı infeksiyonlara neden olabilmektedir (2). Bunun yanında, *S. pseudintermedius* ile infekte ve/veya kolonize olmuş hayvanlardan insanlara aktarılabilen bu yüzden halk sağlığı açısından endişeye neden olmaktadır. *S. pseudintermedius*, özellikle küçük hayvan veteriner hekimleri ve sahipleri gibi evcil hayvanlarla yakın temasta olan insanların çeşitli infeksiyonlarından da izole edilebilmektedir (3).

1. Taksonomi

Staphylococcus intermedius; 1976 yılında Hajek (4) tarafından köpek, güvercin, vizon ve atlarda meydana gelen infeksiyonlarda tanımlanmıştır. *S. delphini* 1988 yılında Yunus balıklarından; *S. pseudintermedius* ise 2005 yılında kedi, köpek, at ve papağandan izole edilmiştir. *S. pseudintermedius*, 16S rRNA geni sekans analizi tekniği kullanılarak yeni bir tür olarak tanımlanmıştır. Bu iki bakteri, izolasyonlar sonrasında *S. intermedius* ile ilişkilendirilmiştir. Bazı araştırmacılar farklı kaynaklardan izole ettikleri *S. intermedius* suşlarının genotipik ve fenotipik olarak birbirinden ayrı olduklarını bildirmişlerdir. Bu da heterojen biyotipli *S. intermedius* suşlarının, *S. delphini* ve *S. pseudintermedius* türlerini içerebileceğini kanıtlar niteliktedir. Fenotipik özellikleriyle önceden *S. intermedius* olarak tanımlanan izolatlar

moleküler teknikler kullanılarak tekrar sınıflandırılmış ve sonuçta bu izolatlar 3 kümeye ayrılmıştır. Bunlar; *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* ve *S. delphini*. Bu gruplandırma ile *S. pseudintermedius* bakteri türünün, *S. intermedius* grubunun (SIG) türlerinden biri olduğu açıklığa kavuşmuştur (5-8).

2. Etiyoloji

Staphylococcus pseudintermedius, genellikle gruplar halinde bulunan Gram-pozitif koklardan oluşmaktadır. Koloniler, %5-7 koyun kanlı agar da pigmentsiz ve çift zonlu hemoliz ile çevrilidirler. Tamamen hemolitik olmayan dış bant, 4°C'ye (sıcak-soğuk hemoliz) koyulduktan sonra tam hemolize dönüşmekte ve stafilokokal β-hemolizin (sfingomiyelinaz) faktörü sentezlemektedir (5). *S. pseudintermedius*'un biyokimyasal özellikleri tabloda verilmiştir (Tablo 1).

S. pseudintermedius, *Staphylococcus aureus*'un bazı virülens faktörleri ile yakından ilişkilidir. Bu virülens faktörleri, konakçı kolonizasyonundan beslenme ve yayılımına kadar olan süreçlerin tümünü kapsamaktadır. *S. pseudintermedius*; koagülaz, proteaz, termonükleaz gibi enzimleri; eksfoliyatif toksin, enterotoksin gibi toksinleri üretebilmektedir. Eksfoliyatif toksin (SIET), köpek piyodermasında rol oynayan bir virülens faktörüdür, bu toksinin geni esas olarak deri infeksiyonlarından izole edilebilmektedir. Ayrıca *S. pseudintermedius* Luk-I olarak bilinen bir lökotosin üretmekte ve bu lökotosin *S. aureus*'da bulunan Panton-Valentine lökositidin'e (PVL) çok benzemektedir. *S. pseudintermedius*'da aksesuar gen düzenleyicisi (agr) homologları da bulunmaktadır. *S. pseudintermedius*'un, bir immünoglobülin bağlayıcı protein olan stafilokokal protein A (spa), stafilokoklara karşı ortaya çıkan antikorlarla çapraz reaksiyona giren proteinler (süperantijenler: SEA, SEB, SEC, SED) ve toksik şok sendrom toksini (TSST-1) ürettiği gösterilmiştir. Köpek piyoderma izolatlarında, diğer stafilokok enterotoksinlerinden farklı olarak enterotoksin C (SEC_{canine}) tespit

edilmiştir (2,9). Biyofilm oluşturma kabiliyeti bakteri türleri arasında değişkendir ve *S. pseudintermedius*'un biyofilm oluşturma kabiliyeti tam olarak karakterize edilmemiştir. Yapılan bir çalışmada *S. pseudintermedius* izolatlarının çoğunluğunun biyofilm ürettiği tespit edilmiştir (10).

