



T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SAĞLIKLI VE OTİTİS EKSTERNALİ KÖPEK VE
KEDİLERDEN İZOLE EDİLEN *STAPHYLOCOCCUS*
TÜRLERİNİN ÇEŞİTLİLİĞİ, ANTİMİKROBİYAL
DUYARLILIK PATERNLERİ, BİYOFİLM OLUŞTURMA
YETENEĞİ VE RİSK FAKTÖRLERİNİN BELİRLENMESİ**

Veteriner Hekim Mürüvet DUMAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Ezgi ŞABABOĞLU BAYTAROĞLU

BURDUR-2024

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SAĞLIKLI VE OTİTİS EKSTERNALI KÖPEK VE
KEDİLERDEN İZOLE EDİLEN *STAPHYLOCOCCUS*
TÜRLERİNİN ÇEŞİTLİLİĞİ, ANTİMİKROBİYAL
DUYARLILIK PATERNLERİ, BİYOFİLM OLUŞTURMA
YETENEĞİ VE RİSK FAKTÖRLERİNİN BELİRLENMESİ**

Veteriner Hekim Mürüvet DUMAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Ezgi ŞABABOĞLU BAYTAROĞLU

Bu araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından 0918-YL-23 proje numarası ile desteklenmiştir.

BURDUR-2024

KABUL ve ONAY

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Mürüvet DUMAN tarafından *Dr. Öğr. Üyesi Ezgi ŞABABOĞLU BAYTAROĞLU* yönetiminde hazırlanan “*Sağlıklı ve Otitis Eksternalı Köpek ve Kedilerden İzole Edilen Staphylococcus Türlerinin Çeşitliliği, Antimikrobiyal Duyarlılık Paternleri, Biyofilm Oluşturma Yeteneği ve Risk Faktörlerinin Belirlenmesi*” başlıklı tez çalışması jüri üyeleri olarak tarafımızdan okunmuş; kapsamı ve niteliği açısından Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalında *Yüksek Lisans Tezi* olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 31.07.2024

Prof. Dr. Dilek ÖZTÜRK
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Başkan

Dr. Öğr. Üyesi Semiha YALÇIN
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi
Jüri

Dr. Öğr. Üyesi Ezgi ŞABABOĞLU BAYTAROĞLU
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Jüri

ONAY

Bu tez, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu ... / ... / tarih vesayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ramazan ADANIR
Müdür
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez dönemim süresince beni yetiştiren, bana her konuda destek veren, yardım ve tavsiyelerini esirgemeyen, meslek hayatındaki deneyimlerini benimle paylaşan danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ezgi ŞABABOĞLU BAYTAROĞLU'na, yüksek lisans öğrenimim süresince ilgi ve bilgileri ile bana yardımcı olan Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Dilek ÖZTÜRK ve Prof. Dr. Faruk PEHLİVANOĞLU'na, referans suşların ve lizostafinin sağlanmasında yardımcı olan Sayın Öğr. Gör. Dr. Orhan YAVUZ'a ve Sayın Mert SUDAĞINDAN'a, istatistiksel analizleri gerçekleştirmem konusunda yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Bekir ÇETİNAV ve Öğr. Gör. Dr. Ebru KAYA BAŞAR'a, kulak svaplarını toplamam konusunda yardımcı olan Cerrahi Anabilim Dalı öğretim üyeleri Doç. Dr. Yusuf Sinan ŞİRİN, Arş. Gör. Dr. Mehmet Nur ÇETİN ve Uzman Veteriner Hekim Batuhan NEYSE'ye, benimle birlikte heyecanla bekleyerek destek veren eşim Veteriner Hekim Yakup DUMAN'a teşekkür ederim. Ayrıca yaşamım boyunca her türlü maddi ve manevi desteği esirgemeyen, her zaman yanımda olan, bu zorlu süreci benimle birlikte yaşayan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ETİK BEYAN

“Sağlıklı ve Otitis Eksternalı Köpek ve Kedilerden İzole Edilen *Staphylococcus* Türlerinin Çeşitliliği, Antimikrobiyal Duyarlılık Paternleri, Biyofilm Oluşturma Yeteneği ve Risk Faktörlerinin Belirlenmesi” başlıklı tez çalışmamdaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Dr. Öğr. Üyesi Ezgi ŞABABOĞLU BAYTAROĞLU danışmanlığında Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim

Öğrencinin Adı Soyadı: Mürüvet DUMAN

Tarih:

İmza:

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	i
KABUL ve ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ETİK BEYAN	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER	vii
TABLolar	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
TÜRKÇE ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Tarihçe	5
2.2. Etiyoloji	7
2.3. Epidemiyoloji	9
2.4. Virulans Faktörleri	11
2.5. Antimikrobiyal Direnç	14
2.6. <i>Staphylococcus</i> spp. İzolasyon ve İdentifikasyonu	17
3. GEREÇ ve YÖNTEM	20
3.1. Gereç	20
3.1.1. Etik Kurul Onayı	20
3.1.2. Çalışma Popülasyonu ve Örneklem Prosedürü	20
3.1.3. Referans Stafılakok Suşları	22
3.1.4. Besiyerleri	22
3.1.4.1. Blood Agar Base (Oxoid, UK)	22
3.1.4.2. MacConkey Agar (Condalab, Spain)	23
3.1.4.3. Muller Hinton Agar (Oxoid, UK)	23
3.1.4.4. %1 Glikoz (w/v) İçeren Brain Heart İnfüzyon Broth	23
3.1.4.5. Triptik Soy Broth	24
3.1.4.6. Gliserol (%15, v/v) İçeren Triptik Soy Broth	24
3.1.5. Çalışmada Kullanılan Solüsyonlar	25
3.1.5.1. %0,9 (w/v)'luk Fizyolojik Tuzlu Su	25
3.1.5.2. Fosfat Tamponlu Tuzlu Su	25
3.1.5.3. %3'lük Hidrojen Peroksit Solüsyonu	26
3.1.5.4. Tavşan Plazması	26
3.1.6. Çalışmada Kullanılan Antibiyotik Diskleri	26
3.1.7. DNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasal Maddeler	26
3.1.8. DNA'nın Amplikasyonu için Kullanılan Malzemeler	27
3.1.9. Agaroza Jel Elektrophorez için Kullanılan Malzemeler	27
3.2. Yöntem	28
3.2.1. Klinik Bulguların Değerlendirilmesi	28
3.2.2. İzolasyon ve İdentifikasyon	29
3.2.2.1. Gram Boyama	30
3.2.2.2. Katalaz Testi	30
3.2.2.3. Koagülaz Testi	31
3.2.2.4. Hemolitik Aktivite	32

3.2.2.5. MALLDI-TOF MS Analizi	33
3.2.2.6. DNA Dizi Analizi	33
3.2.3. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri	34
3.2.3.1. İndüklenebilir Klindamisin Direnci	35
3.2.3.2. Metisilin Direnci	35
3.2.4. Biyofilm Üretimi	37
3.2.5. İstatiksel Analizler	38
4. BULGULAR	39
4.1. Çalışma Popülasyonu ve Örneklem	39
4.2. İzolasyon ve İdentifikasyon	39
4.2.1. MALDI-TOF MS Analizi	40
4.2.2. DNA Dizi Analizi	40
4.2.3. Koagülaz Testi	40
4.2.4. Hemolitik Aktivite	41
4.2.5. <i>Staphylococcus</i> spp. Dağılımı	41
4.2.5.1. Kedilerde <i>Staphylococcus</i> spp. Dağılımı	41
4.2.5.2. Köpeklerde <i>Staphylococcus</i> spp. Dağılımı	43
4.3. Antimikrobiyal Duyarlılık	47
4.3.1. Kedilerden İzole Edilen Stafilocokların Antimikrobiyal Duyarlılığı	48
4.3.2. Köpeklerden İzole Edilen Stafilocokların Antimikrobiyal Duyarlılığı	49
4.4. Biyofilm Üretimi	59
4.5. Risk Faktörleri	64
5. TARTIŞMA	66
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	82
KAYNAKLAR	85
ÖZGEÇMİŞ	110

ŞEKİLLER

Şekil 3.1.	Defibrine koyun kanının alınması.	22
Şekil 3.2.	Agoroz jelinin hazırlanması.	28
Şekil 3.3.	Kulak kanalının otostopik muayene ile incelenmesi.	29
Şekil 3.4.	Kulak svabı ile örneklerinin besiyerlerine ekimi.	30
Şekil 3.5.	Katalaz testinin değerlendirilmesi.	31
Şekil 3.6.	Tüp koagülaz testinde pozitif reaksiyon.	32
Şekil 3.7.	Lam koagülaz testinin değerlendirilmesi.	32
Şekil 3.8.	Örneklerin MALDI-TOF plakası üzerine konulması ve plakanın cihaza yerleştirilmesi.	33
Şekil 3.9.	Antibiyotik duyarlılık testlerinin uygulanışı	35
Şekil 3.10.	Mikroplate okuyucuda optikal dansite değerlerinin ölçülmesi.	38
Şekil 4.1.	<i>Staphylococcus</i> spp. izolatlarının hemoliz oluşturma yetenekleri.	41
Şekil 4.2.	Sağlıklı ve otitisli kedilerden izole edilen <i>Staphylococcus</i> spp. dağılımı.	42
Şekil 4.3.	Sağlıklı ve otitisli köpeklerden izole edilen <i>Staphylococcus</i> spp., dağılımı.	43
Şekil 4.4.	İndüklenebilir klindamisin direncinin tespiti için uygulanan D-testi sonuçları.	47
Şekil 4.5.	Metisilin ve çoklu ilaç dirençli <i>Staphylococcus psuedintermedius</i> suşu	48
Şekil 4.6.	<i>mecA</i> gen bölgesine yönelik uygulanan PZR testi sonuçları.	48
Şekil 4.7.	Sağlıklı ve hasta kedilerden izole edilen stafılakok türlerinin antimikrobiyal direnç sıklığı.	52
Şekil 4.8.	Sağlıklı ve hasta kedi ve köpeklerden izole edilen <i>Staphylococcus</i> spp. suşlarının antimikrobiyal direnç paternlerinin ısı haritası görünümü.	53
Şekil 4.9.	Sağlıklı ve hasta köpeklerden izole edilen stafılakok türlerinin antimikrobiyal direnç sıklığı.	57

TABLÖLAR

Tablo 3.1.	Kulak svabı örneklerinin alındığı kedi ve köpeklerin yaş, ırk ve cinsiyet bilgileri.	21
Tablo 4.1.	Kulak svabı örneklerinin alındığı hasta ve sağlıklı kedi ve köpeklerin yaş, ırk ve cinsiyet bilgileri.	39
Tablo 4.2.	Sağlıklı ve hasta kedi ve köpeklerden izole edilen <i>Staphylococcus</i> spp. sayısı.	45
Tablo 4.3.	Sağlıklı ve hasta (otitisli) kedi ve köpeklerde cinsiyet, yaş ve ırka göre <i>Staphylococcus</i> spp. izolasyon sayısı	46
Tablo 4.4.	Sağlıklı ve hasta kedi ve köpeklerden izole edilen <i>Staphylococcus</i> spp. izolatlarının antibiyotik direnç oranları.	51
Tablo 4.5.	Sağlıklı ve hasta kedilerden izole edilen MDR ve MRS izolatlarının sayısı.	54
Tablo 4.6.	Sağlıklı ve hasta kedi ve köpeklerden izole edilen MDR ve MRS izolatlarının antimikrobiyal direnç paternleri.	55
Tablo 4.7.	Kedi ve köpeklerden izole edilen MRS ve MSS izolatlarının antibiyotiklere direnç oranları.	56
Tablo 4.8.	Sağlıklı ve hasta köpeklerden izole edilen MDR ve MRS izolatlarının sayısı.	58
Tablo 4.9.	<i>Staphylococcus</i> spp. suşlarının izolasyon kaynağına ve biyofilm üretme kapasitelerine göre dağılımı.	61
Tablo 4.10.	MDR, MRS ve MSS izolatları ile biyofilm oluşturma yeteneği.	62
Tablo 4.11.	Fenotipik yöntemle antibiyotik dirençli/duyarlı suşlar ve biyofilm oluşturma yeteneği.	63
Tablo 4.12.	Sağlıklı ve hasta kedi ve köpeklerden izole edilen <i>Staphylococcus</i> spp. izolatlarından MDR ve MRS izolatları ile ilişkili risk faktörlerinin tek değişkenli analizi.	64

SİMGELER ve KISALTMALAR

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
µg	Mikrogram
ABD	Amerika Birleşik Devleti
AK	Amikasin
AM	Ampisilin
AMP	Amoksisilin-Klavulonik Asit
AMR	Antimikrobiyal direnç
BHI	Brain Heart İnfüzyon
C	Kloramfenikol
CI	Confidence interval (Güven aralığı)
CİP	Siprofloksasin
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CN	Gentamisin
CVN	Sefovesin
DA	Klindamisin
DNA	Deoksiribonükleik asit
DNaz	Deoksiribonükleaz
E	Eritromisin
ENR	Enrofloksasilin
FOX	Sefoksitin
FTS	Fizyolojik Tuzlu Su
Gr	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
IU	İnternasyonal ünite
KCI	Potasyum klorür
KH ₂ PO ₄	Potasyum dihidrojen fosfat
KNS	Koagülaz negatif stafilokok
KPS	Koagülaz pozitif stafilokok
MALDI-TOF MS	Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (Matris destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş süresi kütle spektrometresi)
MDR	Multi Drug Resistance (Çoklu ilaç direnci)
MRS	Metisilin dirençli stafilokok
MRSA	Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>)
MRSP	Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> (Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>)
MSCRAMM	Microbial surface components recognising adhesive matrix molecules (Yapışkan matris moleküllerini tanıyan mikrobiyal yüzey molekülleri)
MSS	Methicillin-Sensitive <i>Staphylococcus</i> spp. (Metisiline duyarlı <i>Staphylococcus</i> spp.)
Na ₂ HPO ₄	Di Sodyum Fosfat
NaCl	Sodyum klorür

OR	Odds ratio
OX	Oksasilin
P	Penisilin
PBP2a	Penicillin-Binding Protein (Düşük Afiniteli Penisilin Bağlayıcı Protein)
PBS	Phosphate Buffer Saline (Fosfat Tamponlu Su)
PFT	Pore Forming Toxin (Por oluşturan toksinler)
pH	Potansiyel hidrojen
PVL	Panton–Valentine leukocidin (Panton-Valentin lökositidin)
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RA	Rifampin
RFLP	Restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi (restriction fragment length polymorphism)
SCCmec	<i>Staphyococcal</i> cassette chromosome (Stafilokokal kaset kromozom)
SIG	<i>Staphylococcus indermedius</i> grup
SXT	Sülfametoksazol/Trimetoprim
TE	Tetrasiklin
TSB	Triptik soy broth
TSST	Toksik şok sendrom toksin
UV	Ultraviyole
v/v	Hacimce yüzde
w/v	Hacimde ağırlıkça yüzde
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
ml	Mikrolitre
mm	Mikrometre

ÖZET

Sağlıklı ve Otitis Eksternalı Köpek ve Kedilerden İzole Edilen *Staphylococcus* Türlerinin Çeşitliliği, Antimikrobiyal Duyarlılık Paternleri, Biyofilm Oluşturma Yeteneği ve Risk Faktörlerinin Belirlenmesi

Bu tez çalışmasında otitis eksterna tanısı konulan 50 kedi ve 50 köpek ile aşılama, tıraş veya kısırlaştırma için getirilen sağlıklı 50 kedi ve 50 köpekten kulak svabı örnekleri alındı. 200 hayvandan 67'sinden (%33,5) *Staphylococcus* spp. izole edildi. MALDI-TOF MS analizi sonucunda *Staphylococcus* spp. izolatlarının 29'u *S. felis*, 27'si *S. pseudintermedius*, 3'ü *S. aureus*, 2'si *S. simulans* olarak tanımlandı. Sadece birer izolat *S. schleiferi*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. lugdunensis*, *S. pettenkoferi* ve *S. sciuri* olarak tanımlandı. Kedilerden en yüksek oranda *S. felis* (n:27, %75) izole edilirken, köpeklerden en yüksek oranda *S. pseudintermedius* (n:24, %77,41) izole edildi. En yüksek oranda tetrasikline (n: 16, %23,88) karşı direnç saptandı. Bunu sırasıyla penisilin ve ampicilin (n: 15, %22,38), eritromisin (n: 14, %20,89), klindamisin (n: 11, %16,41), oksasilin (n:7, %10,44), sefovesin, siprofloksasin ve sülfametoksazol/trimetoprim (n: 5, %7,46), amoksisilin-klavulanik asit, sefoksitin, gentamisin ve enrofloksasin (n: 4, %5,97), rifampin ve kloramfenikol (n: 3, %4,47) izledi. İzolatlarda amikasin'e karşı ise direnç saptanmadı. İndüklenebilir klindamisin direnci ise 3 (%4,47) izolatta tespit edildi. Toplam 9 (%13,43) izolatta metisilin direnci (MRS) belirlendi. *mecA* geni 6 izolatta saptandı. İzolatların 12'sinde (%17,91) çoklu ilaç direnci (MDR) tespit edildi. *Staphylococcus* spp. suşlarının 64'ünde (%95,52) biyofilm üretimi tespit edildi. *S. pseudintermedius* suşlarının %96,30'unda (26/27) güçlü biyofilm üretimi belirlenirken, *S. felis* suşlarının %55,17'sinde (16/29) zayıf biyofilm üretimi tespit edildi. MRS ve MDR ile biyofilm üretimi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı (p=0,99). Ancak penisilin, ampicilin ve tetrasikline direnç ile biyofilm üretme gücü arasında anlamlı bir ilişki saptandı (p<0,05). Hem MDR hem de MRS için "Ailede antimikrobiyal kullanımı", "Aknesi olan aile üyesi", "Kedi/köpekte daha önce antimikrobiyal kullanımı", "Kedi/köpekte mevcut antimikrobiyal kullanımı"nın önemli risk faktörleri olduğu saptanmasına rağmen (p<0,05), "Evde çocuk" değişkeninin yalnızca MRS için anlamlı bir etki gösterdiği belirlendi (p=0,020). Sonuç olarak, MDR-MRS suşlarının artarak tüm dünyadan rapor edilmesi, bu çalışmada da yoğun antibiyotik kullanımı ve hayvanlar ile insanlar arasındaki temasın bu direnç ile ilişkili önemli risk faktörleri olarak belirlenmesi, etken, çevre ve bireyler arasında bu direncin aktarılabilmesine işaret etmektedir. Bu nedenle ampirik tedaviden ziyade antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarına dayanarak tedavi uygulanması, direnç profillerinin sürekli izlenmesi ve hayvanlarda ve insanlarda antibiyotik kullanımının kısıtlanması gerektiği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal direnç, Biyofilm, Metisilin direnci, Otitis eksterna, *Staphylococcus* spp.