Tablo 1: *Staphylococcus intermedius* grubu (SIG) bakterilerin biyokimyasal özellikleri (5).

Table 1: Biochemical characteristics of *Staphylococcus intermedius* group (SIG) (5).

Özellikler	<i>S. pseudintermedius</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. delphini</i>
Aerobiyoz	+	+	+
Katalaz	+	+	+
Koloni çapı > 5mm	+	+	+
Pigment	-	-	-
Koagülaz	+	+	+
Clumping Faktör	-	D	-
Dnaz	+	+	-
Hemoliz	+	+	+
b-Hemolizin	+	+	ND
Asetoin (VP testi)	+	W	-
Asit Üretimi:			
Maltoz	+	-/W	+
Sükroz	+	+	+
D- Trehaloz	+	+	-
D- Ksiloz	-	-	-

ND: not determined, W: weak, D: strain dependent, D+: usually positive, D-: usually negative, VP: Voges-Proskauer.

3. Epidemiyoloji

S. pseudintermedius fırsatçı bir patojendir ve sağlıklı köpeklerin normal kutanöz mikroflorasının bir parçası olarak bulunur; deriyi, kıl folliküllerini, özellikle burun, ağız ve anüs gibi mukokutanöz alanları kolonize eder. *S. pseudintermedius* sağlıklı köpeklerin %90'ında kolonize olmakta ve deri infeksiyonlarının nedenlerinden biri olarak görülmektedir (11-13). *S. pseudintermedius*'un köpek ve tilki gibi *Canidae* familyasına adapte olan bir tür olduğunu gösteren güçlü epidemiyolojik bulgular vardır (7). Yapılan son çalışmalarda, köpeklerin MRSP insidansında artış olduğu gösterilmiştir (14,15).

Köpeklerde olduğu gibi sağlıklı kedilerde de konjunktival kese, burun, ağız ve anüs bölgelerinden *S. pseudintermedius* izole edilebilmektedir (16-18). Abraham ve ark.'ları (16); sağlıklı kedilerde metisilin dirençli *Staphylococcus (pseudintermedius)*

intermedius [MRS(P)I] prevalansını %4 bulurken yangılı deri hastalığına sahip kedilerde ise MRS(P)I izolatı elde edememişlerdir. Ancak bununla birlikte kedilerde üriner sistem infeksiyonları ve otitis eksterna vakalarından MRSP bildirimleri de mevcuttur (19,20). MRSP'nin dermatitisli kedi ve köpeklerden izole edildiği birçok çalışma bulunmaktadır (2,19,21,22).

Taşınma oranı; atopik dermatitisli köpeklerde, sağlıklı köpeklerle karşılaştırıldığında daha yüksektir. Fazakerley ve ark.'ları (13), sağlıklı köpeklerin sadece %37'sinin, atopik köpeklerin ise %87'sinin bu mikroorganizmayla kolonize edildiğini ve atopik köpeklerin birden fazla vücut bölgesinde kolonize olma olasılığının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bannoehr ve ark.'ları, köpeklerde *S. pseudintermedius*'un taşınmasına ilişkin verileri gözden geçirmişler ve rapor edilen vücut bölgelerine ait taşınma oranlarını şöyle bildirmişlerdir; burun %31 (%16-64), ağız %57 (%42-74), kasık %23 (%16-38), perineum-rektum %52 (%28-72) (23).

Yavru bir köpek ve annenin vajinasından metisilin dirençli *S. pseudintermedius*'un (MRSP) izole edilmesiyle, vertikal perinatal bulaşmanın meydana geldiğine dair kanıtlar bulunmuştur (23). Paul ve ark.'larının (24) yaptığı çalışmada, vertikal olarak aktarılan suşların uzun süreli kalıcılığı gösterilmiştir. MRSP yönünden klinik semptom gösteren kedi ve köpeklerle temas halinde olan diğer hayvanlar da bakterinin taşınması açısından yüksek risk grubundadır ve sıklıkla hayvanın ev ortamından *S. pseudintermedius* izole edilebilmektedir. Nozokomiyal olarak MRSP'nin bulaşması, Hollanda'da özel bir veteriner kliniğinde belgelenmiştir. MRSP pozitif hayvanlara sahip evlerde çevresel örnekleme ile yapılan çalışmalar, çevrenin yaygın bir şekilde MRSP ile kontamine olduğunu göstermiştir (19).

4. Metisilin Dirençli *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP)

Metisilin dirençli *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP-Methicillin resistant

Staphylococcus pseudintermedius) infeksiyonları, veteriner hekimlikte önemli bir problem olarak görülmektedir. MRSP'nin genellikle üç veya daha fazla antimikrobiyal ilaca (tetrasiklinler, trimetoprim-sülfonamidler, fluorokinolonlar dahil, kloramfenikol ve makrolidler) karşı dirençli olduğu bildirilmiştir. Üç veya daha fazla farklı antimikrobiyal ilaç sınıfına dirençli olan bakteriler, çoklu ilaca dirençli (MDR-Multi Drug Resistance) izolatlar olarak tanımlanmaktadır. MDR izolatları, veteriner hekimlikte uygulanan tedavilerde zorluklar meydana getirmektedir (25,26).

Diğer stafilokoklarda olduğu gibi *S. pseudintermedius*'un metisilin direnci, modifiye penisilin bağlayıcı protein'in (PBP2a) üretimini kodlayan *mecA* geni ile ilişkilidir. β -laktam antibiyotikleri bakteri hücre duvarı yapımını önlemek için stafilokokların penisilin bağlayıcı proteinlerine bağlanarak etki gösterirler. MRSP'nin modifiye olmuş PBP'i (PBP2a), β -laktamlar için düşük bir affiniteye sahiptir, bu nedenle hücre duvarı yapımı bu antibiyotikler tarafından engellenmemektedir. Böylece antibiyotik mikroorganizmaya etki edememektedir. Bu gen, 'stafilokokal kromozomal kaset' (*SCCmec*) olarak adlandırılan hareketli bir element üzerinde bakterinin kromozomunda bulunmakta ve farklı stafilokok türleri arasında transfer edilebilmektedir (27).

5. *S. pseudintermedius*'un Zoonotik Önemi

S. pseudintermedius tipik olarak insanları kolonize etmez ancak köpekler ile sahipleri arasında bulaşma mümkündür. İnsanlar infekte olmuş köpeklerle yakın temasta bulunursa geçici taşıyıcılar haline gelebilmektedir (23). İnsanlarda ilk kez 2006 yılında 60 yaşındaki bir hastanın infekte implante edilebilir kardiyoverter defibrilatöründeki irin ve dokudan *S. pseudintermedius* izole edilmiştir (28). Hollanda'da yapılan bir araştırmada, hayvanlarla teması olmayan insanlardan alınan burun svaplarının sadece %4'ü MRSP pozitif iken, infekte köpekle teması olanların % 36'sı ve kediyle teması olanların

%31'i MRSP pozitif bulunmuştur (29). *S. pseudintermedius*'un neden olduğu dört klinik olgu, 2014-2015 yılları arasında Zaragoza (İspanya) Miguel Servet Üniversitesi Hastanesi'nde bildirilmiştir. Bu dört hastadan ve sahibi oldukları üç köpektен, 7 adet *S. pseudintermedius* suşu izole edilmiştir (30). 2007 yılında Japonya'da bulunan veteriner eğitim hastanesi'nde 17 köpekte ve görevli bir kişide MRSP tespit edilmiştir. Görevliden izole edilen suş ile köpeklerden izole edilen bazı MRSP'ler benzer genotipte ve duyarlılık profilinde bulunmuştur (25). 128 veteriner hekimin dahil edildiği bir çalışmada ise 5 kişi MRSP pozitif bulunmuş ve elde ettikleri datalar ile MRSP'nin zoonotik taşınmasını indirekt olarak göstermişlerdir (3). İnsanlarda ve pet hayvanlarında uygulanan diğer bir çalışmada ise *S. pseudintermedius* izolatlarının; insan derisine kolonizasyonundaki adaptasyon ve infeksiyonda rol oynayan virülens genlerinin varlığı tespit edilmiştir (31).