ABSTRACT

Determination of Diversity, Antimicrobial Susceptibility Patterns, Biofilm Formation Ability, and Risk Factors of *Staphylococcus* Species Isolated From Dogs and Cats Both Healthy and With Otitis Externa

In this thesis, ear swab samples were taken from 50 cats and 50 dogs diagnosed with otitis externa and 50 healthy cats and 50 dogs brought for vaccination, shaving or neutering. *Staphylococcus* spp. were isolated from 67 (33.5%) of 200 animals. As a result of MALDI-TOF MS analysis, 29 of the *Staphylococcus* spp. isolates were identified as *S. felis*, 27 as *S. pseudintermedius*, 3 as *S. aureus* and 2 as *S. simulans*. Only one isolate was identified as *S. schleiferi*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. lugdunensis*, *S. pettenkoferi* and *S. sciuri*. The highest rate of *S. felis* was isolated from cats (n:27, 75%), while the highest rate of *S. pseudintermedius* was isolated from dogs (n:24, 77.41%). The highest rate of resistance to tetracycline (n:16, 23.88%) was detected. This was followed by penicillin and ampicillin (n:15, 22.38%), erythromycin (n:14, 20.89%), clindamycin (n:11, 16.41%), oxacillin (n:7, 10.44%), cefovesin, ciprofloxacin and trimethoprim/sulfamethoxazole (n:5, 7.46%), amoxicillin-clavulanic acid, ceftiofur, gentamicin and enrofloxacin (n:4, 5.97%), rifampin and chloramphenicol (n:3, 4.47%). No resistance to amikacin was detected in the isolates. Inducible clindamycin resistance was detected in 3 (4.47%) isolates. Methicillin resistance (MRS) was detected in 9 (13.43%) isolates. *mecA* gene was detected in 6 isolates. Multidrug resistance (MDR) was detected in 12 isolates (17.91%). Biofilm production was detected in 64 (95.52%) of *Staphylococcus* spp. strains. Strong biofilm production was detected in 96.30% (26/27) of *S. pseudintermedius* strains, while weak biofilm production was detected in 55.17% (16/29) of *S. felis* strains (16/29). No significant relationship was found between MRS and MDR and biofilm production ($p=0.99$). However, there was a significant correlation between resistance to penicillin, ampicillin, and tetracycline and biofilm production ($p<0.05$). Although "antimicrobial use in the family", "family member with acne", "previous antimicrobial use in the cat/dog", "current antimicrobial use in the cat/dog" were found to be significant risk factors for both MDR and MRS ($p<0.05$), the variable "children at home" showed a significant effect only for MRS ($p=0.020$). In conclusion, the increasing number of MDR-MRS strains being reported from all over the world and the identification of intensive antibiotic use and contact between animals and humans as important risk factors associated with this resistance in this study indicate that this resistance can be transmitted between the agent, environment and individuals. Therefore, it was concluded that treatment should be based on antibiotic susceptibility test results rather than empirical treatment, resistance profiles should be continuously monitored and antibiotic use in animals and humans should be restricted.

Keywords: Antimicrobial resistance, Biofilm, Methicillin resistance, Otitis externa, *Staphylococcus* spp.

1. GİRİŞ

Otitis eksterna, tüm dünyada kedi ve köpeklerde sık karşılaşılan, kulak kepçesi dahil olmak üzere dış kulak yolunun multifaktöriyel etiyolojiye sahip olan akut veya kronik seyirli yangısal bir hastalıdır (Bajwa, 2019; Carlotti ve TaillieuLeRoy, 1997). Hastalığın küçük hayvan hekimliğinde görülme oranının yaklaşık olarak %20 olduğu bildirilmektedir (Cole, 2004). Otitis eksternanın prevalansının köpeklerde %15 - %20,4 arasında olduğu ve kedilerde ise köpeklere göre daha az oranda %4 - %7 görüldüğü rapor edilmiştir (Aufox ve May, 2019; Paterson, 2016).

Otitis eksterna hayvanlarda kaşıntı, işitme kaybı, kafa sallama gibi semptomlar ile seyretmekte ve tedavi aşamasında kullanılan temizleme solüsyonları, enjeksiyonlar ve şampuanlamanın hayvanın refahını olumsuz etkilemesi nedeniyle daha agresif olmalarına yol açabilmektedir. Hayvan sahiplerinde ise günlük aktivitelerinde azalma, tedavi sürecinde ekonomik kayba, psikolojik ve fiziksel huzursuzluğa neden olmaktadır (Petrov ve ark., 2013; Rosser, 2004).

Kedi ve köpeklerde otitis eksternanın patogenezinde rol oynayan etiyolojik nedenler August (1988) tarafından kullanışlı ve pratik bir sınıflandırma şemasında predispoze, primer ve sekonder faktörler olarak sınıflandırılmıştır (August, 1988; Logas, 1994; Scott ve ark., 2001).

Predispoze faktörler otitis eksternaya tek başına neden olmamakta, ancak primer ve sekonder enfeksiyonların şekillenmesine zemin hazırlamaktadır (Paterson, 2016). Predispoze faktörler arasında; anatomik yapı, konformasyon, sıcaklık, nem, pH, kulak kirliliği, yaş, cinsiyet, ırk yatkınlığı, obstrüktif kulak hastalığı, sistemik hastalıklar, uygulanan tedavilerin yan etkileri gibi birçok etmen yer almaktadır (Paterson, 2016).

Kedi ve köpeklerde ırk yönünden bakıldığında; Himalayan ve Persian ırkı kediler, Miniature Poodle, Cocker Spanial ve Fox Terrier ırkı köpekler olmak üzere daha çok sarkık kulaklı ırklar otitis eksternaya predispozisyon göstermektedir (August, 1988; Krahwinkel, 1992). Alman Çoban Köpekleri ve yavru Cocker spaniellerinde

aşırı sebum üretimi, Alman Çoban Köpeklerinin kulak kanallarındaki yüksek nem seviyesi, Cocker spaniellerin sarkık kulak kepçeleri, Shar-peislerin hipoplastik ve stenotik kulak kanalları ve kanişlerin kulak kanallarında yüksek yoğunlukta tüy olması diğer ırklara göre otitis eksternaya daha yatkın olmasında önemli predispoze edici faktörleri oluşturmaktadır (Angus ve ark., 2002; Carlotti, 1991; Scott ve ark., 2001; Rosser, 2004; Zur ve ark., 2011).

Sıcak ve ılıman iklimlerde, özellikle yaz aylarında artan çevresel sıcaklık ve nemin kulak kanalında küçük ama tespit edilebilir değişikliklere yol açabildiği ifade edilmiştir (Paterson, 2016; Rosser, 2004). Sık yüzmeye ve duş almaya bağlı olarak aşırı su birikmesinin dış kulak kanalını kaplayan *stratum corneum*'un maserasyonuna neden olabildiği ve sekonder enfeksiyona karşı koruyucu bariyeri ortadan kaldırarak dış kulak kanalının normal yerleşik mikroflorasını fırsatçı hale getirerek otitis eksternaya neden olabildiği ileri sürülmüştür (Paterson, 2016). Bununla birlikte kulak kanalının sık ıslanması, serumen bezlerinin aşırı aktive olmasına neden olarak eksternal kulak enfeksiyonuna zemin oluşturabileceği bildirilmiştir (Rosser, 2004). Diğer taraftan, hepatik, renal, pankreatik hastalıklar gibi sistemik hastalıkların orta kulak enfeksiyonu riskini arttırdığı açıklanmıştır (Paterson, 2016). Ayrıca uygun olmayan topikal tedavilerin, travmatik temizliğin, özellikle kuru pamuğun çok kullanılarak hasara neden olması sonucunda da orta kulak enfeksiyon riskinin arttığı bildirilmiştir (Paterson, 2016).

Primer faktörler ise direkt otitis eksternaya neden olmaktadır ve kulakta enfeksiyon sürecinin başlamasından sorumludur (Carlotti, 1991; Murphy, 2001). Primer nedenler arasında; ektoparazitler, alerjik hastalıklar, endokrin bozuklukları, piyoderma, travma, yabancı cisim, tahriş, kontakt dermatit, otoimmün deri hastalıkları, seboreik keratoz ve tümörler yer almaktadır (Carlotti, 1991).

Sekonder faktörler otitis eksternanın başlamasından sorumlu olmayan, ancak hastalığı devam ettiren faktörler olarak tanımlanmaktadır (Rosser, 2004). Predispoze ve primer faktörler, kulak kanalında bakteri ve mayalar gibi sekonder mikroorganizmaların çoğalması için uygun koşullar oluşturmaktadırlar (August, 1988; Bajwa, 2019; Huang ve ark., 2009; Rosser, 2004). Kulak kanalında primer bir hasar

oluştığında normal florada bulunan bakteriyel ve mikotik etkenler enfeksiyon oluşturmaktadır (Hariharan ve ark., 2006; Kiss ve ark., 1997). Sekonder nedenler kulak epitelinde değişikliklere, kulak kanalı ödem ve darlığı, kulak zarı dilatasyonu, yırtılması ve yağ bezi hiperplazisi gibi kulak hasarına neden olabilmektedir (Jacobson, 2002; Moriello, 2013). Akut ve komplike olmayan otitis eksterna sıklıkla başarılı bir şekilde tedavi edilebilirken, kronik veya tekrarlayan otitis eksternanın tedavisi oldukça zordur. Tekrarlayan enfeksiyonların kulak kanalında oluşturduğu sekonder değişiklikler nedeniyle orta kulak enfeksiyonları, ağrı ve işitme kaybının meydana geldiği, tıbbi tedavinin başarısız olduğu, cerrahi müdahalenin gerektiği olası son aşama kulak enfeksiyonlarına yol açmaktadır (Bajwa, 2019).

Otitisten etkilenen köpeklerin kulak kanallarından en yaygın olarak izole edilen bakterilerin stafilokok türleri olduğu rapor edilmiştir (Bajwa, 2019; İlhan ve ark., 2022; Njoroge ve ark., 2017). Otitis ile yaygın olarak ilişkili diğer bakteriler arasında *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp., *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp. ve *Corynebacterium* spp. bulunmaktadır (Bajwa, 2019). *Malassezia* spp., köpeklerde otitis eksternanın başka bir yaygın nedenidir (Bajwa, 2019). *Staphylococcus* spp., *Enterobacteriaceae* spp. ve *Pseudomonas* spp.'nin miks kültürleri ve *Malassezia* spp. ile koenfeksiyonlar kedi ve köpeklerde otitis eksternanın polimikrobiyal etiyojije sahip olduğunu göstermektedir (Martins ve ark., 2022).