6. Neden Olduğu İnfeksiyonlar

S. pseudintermedius, kedi ve köpeklerin deri ve mukoz membranlarında kommensal olarak bulunabilmekte ve piyoderma, otitis eksterna, apse, yara ve idrar yolu infeksiyonları gibi fırsatçı infeksiyonlara neden olabilmektedir (Tablo 2). Piyoderma, köpeklerde karşılaşılan en yaygın dermatolojik problemdir. Sağlıklı ve deri infeksiyonlu köpeklerde koagülaz pozitif stafilokok prevalansını karşılaştıran bir çalışmada, en yaygın bulunan bakteri türünün *S. pseudintermedius* olduğu ortaya çıkmıştır (20,27,32-35). Kanada'da bir veteriner fakültesinde yapılan araştırmada, stafilokokal piyoderma tedavisinden sonra köpeklerin, deri ve bazı vücut bölgelerindeki MRSP prevalansı araştırılmıştır. Burun deliğinden, rektumdan ve piyodermal bölgeden toplam 173 adet svap örneği toplanmış, bunların 78 adedi (%45.1) metisilin dirençli koagülaz pozitif stafilokok (MRCPS) olarak izole edilmiştir. MRSP pozitif piyodermal 70 köpeğin 51'inde ve MRSP negatif piyodermal 103 köpeğin 8'inde *S. pseudintermedius* izole edilmiştir (32).

Tablo 2: *S. pseudintermedius*'un hayvan türüne göre neden olduğu infeksiyonlar (20,27,32-35).

Table 2: Infections of *S. pseudintermedius* according to animal species (20,27,32-35).

<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	
Köpek	deri infeksiyonları, piyoderma, otitis eksterna, yara infeksiyonu, idrar yolu infeksiyonları, endometritis, endokarditis ve infekte dikiş hattı
Kedi	deri infeksiyonları, piyoderma, otitis eksterna, yara infeksiyonu, idrar yolu infeksiyonu
İnsan	yara infeksiyonu, postmastektomi infeksiyonu, otitis eksterna, sinüzitis, pnömoni, infekte dikiş hattı, endokarditis, köpek ısırık yaraları ve nozokomiyal infeksiyonlar

Otitis eksternaya neden olan etkenler arasında bakteriler ve mayalar bulunmaktadır. İtalya'da yapılan bir çalışmada; bilateral otitisi olan 74 adet köpeğin her iki kulağından, unilateral otitisi olan 48 adet köpeğin tek kulağından toplamda 122 adet kulak svabı toplanmıştır. Toplam 122 adet köpeğin 31'inde (%25.4) maya türleri, 91'inde (%74.6) bakteri türleri izole edilmiştir. *S. pseudintermedius* prevalansı (%31.5) diğer bakterilere oranla yüksek bulunmuştur (33). Carolina ve ark.'larının (34) yaptığı bir çalışmada otitis eksternalı 52 adet köpeğin her iki kulağından svaplar alınmış ve 31 adet köpekte 44 adet *S. pseudintermedius* suşu izole edilmiştir. Bunların 12'si MRSP olarak tanımlanmıştır.

İsviçre'de idrar yolu infeksiyonu olan üç kediden MRSP izole edilmiş ve bu suşların çoklu ilaç direnci olduğu tespit edilmiştir (20). Rota ve ark.'nın (35) yaptığı bir çalışmada; 27 adet köpekten postpartum 1.,7. ve 15. günlerinde kolostrum ve süt numuneleri toplanmış ve 9 tanesi antibiyotikle tedavi edilmiştir. *S. pseudintermedius*, izole edilen tek koagülaz pozitif stafilocok türü olmuş ve 145 numunenin 66'sında tespit edilmiştir. Bunların 14'ü MRSP ve MDR olarak direnç profilleri göstermişlerdir.

7. *S. pseudintermedius*'un ve Metisilin Dirençli *S. pseudintermedius*'un (MRSP) İzolasyon ve İdentifikasyonu

7.1. *S. pseudintermedius*'un İzolasyon ve İdentifikasyon Yöntemleri

Staphylococcus intermedius grubunun (SIG) bakteri türlerini fenotipik testlerle ayırt etmek zordur. *S. intermedius* ve *S. pseudintermedius*, biyokimyasal testler ile (arginin dihidrolaz testi, β -gentiobiyoza testi ve D-mannitol testi, Voges Proskauer testi) ayırt edilebilmektedir. Buna karşın, *S. pseudintermedius* ve *S. delphini* ayırımında kullanılan biyokimyasal reaksiyonlar arasında pek bir fark yoktur (8). *S. pseudintermedius* nispeten yeni bir türdür ve birçok sistemin veri tabanına dahil edilmeye devam etmektedir. *S. pseudintermedius*, birçok vakada *S. intermedius* veya *S. aureus* olarak yanlış tanımlanabilmektedir (28,36). SIG'nin türleri arasında doğru diferansiyasyonu ancak moleküler yöntemler ile mümkün olabilmektedir. Kısmi *sodA* geni ve *hsp60* geni dizilerine dayanan filogenetik analizler; *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* ve *S. delphini* türleri için ayırt edici ilk moleküler yöntemler olmuştur (8). Bu amaçla; Polimeraz Zincir Reaksiyonu - Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP-PCR), *spa* tiplendirmesi (*spa*-typing) ve Çok Lokuslu Sekans Tiplendirmesi (MLST) gibi teknikler uygulanmıştır. Laboratuvarlar arası karşılaştırmalarda 'Pulsed Field' Jel Elektroforez (PFGE) yöntemini standart hale getirmek, zaman alıcı ve zor olabilmektedir. Bu yöntem, uzun süreli epidemiyolojik taramalar için uygulanmamaktadır ve SIG'nin üyeleri arasında ayırım yapma amacı ile kullanılmamaktadır. Bununla birlikte bu yöntem, infeksiyonlardan elde edilen izolatları analiz etmek ve karşılaştırmak için başarıyla kullanılmıştır (37). Sasaki ve ark.'ları (9) koagülaz pozitif stafilocokların tür tayini için *nuc* gen lokusunu hedef alan bir multipleks PCR yöntemi geliştirmişlerdir.

Bannoehr ve ark.'larının (7) yaptığı bir çalışmada; *pta* geninin dizi analizi ile *S. intermedius* ve *S. delphini*'de mevcut olmayan fakat *S. pseudintermedius* izolatlarında bulunan *Mbol* restriksiyon bölgesinin varlığı ortaya koyulmuştur. Böylelikle, *S. pseudintermedius*'un tanımlanması için basit ve ucuz bir PCR-RFLP yöntemi tasarlamışlardır.

Bu çalışma temelinde Türkiye’de yapılan bir araştırmada, Ankara bölgesinde dermatitisli 53 barınak köpeğinden deri svap örnekleri toplanmıştır. Toplam 53 köpekten 41 adet stafilokok türü izole edilmiştir. Bu izolatların 33’ü (%80.4), *pta* geni PCR-RFLP analizi ile *S. pseudintermedius* olarak tanımlanmıştır (38). Ancak PCR-RFLP yöntemi ile *pta* geninin varlığının araştırılması *S. pseudintermedius*'un tanımlanması için spesifik olmadığı ileri sürülmüştür (39). Verstappen ve ark.'ları (40), *S.pseudintermedius*'un biyoinformatik temelli tüm genom sekans karşılaştırmalarını yapmış ve ortaya koydukları gen dizileri ile Standart ve Gerçek Zamanlı PCR (RT-PCR) metotlarını uygulayarak bu türe spesifik tanımlamalarda bulunmuşlardır.