Sekonder enfeksiyonların kedi ve köpeklerde kronik ve tekrarlayan otitis eksterna vakalarına neden olması sonucunda uzun süren tedaviler ve tekrarlayan vakalar, çoklu antibiyotik direnci gösteren mikroorganizmaların giderek yayılmasına neden olabilmektedir. Bunun sonucunda artan antimikrobiyal direnç klinik bir tehdit ve küresel bir halk sağlığı sorunu haline gelmektedir (Ascher ve ark., 1988; McKeever ve Richardson 1988; McKeever ve Torres 1988; Scott ve ark., 2001).

Evcil hayvanlarda antimikrobiyal kullanımı, risk faktörleri ve antimikrobiyal dirençli bakterilerin insanlar ve ev hayvanları arasındaki bulaşma yolları ile ilgili bilgiler azdır. Köpekler ve kediler gibi ev hayvanları, sahipleriyle ortak bir yaşam alanı paylaşmaktadır. Evcil hayvanlar ve sahipleri arasındaki yakın temas, zoonotik bakterilerin doğrudan temas yoluyla veya dolaylı olarak gıda ve çevre kontaminasyonu

yoluyla bulaşmasına yol açtığı ileri sürülmüştür (Damborg ve ark., 2016). Bu nedenle evcil hayvanlar, metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), metisilin dirençli *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) ve genişlemiş spektrumlu β -laktamaz üreten *Escherichia coli* gibi antimikrobiyal dirençli zoonotik bakterilerin potansiyel rezervuarları olarak kabul edilmektedirler (Ewers ve ark., 2012; Guardabassi ve ark., 2004; Wieler ve ark., 2011). Çalışmalarda evcil hayvanlarda bulunan MRSA'nın çoğunluğunun insanlardan, kedi/köpek sahiplerinden veya veteriner hekimlerden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (Harrison ve ark., 2014; Worthing ve ark., 2018). Antimikrobiyal direncin insanlara doğrudan veya dolaylı yolla aktarılmasında köpekler önemli rezervuarlardan biri olarak kabul edilmesinden dolayı (Guardabassi ve ark., 2004; So ve ark., 2012), tek sağlık kapsamında insan, hayvan ve çevre sağlığını dikkate alarak koagülaz negatif stafilocoklar (KNS) da dahil olmak üzere evcil hayvanlardan izole edilen stafilocokların direnç profilinin sürekli izlenmesi zorunludur. Refakatçi hayvanlarda bulunan bakteri türlerini ve antibiyotik duyarlılık profillerini ortaya koymak; yayılmalarını sınırlamanın, uygun tedavi protokollerinin oluşturulmasının ve hem evcil hayvanların hem de insanların sağlığını güvence altına almanın önemli bir yoludur (Cole ve ark., 1998).

Bu tez çalışmasında sağlıklı ve otitis eksternalı kedi ve köpeklerden izole edilen stafilocok türlerini belirlemek; çoklu ilaç dirençli ve metisilin dirençli stafilocok türlerini ve prevalansını belirlemek; izole edilen *Staphylococcus* spp. suşlarının biyofilm üretme yeteneğini araştırmak; kedilerde ve köpeklerde metisilin ve çoklu ilaç dirençli stafilocokkal otitis eksternanın meydana gelmesinde etkili olan risk faktörlerini (yaş, cinsiyet, ırk ve tıbbi geçmişi gibi) belirlemek; kedi ve köpeklerin doğrudan temas sonrasında insanlar ve diğer hayvanlar için risk oluşturabilecek çoklu ilaç dirençli *Staphylococcus* spp. için rezervuar olup olmadığı konusunda güncel veriler elde etmek amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Staphylococcus spp. insan ve hayvanların deri, üst solunum yolu, alt sindirim ve ürogenital sistem mukozalarında doğal olarak bulunan fırsatçı bakteriyel patojenlerdir (Akan, 2006; Götz ve ark., 2006). Stafilocoklar, insanlarda ve hayvanlarda hafif deri enfeksiyonlarından ölümle sonuçlanan bakteriyemilere kadar değişen birçok enfeksiyona neden olmaktadır (Kong ve ark., 2016; O'Gara, 2017). Stafilocoklar, koagülaz pozitif stafilocoklar (KPS) ve KNS olarak ikiye ayrılmaktadır. KPS türleri, KNS türlerinden daha yüksek patojenik potansiyele sahiptir (Becker ve ark., 2014, Huebner ve Goldmann, 1999). KNS türleri ise kronik ve subakut enfeksiyonlara neden olmaktadır (Huebner ve Goldmann, 1999). Diğer taraftan KNS türlerinin insan sağlığını etkileyen başlıca nazokomiyal patojenlerden biri olduğu da rapor edilmiştir (Anthony ve Anthony, 2013; Becker ve ark., 2014).

İnsanlardan ve hayvanlardan izole edilen en yaygın KPS türlerinin *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus pseudintermedius* olduğu bildirilmiştir (Worthing ve ark., 2018a, 2018b). Diğer önemli KPS türleri ise *Staphylococcus intermedius* ve *Staphylococcus delphini* olarak rapor edilmiştir (Cristina ve Degi, 2009; Goodacre ve ark., 1997; Lynch ve Helbig, 2021). İnsanlardan ve hayvanlardan izole edilen en yaygın KNS türlerinin ise *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus schleiferi* subsp. *schleiferi*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus haemolyticus* ve *Staphylococcus felis* olduğu rapor edilmiştir (Becker ve ark., 2014; Hoekstra ve Paulton 2002; Lilenbaum ve ark.,2000).

2.1. Tarihçe

Stafilocoklar 1878 yılında ilk kez Robert Koch tarafından kümeler oluşturan mikroorganizmalar olarak tanımlanmıştır. 1880'de İskoç cerrah Sir Alexander Ogston, topladığı ve değerlendirdiği verileri yayınlanmış ve insanlarda birçok piyojenik hastalığın etkeni olarak küme oluşturan kokların olduğunu göstermiştir (Archer, 1990; Bergdoll, 1983). Daha sonra, bu organizma "*Staphylococcus*" olarak isimlendirilmiştir ve "üzüm salkımı" anlamına gelen Yunanca "*staphyle*" ve " tane veya meyve"

anlamına gelen "*coccus*" kelimesinden türetilmiştir (Baird-Parker, 1990; Baytaroglu ve Şahin, 2023). Rosenbach (1884), stafilokokları saf kültürde izole eden ve laboratuvarında inceleyen ilk kişi olmuştur ve irinden izole ettiği organizmanın Ogston'un tanımladığı organizma ile aynı olduğunu bildirmiştir. Katı besiyerinde hem beyaz hem de turuncu kolonilerin varlığını gözlemlemiş ve turuncu koloni oluşturan organizmayı *Staphylococcus pyogenes aureus* ve beyaz koloni oluşturanı ise *Staphylococcus pyogenes albus* olarak isimlendirmiştir (Baird-Parker, 1990; Baytaroglu ve Şahin, 2023). Stafilokoklar 1900'lerin başında *Aureococcus aureus* ve *Albococcus epidermidis* olarak iki alt türe ayrılmıştır (Baird-Parker, 1990). *Staphylococcus* türlerinin sınıflandırılması pigment üretimine dayandırılmış, fakat bu yöntem genellikle yetersiz bulunmuştur. 1908'den itibaren *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*'in ilk beş baskısına kadar koagülaz oluşturma ve mannitolün anaerobik fermentasyonuna göre *S. aureus* ve *S. epidermidis* olarak iki türe ayrılmıştır (Baird-Parker, 1990; Christensen ve ark., 1985). Rosenbach'ın orijinal çalışmasından bu yana stafilokokların tür kapsamı ve içeriği büyük ölçüde değişmiştir. *Staphylococcus*, Winslow ve ark. (1920) tarafından *Micrococcaceae* familyasına dahil edilmiştir. *Staphylococcus* ve *Micrococcus* cinsleri, tarihsel olarak *Planococcus* ve *Stomatococcus* cinsleri ile birlikte *Micrococcaceae* olarak adlandırılan aynı familyada yer almıştır; ancak, moleküler filogenetik ve kemotaksonomik analizlerle, farklı Gram-pozitif, katalaz-pozitif kokların yakından ilişkili olmadığı bildirilmiştir (Stackebrandt ve ark., 1997).

Staphylococcaceae ailesi, *Bacillales* takımına, *Bacilli* sınıfına ait *Bacillaceae*, *Listeriaceae*, *Paenibacillaceae*, *Planococcaceae* ve diğer ailelerle birlikte yer almaktadır (Euzéby, 2010). *Bacilli*, düşük bir DNA G/C içeriğine sahip Gram-pozitif bakterilerden oluşan *Firmicutes* filumunun bir parçasıdır ve *Actinobacteria* filumunda yüksek bir DNA G/C içeriğine sahip mikrokoklar bulunmaktadır. Mikrokoklar yeniden sınıflandırılarak düzenlenmiştir ve iki aileye ayrılmıştır: yeniden tanımlanan *Micrococcaceae* ailesi ile *Dermacoccaceae* ailesinin *Micrococcineae* alt takımına (*Actinobacteria* sınıfı) ait olduğu bildirilmiştir (Becker ve ark., 2014).

Stafilokoklar ve mikrokoklar, glukozun anaerobik koşullarda fermentasyon yapma yeteneği ile ayırt edilebilmektedir. Evans (1957) tarafından 7. baskıda

stafilokokların anaerobik olarak üreme ve glikozu fermante etme yetenekleri bakımından fizyolojik olarak mikrokoklardan farklı olduğunu bildirmiştir. 1965 yılında stafilokokların mikrokoklardan ayırımında glikozun anaerobik kullanımı için yapılan test standardize edilmiştir (Parisi, 1985).