7.2. MRSP'nin İzolasyon ve İdentifikasyon Yöntemleri

Çoğu veteriner tanı laboratuvarında stafilokoklarda metisilin direncinin saptanması için fenotipik yöntemler uygulanmaktadır. Oksasilin veya sefoksitin, daha duyarlı ve daha güvenilir olduğu için metisilin yerine kullanılmaktadır. Bu amaçla, tüp dilüsyon ve disk difüzyon testleri yaygın olarak uygulanmaktadır. *S. pseudintermedius*'un metisilin direnci için, *S. aureus*'un kriterleri kullanılarak yorumlanan sefoksitin disk difüzyon testi yüksek oranda yanlış negatif sonuçlara yol açmış ve uygun olmadığı bildirilmiştir (41). 2017 yılında Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI), M02-A12 ve M07-A10 dökümanları ile *S. pseudintermedius*'un oksasilin duyarlılık kriterlerini yayınlamıştır. *S. pseudintermedius* için; disk difüzyon testinde zon çapları ≥ 18 mm ve ≤ 17 mm, agar ve tüp dilüsyon testlerinde ise MİK değerleri $\leq 0.25\mu\text{g/mL}$ ve $\geq 0.5\mu\text{g/mL}$ 'dir (42). 2019 yılında da Avrupa Antimikrobik Duyarlılık Testleri Komitesi (EUCAST); Klinik Sınır Değer Tablosuna (Versiyon 9.0) göre *S.pseudintermedius*'un metisilin direncinin taranması için, 1 μg oksasilin diskinin duyarlılık ve dirençlilik zon çaplarını $S \geq 20$ mm ve $R < 20$ mm olarak yayınlamıştır (43).

Metisilin direncinin varlığını ortaya koymak için en güvenilir metot, *mecA* geninin PCR metodu ile tespit edilmesidir (38,41). Rutin tanıda bu yöntemi uygulayan çok az laboratuvar bulunmaktadır ve bu tür yöntemlerin yaygın kullanımı ile doğru antibiyotik seçim şansı artmaktadır. MRSA için geliştirilen PBP2a lateks aglütinasyon testi *S. Pseudintermedius* izolatlarına uygulandığında yanlış pozitif reaksiyonlara neden olabilmektedir. Bu yüzden *S. pseudintermedius*'un metisilin direnci varlığı için tek test olarak önerilmemektedir (44). Ayrıca yine MRSA için geliştirilen PBP2a kültür koloni testi de bu amaçla kullanılabilir (45).

SONUÇ

Evcil hayvanlarda morbidite ve mortalitenin önemli nedenlerinden biri de metisilin dirençli stafilokokal infeksiyonlardır ve bu infeksiyonlar zoonotik olarak rol oynayabilmektedir. SCCmec elementlerinin farklı stafilokok türleri arasında aktarılması hem hayvan sağlığı hem de insan sağlığı açısından bir endişe kaynağıdır. Yeni SCCmec elementlerinin MRSP'den *S. aureus* gibi diğer stafilokok türlerine aktarılması ve böylesine yeni bir MRSA klonunun meydana gelmesi insan sağlığı açısından gelecekte bir tehdit oluşturabilir. *S. pseudintermedius*'un, *S. aureus* ve *S. intermedius* olarak yanlış tanımlanmalarını önlemek için daha güvenilir teşhis araçları gerekmektedir. Hızlı, kullanımı kolay testler ve moleküler yöntemler, veteriner ve tıbbi laboratuvarlarda *S. pseudintermedius*'un doğru identifikasyonu için gereklidir. MRSP ile infekte olan hayvanlarda çeşitli terapötik stratejilerin etkinliği hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. 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.