R. W. Fairbrother (1940) stafilokok türlerinin ayırımında koagülaz üretimini ortaya koymuştur (Fairbrother, 1940) KNS'lerin heterojen grup, KPS'lerin ise homojen grup olduğu bildirilmiştir (Christensen ve ark.,1985). *Bergey's Manual*'in 1957 yılındaki basımında tüm KNS'ler önemli ölçüde heterojenliğe sahip organizmalardan oluşan tek bir türe dahil edilmesine rağmen, Baird-Parker (1974) tarafından 8. baskıda KPS türü olarak *S. aureus*, KNS türleri olarak *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus* olmak üzere toplam üç tür stafilokok tanımlanmıştır (Parisi, 1985). *Staphylococcus* cinsinin geçmişten günümüze kadar 47 türü ve 23 alt türü tanımlanmıştır. Bunların 38'i KNS sınıflandırması içerisinde yer almaktadır. *S. schleiferi* ise hem KNS alt türü (*S. schleiferi* subsp. *schleiferi*) hem de KPS alt türünde (*Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans*) yer alan iki alt türe ayrılmıştır. İnsanların klinik örneklerinden izole edilen ve en son tanımlanan KNS'ler arasında *Staphylococcus jettensis*, *Staphylococcus massiliensis*, *Staphylococcus petrasii* (*Staphylococcus petrasii* subsp. *petrasii* ve *Staphylococcus petrasii* subsp. *croceilyticus*), *Staphylococcus pettenkoferi* ve *Staphylococcus pseudolugdunensis* bildirilmiştir (De Bel ve ark., 2013; Pantucek ve ark., 2013; Tang ve ark., 2008).

2.2. Etiyoloji

Stafilokoklar, *Staphylococcaceae* familyası, *Bacillales* takımı, *Bacilli* sınıfında yer alan, Gram pozitif, 0.5-1.5 µm çapında, sporsuz, genellikle kapsülsüz bakterilerdir (Akan, 2006; Becker ve ark., 2014). Stafilokoklar, *Staphylococcus saccharolyticus* ve *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius* hariç fakültatif anaerob ve katalaz pozitiflerdir (Alen ve ark., 2006; Bannerman, 2003; Gherardi ve ark., 2018). Stafilokoklar genel olarak oksidaz negatif olmalarına rağmen, *Staphylococcus vitulinus*, *Staphylococcus pulvereri*, *S. fleurettii*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus stepanovicii* ve *Staphylococcus lentus* oksidaz pozitif stafilokok türleridir (Becker ve ark., 2014; Gherardi ve ark., 2018).

Stafilokoklar, 10°C ile 42°C arasındaki sıcaklıklarda ve %10 NaCl varlığında üreme yeteneğine sahiptirler, fakat optimal üreme sıcaklıkları 30-37°C'dir (Akan, 2006). Lizozime dirençli iken, lizostafine duyarlıdırlar. Stafilokok türlerinin kromozomal DNA'daki G/C içeriği yaklaşık olarak %30-40'tır (Gherardi ve ark., 2018).

Bazı stafilokok türleri koagülaz enzimine sahiptir ve KPS olarak tanımlanmaktadır. Bazı türlerde ise koagülaz enzimi yoktur ve KNS olarak tanımlanmaktadır. Koagülaz enzimi serbest koagülaz ve bağlı koagülaz (clumping faktör) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Dinges ve ark., 2000). Hücre duvarındaki enzim, bağlı koagülaz (clumping faktör) enzimidir. Bağlı koagülazın antijenik yapısının serbest koagülazdan farklı olması nedeniyle lam koagülaz testinin negatif çıktığı durumlarda serbest koagülaz açısından tüp testi ile kontrol edilmelidir (Becker ve ark., 2014; Gherardi ve ark., 2018; Kotilainen, 1990).

KPS'ler içerisinde *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*, *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius*, *Staphylococcus agnetis*, *Staphylococcus intermedius*, *S. pseudintermedius*, *S. delphini*, *Staphylococcus lutrae*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus argenteus*, *Staphylococcus schweitzeri* yer almaktadır. KNS'ler içerisinde ise *Staphylococcus arlettae*, *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus capitis* subsp. *capitis*, *Staphylococcus capitis* subsp. *urealyticus*, *Staphylococcus caprea*, *Staphylococcus carnosus* subsp. *carnosus*, *Staphylococcus carnosus* subsp. *utilis*, *Staphylococcus cohnii* subsp. *cohnii*, *Staphylococcus cohnii* subsp. *urealyticus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus massliensis*, *Staphylococcus microti*, *Staphylococcus muscae*, *Staphylococcus nepalensis*, *Staphylococcus pasteurii*, *Staphylococcus pettenkoferi*, *Staphylococcus piscifermentans*, *Staphylococcus rostri*, *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus saprophyticus* subsp. *bovis*, *Staphylococcus saprophyticus* subsp. *saprophyticus*, *Staphylococcus schleiferi* subsp. *schleiferi*, *Staphylococcus sciuri* subsp. *carnaticus*, *Staphylococcus sciuri* subsp. *rodentium*, *Staphylococcus sciuri* subsp. *sciuri*, *Staphylococcus simiae*, *S. simulans*, *Staphylococcus stepanovicii*, *Staphylococcus vitulinus*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus condimenti*, *Staphylococcus devriesei*, *S.*

epidermidis, *Staphylococcus equorum* subsp. *equorum*, *Staphylococcus equorum* subsp. *linens*, *S. felis*, *S. fleurettii*, *Staphylococcus gallinarum*, *S. haemolyticus*, *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis*, *Staphylococcus hominis* subsp. *novobiosepticus*, *Staphylococcus kloosii*, *Staphylococcus lentus* bulunmaktadır (Becker ve ark., 2014; De Bel ve ark., 2013; Pantucek ve ark., 2013; Tang ve ark., 2008).

2.3. Epidemiyoloji

Staphylococcus spp. enfeksiyonları kedi ve köpeklerde genellikle deri hastalıkları (piyoderma), dış kulak kanalı enfeksiyonları (otitis eksterna) ve ürogenital sistem hastalıklarına yol açmaktadır (Bannoehr ve Guardabassi, 2012; Higgins ve ark., 1991; Litster ve ark., 2011; Lynch ve ark., 2021).

Staphylococcus spp. türlerinin birçoğu (*S. aureus* veya *S. epidermidis* gibi) çeşitli konakçılarda bulunurken, bazı türleri (*S. hyicus*, *S. pseudintermedius*, *S. felis* gibi) ise belirgin konak spesifitesi gösterebilmektedir (Devriese, 1977; Bannoehr ve ark., 2012; Higgins ve ark., 1991)

Kedi ve köpeklerin deri ve mukoz membranlarında kommensal olarak bulunan KPS ve KNS'ler derinin travmatik hasarı sonucunda sekonder enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Köpek ve kedilerde en çok rastlanılan hastalıklar arasında otitis eksterna ve piyoderma bulunmaktadır (Bannoehr ve ark., 2012; Higgins ve ark., 1991; Litster ve ark., 2011; Lynch ve ark., 2021). Yiyecek ve çevresel alerjenlere karşı hassasiyeti olan ve aynı zamanda atopik dermatitli olan köpeklerin, piyoderma ve kulak kanalı enfeksiyonlarına daha duyarlı hale geldiği bildirilmektedir (O'Neill ve ark., 2021; Paterson 2016; Pinchbeck ve ark., 2006).

Sağlıklı kedilerden en fazla izole edilen stafilokok türlerinin *S. aureus* ve *S. felis* olduğu rapor edilmiştir (Elmoslemany ve ark., 2021). Bununla birlikte hasta kedi ve köpeklerde *S. aureus*, *S. pseudintermedius*, *S. intermedius*, *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. xylosus*, *S. warneri* ve *S. felis*'in sıklıkla karşılaşılan patojen stafilokok türleri olduğu rapor edilmiştir (Chrobak-Chmiel ve ark., 2008; Elmoslemany ve ark.,

2021 Kang ve ark., 2017; Rambu ve ark., 2020). *S. intermedius* sağlıklı köpeklerin normal mukozasında bulunmakla birlikte, evcil hayvanlarda yaygın olarak piyoderma ve otitis vakalarından izole edildiği ve postoperatif fırsatçı enfeksiyonlara neden olduğu rapor edilmiştir (Abraham ve ark., 2007; Guardabassi ve ark., 2004; Normand ve ark., 2000). *S. pseudintermedius* da sıklıkla karşılaşılan patojen etken olarak bildirilmiştir (Chrobak-Chmiel ve ark., 2008; Kang ve ark., 2017). *S. pseudintermedius*, enfekte hayvanlardan insanlara aktarılabilmekte ve bu nedenle halk sağlığı açısından endişeye neden olmaktadır. *S. pseudintermedius*, özellikle pet hayvan hekimliğinde hayvan sahipleri ve veteriner hekimler gibi evcil hayvanlarla yakın temasta olan insanların çeşitli enfeksiyonlarından izole edilebilmektedir (Paul ve ark., 2011). *S. pseudintermedius* %70'e varan bir izolasyon oranıyla köpeklerde otitis eksterna olgularından bildirilen önemli bir patojen olmasının yanı sıra, diğer bir koagülaz pozitif tür olan *S. aureus* gibi metisilin direnci (MRS) ve çoklu ilaç direncinin (multi-drug resistance; MDR) rapor edilmesi ile de dikkat çekmektedir (Cain, 2013; Graham ve Rosser 2004).

Son yıllarda KNS'lerde farklı antibiyotik direnç profillerinin artarak rapor edilmesi, KNS'lerin tiplendirilmesini klinik ve epidemiyolojik açıdan gerekli kılmaktadır (Anthony ve Anthony, 2013) KNS'lerin ve *S. schleiferi*'nin patojenik potansiyelinde belirsizlik bulunmaktadır ve *S. schleiferi*'nin klinik olarak sağlıklı, otitis eksterna ve piyodermalı köpeklerde yakın zamanda ortaya çıkması, pet hayvanları ile yakın temasta bulunan insanlarda da bildirilmesi (Freney ve ark., 1988; Yarbrough ve ark., 2017) ve yüksek antimikrobiyal direnç ile çeşitli virülans faktörleri nedeniyle veteriner hekimlikte önemli bir sorun haline gelmiştir (Abraham ve ark., 2007; May ve ark., 2005). KPS'lerin dışında, son yıllarda KNS'lerin de hastanede yatan hastalar için ciddi patojenler haline geldiği rapor edilmiştir (Kernodle ve ark., 1990; Lina ve ark., 1999).

Tüm dünyada çok sayıda çalışmada kedi ve köpeklerde en yüksek oranda otitise neden olan bakteriyel patojenlerin stafilokoklar olduğu rapor edilmiştir. kedilerde otitis eksterna ile ilişkili yeterli veri bulunmamasına rağmen köpeklerde otitis olgularından en fazla izole edilen türlerin ise stafilokok olduğu bildirilmiştir. *Staphylococcus* spp. %40 ila %80, KPS %24, *S. aureus* %18-%55, *S. intermedius* %8-

%19, KNS %6-%20, *S. schleiferi* %25, *S. haemoliticus* %16 ve *S. epidermidis* %8 ila %18 oranlarında rapor edilmiştir (Akay 1984; Bajwa, 2019; Bıçakçıoğlu ve ark., 2021; Borum ve ark., 2014; Fernandez ve ark., 2006 İlhan ve ark., 2022; Kuyucuoğlu ve Sarıtaş, 2010; Lynch ve Helbig, 2021; Öztürk ve ark., 2010; Penna ve ark., 2009; Perry ve ark., 2017; Sığırcı ve ark., 2018).

2.4. Virülans Faktörleri

Virülans faktörleri, bakterilerin deri veya mukozal yüzeylerde epitel bariyerini aştıktan sonra hayatta kalma yeteneklerini arttırmaktadır. Stafilocokların sahip olduğu çeşitli virülans faktörleri; immun sistemden kaçış, konakçı dokularına adhezyon ve invazyonda önemli rol oynamakta ve enfeksiyonun şiddetinin artmasına neden olmaktadır (von Eiff, 2001).

Stafilocokkal virülans faktörlerinin çoğu başlangıçta *S. aureus* için tanımlanmış olup bunlar arasında protein A, clumping faktör, fibronektin bağlayıcı proteinler, kapsül, biyofilm oluşturma yeteneği, toksinler ve süperantijenler gibi birçok faktör yer almaktadır (Ballhausen, 2017; Scali ve ark., 2015; Seilie ve Bubeck Wardenburg, 2017; Zeconi ve Scali, 2013).

Adhezin faktörleri arasında yer alan yüzey proteinleri, doku hasarına yol açarak immun sistemden kaçışta önemli bir rol oynamaktadır. Bakteri, hücre duvarı ile ilişkili olan ve adheziv matriks proteinleri olarak tanımlanan mikrobiyal yüzey komponentleri aracılığıyla hücre duvarına bağlanan ve hücre dışı matriks proteinlerini tanıyan adhezinlere (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules: MSCRAMMS) bağlanabilmektedir. Bunlar arasında yer alan fibronektin bağlayıcı proteinler, ekstraselüler matrikste bulunan fibronektin ve elastine bağlanma yeteneğine sahiptirler ve konak dokularında hasara neden olmaktadır. Ekzopolisakkaritler biyofilm oluşumunda rol oynayarak fagositozu inhibe etmektedir. Diğer önemli adhezinler teikoik asit, lipoteikoik asit ve polisakkarit intrasellüler adhezinlerdir. Stafilocokkal protein A ise neredeyse tüm *S. aureus* suşlarının ve bazı KNS'lerin hücre duvarında bulunmakta ve immunoglobulinlere Fc kısmından bağlanarak opsonizasyonu ve fagositozu inhibe etmektedir. (Balachandran ve ark.,

2018; Becker ve ark., 2014; Cheung ve Otto, 2023; Rasheed ve Hussein, 2020; Scali ve ark., 2015; Wilson ve ark., 2011).

Stafilokoklar tarafından salgılanan koagülaz, stafilokinaz, proteaz, hyaluronidaz, nükleaz, proteaz, lipaz, katalaz, lizozim ve laktat dehidrojenaz gibi enzimler bakterinin invazyonuna ve enfeksiyonun meydana gelmesine yol açmaktadır. Stafilokokların büyük çoğunluğu tarafından katalaz enzimi üretilmekte ve bu enzim canlı hücreler için zararlı bir bileşik olan hidrojen peroksidi oksijen ve suya ayrıştırmaktadır. Lipaz, dokunun lipid yapısını parçalamakta, deri ve derialtı dokuda enfeksiyonun şekillenmesine neden olmaktadır. Hyalüronidaz enzimi, hyalüronik asidi parçalayarak bakterinin invazyonuna neden olmaktadır (Dinges ve ark., 2000). Por oluşturan toksinler (Pore Forming Toxin, PFT) monosit, nötrofil, trombosit, eritrosit ve epitelyal hücrelerin lizisine neden olmaktadır (Seilie ve Bubeck Wardenburg, 2017; Kong, 2016). Koagülaz enzimi plazmayı koagüle eden bir prothrombin benzeri bir enzimdir. Fibrinojeni fibrine çevirirerek tavşan plazmasını pıhtılaştırmaktadır. Bu sayede bakterilerin çevresi fibrinle sarılmalarak fagosit göçü ve fagositozis engellenmektedir (Scali ve ark., 2015). Bu nedenle KPS türlerinin KNS'lere göre daha yüksek patojeniteye sahip olduğu bildirilmektedir (Becker ve ark., 2014, Huebner ve Goldmann, 1999). KNS'ler ise genellikle konakçıda fırsatçı enfeksiyonlara neden olmaktadır (Akan, 2006; Becker ve ark., 2014; Gotz ve ark., 2006).

Hücre dışı toksinler arasında ise hemolizinler, Panton-Valentine lökositin (*PVL*), enterotoksinler, toksik şok sendromu toksin-1 (TSST-1) ve eksfoliatif toksin yer almaktadır (Rasheed ve Hussein, 2020; Wilson ve ark., 2011). Stafilokokal virülans faktörleri arasında hemolizinler yaygın olarak bilinmekte (Sender ve ark., 2017) ve alfa (α), beta (β), delta (δ) ve gama (γ) olmak üzere dört farklı tipte hemolizin tanımlanmaktadır (Nasaj ve ark., 2020). α hemolizin hücre zarının bütünlüğünün bozulmasına, deri nekrozuna ve insanda pulmoner ödeme neden olmaktadır (Dinges ve ark., 2000; Prevost ve ark., 2003). β hemolizin ise apseleşme, doku hasarına neden olmaktadır ve ısıya duyarlı bir proteindir. Eritrosit, lökosit, makrofaj ve fibroblastlar için sitotoksik özellik göstermektedir (Dinges ve ark., 2000; Prevost ve ark., 2003). Güçlü bir stafilokokal ekzotoksin olan *PVL* insanda polimorf-nükleer hücrelerin plazma membranına etki etmektedir ve stafilokokkal lökositinlerden neredeyse 100

kat daha etkili olduğu bildirilmiştir (Kong 2016). Süperantijenler olarak bilinen stafilokokal enterotoksinler (SE) ve TSST-1 de virülansta rol oynamaktadır (Rasheed ve Hussein, 2020; Wilson ve ark., 2011). Bugüne kadar 20'den fazla SE tanımlanmış olup, gıda kaynaklı hastalıkların en sık nedenlerinden biridir. TSST-1, ciddi hastalıklara, toksik şoklara ve ölümlere neden olmaktadır. Eksfoliatif toksinler (ET), desmozomal hücre bağlantılarının (desmoglein-1) tahrip olmasına neden olarak epiderminin kopmasına yol açan stafilokokkal yanık deri sendromuna neden olmaktadır (Ballhause, 2017; Kong, 2016).

Biyofilm ise bakterilerin canlı ve cansız yüzeylere adhezyonunu sağlamaktadır. Bununla birlikte bakterinin, antibiyotiklerin etkisinden ve immun sistemden kaçmasında önemli rol oynamaktadır (Zecconi ve Scali, 2013). *Staphylococcus* spp. ve *Pseudomonas* spp. gibi bazı patojenlerin son yıllarda biyofilm tabakası oluşturarak uygun bir tedaviye rağmen, enfeksiyonu kalıcı hale getirdiği ve biyofilm tabakasının bu patojenlerin antimikrobiyal ajanlara direncinde önemli rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (Bajwa, 2019; Chan ve ark., 2019; Paterson, 2016). Bakteriyel biyofilmlerin, aynı bakteri türünün planktonik durumuna kıyasla antibiyotiklere on ila bin kat daha dirençli olduğu bildirilmiştir (Mah ve O'Toole, 2001; Olson ve ark., 2002). Bu nedenle biyofilm oluşturma yeteneği, antibiyotik direncine ve nozokomiyal enfeksiyonların yayılmasına yol açan önemli bir virülans faktörü olarak kabul edilmektedir (Osland ve ark., 2012). Beta-laktamaz enzimi ise beta laktam halkasını parçalayarak antibiyotik direncinin oluşmasına neden olmaktadır (Dinges ve ark., 2000).

S. pseudintermedius'un *S. aureus* ile benzer virülansa sahip olduğu, bunun yanı sıra *S. pseudintermedius*'ta adhezyon, biyofilm oluşturma ve immun sistemden kaçmada çeşitli putatif virülans genlerini içeren ve çeşitli toksinleri kodlayan farklı genlerin bulunduğu da rapor edilmiştir (Gonzalez-Martin ve ark., 2020).