2. Fitzgerald RJ., 2009. The *Staphylococcus intermedius* group of bacterial pathogens: species re-classification, pathogenesis and the emergence of methicillin resistance. *Vet Dermatol*, 20, 490-495.
3. Paul NC., Moodley A., Ghibaud G., Guardabassi L., 2011. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in small animal veterinarians: Indirect evidence of zoonotic transmission. *Zoonoses Public Hlth*, 58, 533-539.
4. Hajek V., 1976. *Staphylococcus intermedius*, a new species isolated from animals. *Int J Syst Bacteriol*, 26, 401-408.
5. Devriese LA., Vancanneyt M., Baele M., Vanechoutte 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.
6. Varardo PE., Kilpper-Balz R., Biavaasco F., Satta G., Schleifer KH., 1988. *Staphylococcus delphini* sp. nov., a coagulase-positive species isolated from dolphins. *Int J Syst Bacteriol*, 38, 436-439.
7. Bannoehr J., Franco A., Lurescia M., Battisti A., Fitzgerald J., 2009. Molecular diagnostic identification of *Staphylococcus pseudintermedius*. *J Clin Microbiol*, 47, 469-471.
8. 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.
9. van Duijkeren E., Catry B., Greko C., Moreno MA., Pomba MC., Pyoralá S., Ruzauskas M., Sanders P., Threlfall EJ., Torren-Edo J., Törneke K., 2011. Review on methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *J Antimicrob Chemother*, 66, 2705-2714.
10. Sing A., Walker M., Roussea J., Weese JS., 2013. Characterization of the biofilm forming ability of *Staphylococcus pseudintermedius* from dogs. *BMC Vet Res*, 9, 93.
11. Allaker RP., Lloyd DH., Simpson AI., 1992. Occurrence of *Staphylococcus intermedius* on the hair and skin of normal dogs. *Res Vet Sci*, 52, 174-176.
12. Griffeth GC., Morris DO., Abraham JL., Shofer FS., Rankin SC., 2008. Screening for skin carriage of methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* in dogs with healthy and inflamed skin. *Vet Dermatol*, 19, 142-149.
13. Fazakerley J., Nuttall T., Sales D., Schmidt V., Carter SD., Hart CA., McEwan NA., 2009. Staphylococcal colonization of mucosal and lesional skin sites in atopic and healthy dogs. *Vet Dermatol*, 20, 179-184.
14. Kasai T., Saegusa S., Shirai M., Murakami M., Kato Y., 2016. New categories designated as healthcare-associated and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Dogs. *Microbiol Immunol*, 60, 540-551.
15. Priyantha R., Gaunt MC., Rubin JE., 2016. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus pseudintermedius* colonizing healthy dogs in Saskatoon, Canada. *Can Vet J*, 57, 65-69.
16. Abraham JL., Morris DO., Griffeth GC., Shofer FS., Rankin SC., 2007. Surveillance of healthy cats and cats with inflammatory skin disease for colonization of the skin by methicillin resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* ssp. *schleiferi*. *Vet Dermatol*, 18, 252-259.
17. Büttner JN., Schneider M., Csokai J., Müller E., Eule JC., 2018. Microbiota of the conjunctival sac of 120 healthy cats. *Vet Ophthalmol*, 00, 1-9.
18. Chrobak-Chimel D., Golke A., Dembele K., Cwiek K., Kizerwetter-Swida M., Rzewuska M., Binek M., 2018. *Staphylococcus pseudintermedius*, both commensal and pathogen. *Med Weter*, 74, 362-370.
19. van Duijkeren E., Kamphuis M., van der Mije IC., Laarhoven LM., Wagenaar JA., Houwers DJ., 2011. Transmission of methicillin-resistant

- Staphylococcus pseudintermedius* between infected dogs and cats and contact pets, humans and the environment in households and veterinary clinics. *Vet Microbiol*, 150, 338-343.
20. Wettstein K., Descloux S., Rossano A., Perreten V., 2008. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Switzerland: three cases of urinary tract infections in cats. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 150, 339-343.
 21. Bardiau M., Yamazaki K., Ote I., Misawa N., Mainil JG., 2013. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs and cats. *Microbiol Immunol*, 57, 496-501.
 22. Outerbridge CA., Affolter VK., Lyons LA., Crothers SL., Lam ATH., Bonenberger TE., Ihrke PJ., White SD., 2018. An unresponsive progressive pustular and crusting dermatitis with acantholysis in nine cats. *Vet Dermatol*, 19, -e33.
 23. Bannoehr J., Guardabassi L., 2012. *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. *Vet Dermatol*, 23, 253-266.
 24. Paul NC., Damborg P., Guardabassi L., 2014. Dam-to-offspring transmission and persistence of *Staphylococcus pseudintermedius* clones within dog families. *Vet Dermatol*, 25,3-e2.
 25. Sasaki T., Kikuchi K., Tanaka Y., Takahashi N., Kamata S., Hiramatsu K., 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in a veterinary teaching hospital. *J Clin Microbiol*, 45, 1118-1125.
 26. McCarthy AJ., Harrison EM., Stanczak- Mrozek K., Leggett B., Waller A., Holmes MA., Lloyd DH., Lindsay JA., Loeffler A., 2015. Genomic insights into the rapid emergence and evolution of MDR in *Staphylococcus pseudintermedius*. *J Antimicrob Chemother*, 4, 997-1007.
 27. Weese JS., van Duijkeren E., 2010. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Vet Microbiol*, 140, 418-429.
 28. Van Hoovels L., Vankeerberghen A., Boel A., Van Vaerenbergh K., De Beenhouwer H., 2006. First case of *Staphylococcus pseudintermedius* infection in a human. *J Clin Microbiol*, 44, 4609-4612.
 29. Guardabassi L., Loeber M., Jacobson A., 2004. Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. *Vet Microbiol*, 98, 23-27.
 30. Lozano C., Rezusta A., Ferrer I., Perez-Laguna V., Zarazaga M., Ruiz-Ripa L., Revillo MJ., Torres C., 2017. *Staphylococcus pseudintermedius* human infection cases in Spain: dog-to-human transmission. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 17, 268-270.
 31. Kmiecik W., Szewczyk EM., 2018. Are zoonotic *Staphylococcus pseudintermedius* strains a growing threat for humans? *Folia Microbiol*, 63, 743-747.
 32. Beck KM., Waisglass SE., Dick HLN., Weese JS., 2012. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) from skin and carriage sites of dogs after treatment of their methicillin-resistant or methicillin-sensitive staphylococcal pyoderma. *Vet Dermatol*, 23, 369-375.
 33. Martino LD., Nocera FP., Mallardo K., Nizza S., Masturzo E., Fiorito F., Iovae G., Catalanotti P., 2016. An update on microbiological causes of canine otitis externa in Campania Region, Italy. *Asian Pac J Trop Biomed*, 6, 384-389.
 34. Sherer CB., Botoni LS., Coura FM., Silva RO., Santos RD., Heinemann MB., Costa-Val AP., 2018. Frequency and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus pseudintermedius* in dogs with otitis externa. *Cienc Rural*, 48,1-7.
 35. Rota A., Corro M., Drigo I., Bortolami A., Borjesson S., 2015. Isolation of coagulase-positive staphylococci from bitches' colostrum and milk and genetic typing of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* strains. *BMC Vet Res*, 11,160.
 36. Schwarz S., Kadlec K., Strommenger B., 2008. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and