2.5. Antimikrobiyal Direnç

Mikroorganizmalarda antibiyotik direncin giderek artması ve MDR mikroorganizmaların yayılması nedeniyle bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde ciddi problemler yaşanmaktadır. Bu durumda antibiyotiklere duyulan ihtiyaç artmakta ve tedavi güçlükleri ile karşılaşilmektedir (Guardabassi ve ark., 2004; Prescott ve ark., 2002). Metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) ve metisilin dirençli *S. pseudintermedius* (MRSP) suşlarının varlığı, veteriner hekimlik uygulamaları için ciddi problemlere neden olmaktadır (Griffeth ve ark., 2008; Jones ve ark., 2007; Loeffler ve ark., 2007). Dirençli patojenler sadece hasta için tehlike oluşturmamakta, sağlık çalışanları ve diğer yollar ile hastane ortamında yayılarak hastane enfeksiyonlarına da neden olabilmektedir (Méan ve ark., 2007).

Evcil hayvanlarla, özellikle köpeklerle yaşayan insan sayısında dünya çapında son on yılda artış bildirilmiştir (Facco ve Kantar, 2016; Song ve Lim, 2015). Köpekler, doğrudan temas yoluyla veya dolaylı olarak insanlara bulaşabilen antimikrobiyal dirençli (AMR) mikroorganizmalar için potansiyel rezervuarlarından biri olarak kabul edilmektedir (Guardabassi ve ark., 2004; So ve ark., 2012). AMR'nin ortaya çıkması ve yayılmasının insanlar için ciddi sonuçları olduğundan, halk sağlığına yönelik potansiyel tehditleri değerlendirmek için hem insanlarda hem de hayvanlarda düzenli güncellemelerle direnç ve zamansal varyasyonların yaygınlığı hakkında bilgi gereklidir (Cole ve ark., 1998). *S. intermedius*'un zoonotik suşlarının köpeklerden insanlara geçme olasılığı rapor edilmiştir ve insanlarda da ciddi enfeksiyonlara neden olduğu bildirilmiştir (Bes ve ark., 2002; Goodacre ve ark., 1997; Harvey ve ark., 1994; Tanner ve ark., 2000). İnsanlarda, köpek ısırıkları aracılığıyla bulaşan MRSP ile ilişkilendirilen yumuşak doku enfeksiyonları giderek daha yaygın hale gelmektedir (Borjesson ve ark., 2015). *S. intermedius* enfeksiyonlarının uzun süreli tedavi veya yanlış seçilmiş antibiyotiklerin, birden fazla antibiyotik sınıfına dirençli popülasyonların gelişmesine yol açabileceği rapor edilmiştir (Abraham ve ark., 2007; Loeffler ve ark., 2007; Morris ve ark., 2006). Dirençli suşların yayılması nedeniyle mikroorganizmalar üzerinde etkili olan antibiyotik sayısı sürekli olarak azalırken, stafilokok enfeksiyonlarını tedavi etmek için alternatif yaklaşımlar giderek daha fazla araştırılmaktadır (Cheung ve Otto, 2023).

Otitis eksternalı köpeklerden izole edilen mikroorganizmaların antibiyotiklere duyarlılıkları farklılıklar göstermektedir (Petrov ve ark., 2013). Bu nedenle antimikrobiyal direnç ve dirençli suşların köpeklerden sahiplerine geçişi halk sağlığı sorunu haline gelmekte ve antibiyotik direncini diğer patojen bakterilere horizontal olarak aktarabilmektedir (Bes ve ark., 2002; Goodacre ve ark., 1997; Harvey ve ark., 1994; Tanner ve ark., 2000). Bu nedenle klinik bir tehdit ve küresel bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir (Guardabassi ve ark., 2004; Prescott ve ark., 2002).

Dünya çapında veteriner hekimler tarafından otitis tedavi protokolleri genellikle klinik tabloya ve bazen de eksudattan hazırlanan preparatların Gram boyama yöntemi ile incelenmesine dayanmaktadır. Bu da ampirik antibiyotik ve topikal anti-enflamatuvar ilaç uygulamasına yol açmaktadır (Hariharan ve ark., 2006). Köpeklerde otitis olgularından yaygın olarak izole edilen stafilokok türleri çoğunlukla herhangi bir duyarlılık testi yapılmadan çeşitli antimikrobiyallerle tedavi edilmeye çalışılmaktadır (Coelho ve ark., 2007). Kedilerde ise otitis alerjiler, tedavinin daha az etkili olması ve yaygın olarak sistemik ilaç tedavisine ihtiyaç duyulması nedeniyle genellikle köpeklerden daha zorlu bir süreçle sonuçlanmaktadır (Kennis, 2012). İnsanlar ile kedi ve köpekler benzer antimikrobiyallerle tedavi edilmektedirler (Coelho ve ark., 2007). Bu durum dünya çapında görülen β -laktam antibiyotiklere dirençle sonuçlanan *mec* genlerini taşıyan suşların yayılmasına yol açmakta ve antimikrobiyal tedaviyi zorlaştırmaktadır (Coelho ve ark., 2007; Worthing ve ark., 2018).

Metisiline dirençli stafilokoklar, hayvanlarda ve insanlarda yaygın olarak kullanılan tüm β -laktam antibiyotiklere dirençli oldukları ve halk sağlığı üzerinde büyük bir etkiye sahip oldukları için özel bir öneme sahiptir (Loeffler ve ark., 2007; Ross Fitzgerald, 2009). Birçok ülkede küçük hayvanlarda, özellikle köpeklerde, MRSA ile ilişkili otitis enfeksiyonlarının yanı sıra, yara enfeksiyonları, cerrahi operasyon enfeksiyonları, piyoderma, piyojenik endokardit, suppuratif pnömoni, osteomyelit, septik artritis ve idrar yolu enfeksiyonları da rapor edilmiştir (Algammal ve ark., 2020; Weese ve van Duijkeren, 2010). Metisilin direnci stafilokoklarda en önemli antimikrobiyal direnç mekanizmasıdır. Metisilin direncinden sorumlu olan penisilin bağlayıcı protein 2a (*PBP2a*) mobil Stafilokokkal Kaset Kromozomu *mec* (*SCCmec*) üzerinde taşınan *mecA* geni tarafından kodlanmaktadır. Bu protein, tüm β -

laktam türevlerine, dahil olmak üzere penisilinlere, sefalosporinlere ve karbapenemlere karşı dirence neden olmaktadır (Kania ve ark., 2004). *S. pseudintermedius* suşlarında da beta-laktam direncinin *mecA* veya daha nadiren *mecC* genleri tarafından kodlandığı bildirilmiştir (Liu ve ark., 2016).

MRSA çoklu ilaç direnci gösteren patojen olması nedeniyle önemi büyüktür ve günümüzde MRSA tüm dünyada yaygın olarak görülmekte olup, prevalansı ülkeler arasında değişim göstermektedir. MRSA prevalansı Hollanda gibi ülkelerde %1 civarı iken, Güney Avrupa ülkelerinde, Amerika Birleşik Devletleri'nin (ABD) büyük bir bölümü ve Avustralya gibi bazı ülkelerde bu oranın %25-50'lere ulaştığı bildirilmektedir. ABD'de bu oranın yoğun bakım ünitelerinde ise %60'ları geçtiği rapor edilmiştir (Grundmann ve ark., 2006; Hawkey, 2008; Sancak, 2011). MRSA ve MRSP suşları, beta-laktam grubu antibiyotiklerin yanı sıra linkozamid, aminoglikozitler, kinolonlar, makrolidler, fenikoller, sülfonamidler ve tetrasiklinler dahil olmak üzere beta-laktam olmayan antibiyotiklere de direnç göstermektedirler (Hawkey, 2008; Papich, 2012; Tamakan ve Göçmen, 2019). Hayvan kaynaklı *Staphylococcus* spp. izolatlarında *mecA* geninin kaynağı bilinmemesine rağmen, insan hekimliğinde *mecA* geninin muhtemelen koagülaz negatif bir stafilokok olan *S. sciuri*'den kaynaklandığı ve *S. aureus*'a horizontal olarak transfer edildiğine dair kanıtların bulunduğu rapor edilmiştir (Wu ve ark., 1996). Veteriner hekimlikte KNS türlerinde ise metisilin direnci nadiren rapor edilmektedir (Teixeira ve ark., 2019).

Üç veya daha fazla farklı antimikrobiyal ilaç sınıfına dirençli olan bakteriler MDR izolatlar olarak tanımlanmaktadır. MDR izolatları, veteriner hekimlikte tedavide güçlüklerle yol açmaktadır. MRSP suşlarının genellikle üç veya daha fazla antimikrobiyal ilaca (tetrasiklinler, trimetoprim-sülfonamidler, fluorokinolonlar dahil, kloramfenikol ve makrolidler) karşı dirençli olduğu bildirilmiştir (McCarthy ve ark., 2015; Sasaki ve ark., 2007; Tamakan ve Göçmen, 2019). MRSP veya MDR *S. pseudintermedius* suşları dünya genelinde artan bir tehlike olarak rapor edilmektedir. (Bailey 2015; Bell ve ark., 2016). *S. aureus* ve *S. pseudintermedius* izolatlarının veteriner hekimlikte kullanımına izin verilen birçok antimikrobiyole direnç gösterdiğine dair raporlar bulunmaktadır (Perreten ve ark., 2010; Weese ve van Duijkeren, 2010).