- Staphylococcus pseudintermedius* detected in the BfT-GermVet monitoring programme 2004-2006 in Germany. J Antimicrob Chemother, 61, 282-285.
37. Perreten V., Kadlec K., Schwarz S., Andersson GU., Finn M., Greko C., Moodley A., Kania SA., Frank LA., Bemis DA., Franco A., Iurescia M., Battisti A., Duim B., Wagenaar JA., van Duijkeren E., Weese JS., Fitzgerald JR., Rossano A., Guardabassi L., 2010. Clonal spread of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Europe and North America: an international multicentre study. J Antimicrob Chemother, 65, 1145-1154.
38. Sareyyüpoğlu B., Müştak HK., Cantekin Z., Diker KS., 2014. Methicillin Resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from Shelter Dogs in Turkey. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 20, 435-438.
39. Slettemeas JS., Mikalsen J., Sunde M., 2010. Further diversity of the *Staphylococcus intermedius* group and heterogeneity in the Mbol restriction site used for *Staphylococcus pseudintermedius* species identification. J Vet Diagn Invest, 22, 756-759.
40. Verstappen KM., Huijbregts L., Spaninks M., Wagenaar JA., Fluit AC., Duim B., 2017. Development of real-time PCR for detection of *Staphylococcus pseudintermedius* using a novel automated comparison of whole-genome sequences. Plos One, 12, e0183925.
41. Schissler JR., Hillier A., Daniels JB., Cole LK., Gebreyes WA., 2009. Evaluation of clinical laboratory standards institute interpretive criteria for methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs. J Vet Diagn Invest, 21,684-688.
42. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2017. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M02-A12/M07-A10, CLSI Standards and Guidelines, Wayne, PA.
43. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, 2019.
44. Pottumarthy S., Schapiro JM., Prentice JL., Houze YB., Swanzy SR., Fang FC., Cookson BT., 2004. Clinical isolates of *Staphylococcus intermedius* masquerading as methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol, 42, 5881-5884.
45. Arnold AR., Burnham CA., Ford BA., Lawhon SD., McAllister SK., Lonsway D., Albrecht V., Jerris RC., Rasheed JK., Limbago B., Burd EM., Westblade LF., 2016. Evaluation of an immunochromatographic assay for rapid detection of penicillin-binding protein 2a in Human and Animal *Staphylococcus intermedius* Group, *Staphylococcus lugdunensis*, and *Staphylococcus schleiferi* Clinical Isolates. J Clin Microbiol, 54, 745-748.