Yapılan çalışmalarda otitis eksternalı köpeklerden izole edilen mikroorganizmaların antibiyotiklere duyarlılıkları farklılıklar göstermektedir. Köpeklerde otitis eksterna vakalarının %10-48,1'inde MRSP izole edildiği bildirilmiştir (Chan ve ark., 2018; Ruscher ve ark., 2009; Sim ve ark., 2019; Zur ve ark., 2016). Bir çalışmada tüm MRSP izolatlarının aynı zamanda MDR olduğu da rapor edilmiştir (Zur ve ark., 2016). Teixeira ve ark. (2019) sağlıklı ve piyoderma veya otitis bulguları olan hasta köpeklerden izole ettikleri KNS'lerin %10,2'sinde metisilin direnci tespit ettiklerini ve metisilin direnci yönünden sağlıklı ve hasta köpekler arasında istatistiksel olarak fark saptamadıklarını ($p>0,05$), refakatçi hayvanların metisilin dirençli KNS taşıyıcısı olduğunu rapor etmişlerdir. Bu nedenle bu bakterilerin direnç profillerinin izlenmesi gerektiğini ve hayvanların insanlar için potansiyel risk olup olmadığı konusunda araştırmalar yapılması gerektiğini vurgulamışlardır (Teixeira ve ark., 2019).

Martins ve ark. (2022) otitisli 138 köpek ve 4 kedi üzerinde yaptıkları çalışmada izolatların neredeyse %50'sinde MDR saptadıklarını, veteriner hekimlikte yakın gelecekte birinci basamak antimikrobiyallere yanıt vermeyen zorlu vakalar ile karşılaşılabilirliğini ve evcil hayvanların sahipleri ile yakınlığı göz önüne bulundurulduğunda MDR bakterilerin potansiyel bir halk sağlığı sorunu haline geldiğini vurgulamışlardır.

2.6. *Staphylococcus* spp. İzolasyon ve İdentifikasyonu

Stafilokokların izolasyon ve identifikasyonu rutin teşhiste konvansiyonel bakteriyolojik yöntemler (koloni morfolojisi, Gram boyama, katalaz testi, koagülaz testi, DNase testi, mannitol salt agarda üreme özelliği gibi) ve API, MicroScan, Phoenix, VITEK, ID 32 STAPH ve Matris destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş süresi kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) gibi otomatize sistemler ile yapılmaktadır (Becker ve ark., 2014; Leonard ve ark., 2022). Moleküler yöntemler ile ticari otomatize sistemler kullanılarak *Staphylococcus* türlerinin birçoğu %70 ila >%90 oranında doğrulukla tanımlanabilmektedir (Becker ve ark., 2014).

Veteriner hekimlikte önem taşıyan *S. intermedius* grubuyla yakından ilişkili olan stafilokok türlerinin (*S. intermedius*, *S. pseudintermedius* ve *S. delphini*) fenotipik yöntemler ile ayırımında güçlükler olduğu bildirilmiştir (Bannoehr ve ark., 2007; Ghebremedhin ve ark. 2008; Sasaki ve ark. 2007; Takahashi ve ark., 1999). *S. intermedius* ilk olarak 1976'da tanımlanmış ve *S. aureus* ve *S. epidermidis* ile biyokimyasal özelliklerinin benzerlik gösterdiği tespit edilmiş, dolayısıyla "*S. intermedius*" olarak isimlendirilmiştir (Hajek, 1976). *S. intermedius* izolatlarında gözlemlenen yüksek fenotipik değişkenlik (Devriese ve ark., 1979; Hajek 1976) önemli bir genotipik varyasyonla ilişkilendirilmiştir (Bannoehr ve ark., 2007; Chesneau ve ark., 2000; Meyer ve ark., 1978).

S. pseudintermedius ise ilk kez 2005 yılında tanımlanmış ve fenotipik özelliklerinin *S. intermedius* ve *S. delphini* ile benzer olduğu bildirilmiştir ve geçmişte sıklıkla *S. intermedius* ile karıştırıldığından dolayı *S. intermedius* veya *S. aureus* olarak rapor edilmiştir (Devriese ve ark., 2005; Sasaki ve ark., 2007). 2007 yılında yayınlanan raporlarda yapılan filogenetik analizler sonucunda *S. intermedius*'un köpek, kedi ve insanlardan identifiye edilen suşlarının tamamının aslında *S. pseudintermedius* olduğu bildirilmiştir (Bannoehr ve ark., 2007; Sasaki ve ark., 2007). Bu nedenle, geleneksel *S. intermedius* benzeri fenotipik özelliklere sahip izolatların kökeninin köpeklerden geldiği ve bunların *S. pseudintermedius* olarak tanımlanması gerektiği önerilmiştir (Hermans ve ark., 2010; Kwok ve ark., 2003).

S. pseudintermedius'un identifikasyonu polimiksin B duyarlılığı, hyaluronidaz ve DNaz enzimlerinin varlığına göre yapılmaktadır. *Staphylococcus indermedius* grup (SIG) içerisinde yer alan *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* ve *S. delphini* genellikle hyaluronidaz negatif, DNaz pozitif ve polimiksin B'ye duyarlıdır (Vestergaard ve ark., 2017). *S. aureus* ise intrinsik olarak polimiksin B'ye dirençlidir ve hyaluronidaz aktivitesi göstermektedir (Skalka, 1985; Vestergaard ve ark., 2017). *S. pseudintermedius*'un *S. intermedius*'tan ayırımı için ise Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) yönteminin kullanımına ihtiyaç duyulmaktadır. Son yıllarda *S. pseudinetrmadius*'un MALDI-TOF MS analizi ile de yüksek doğrulukla identifiye edildiği rapor edilmektedir (Decristophoris ve ark., 2011; Perreten ve ark., 2010; Silva, 2015). Günümüzde patojenlerin identifikasyonunda MALDI-TOF MS kullanımı

artmaktadır. MALDI-TOF MS yönteminin tüm hücre analizini esas alması ve protein parmak izine dayanarak mikroorganizmaların hızlı identifiye etmesi nedeniyle en güvenilir sistemlerden biri olduğu rapor edilmektedir (Uysal ve ark., 2019). Fakat MALDI-TOF yönteminin spesifitesi ile ilişkili SIG üyelerinin identifikasyonunda çeşitli raporlar bulunmaktadır (Decristophoris ve ark., 2011; Silva, 2015).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Etik Kurul Onayı

Bu araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu Başkanlığının (MAKÜHAYDEK/29.03.2023 tarih ve 1035 sayılı karar) onayı ile gerçekleştirildi.

3.1.2. Çalışma Popülasyonu ve Örneklem Prosedürü

Çalışmaya Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 22.06.2022 tarih ve 925 sayılı karar ile uygun bulunan “Köpeklerde Castellani Solüsyonunun Otitis Eksterna Olgularındaki Etkinliğinin Araştırılması” başlıklı proje kapsamındaki köpekler ile Şubat-Aralık 2023 tarihleri arasında Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hastanesine getirilen kedi ve köpekler dahil edildi.

Bu çalışma kapsamında örneklerin toplandığı hayvanlar sağlıklı kedi (1), hasta kedi (2), sağlıklı köpek (3) ve hasta köpek (4) olmak üzere dört farklı gruba ayrıldı. Hasta grupları otitis eksterna tanısı konulan kedi (n: 50) ve köpekler (n: 50), sağlıklı grupları ise aşılama, tıraş veya kısırlaştırma için getirilen sağlıklı kedi (n: 50) ve köpekler (n: 50) oluşturdu.

Gruplarda yer alan tüm hayvanların her iki kulağından olmak üzere toplam 400 adet kulak svabı örneği toplandı. Svap örnekleri Stuart transport medium ile soğuk zincirde (+4 °C) Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı’na ulaştırılarak analizleri yapıldı.

Svap örneklerinin alındığı hasta kedilerin ırkları sırasıyla tekir (n: 16), British Shorthair (n: 11), Scottish Fold (n: 7), karışık ırk (n: 7), İran kedisi (n: 2), Bombay (n: 2), Devon Rex (n: 1), Scottish Straight (n: 1), Exotic Shorthair (n: 1), Habeş (n: 1) ve

Ankara kedisiydi (n: 1). Sağlıklı kedilerin ırkları ise sırasıyla British Shorthair (n: 19), tekir (n: 15), Scottish Fold (n: 11), karışık ırk (n: 3), British Longhair (n: 1) ve Siyam kedisiydi (n: 1). Kedi ırkları uzun tüylü (n: 4) ve kısa tüylü (n: 96) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Hasta gruptaki kedilerin 3'ü uzun tüylü, 47'si kısa tüylüydü. Sağlıklı grupta yer alan kedilerin ise 1'i uzun tüylü, 49'u kısa tüylü kedi ırkıydı.

Hasta köpeklerin ırkları sırasıyla karışık ırk (n: 16), kangal (n: 7), Golden Retriever (n: 6), Cocker Spaniel (n: 6), Alman Çoban Köpeği (n: 3), Terrier (n: 3), Pug (n: 3), Çatalburun (n: 1), Fransız Bulldog (n: 1), Sibiryalı kurdu (n: 1), Labrador Retriever (n: 1), Poodle (n: 1) ve Pomeranian (n: 1) idi. Sağlıklı köpek ırkları ise sırasıyla karışık ırk (n: 23), Maltese Terrier (n: 4), Terrier (n: 3), Golden Retriever (n: 3), Pekinez (n: 3), Chihuahua (n: 3), Fransız Bulldog (n: 2), Poodle (n: 2), kangal (n: 1), Pug (n: 1), Labrador Retriever (n: 1), Pomerian (n: 1), Pinscher (n: 1), Cocker Spaniel (n: 1) ve Cavalier King Charles Spaniel (n: 1) idi. Köpek ırkları ise büyük (n: 65), orta (n: 14) ve küçük (n: 21) ırk olmak üzere üç gruba ayrıldı. Hasta gruptaki köpeklerin 35'i büyük ırk, 10'u orta boy ırk, 5'i küçük boy ırk köpekti. Sağlıklı köpeklerin 30'u büyük boy, 4'ü orta boy ırk, 16'sı küçük ırk köpekti. Yaş gruplarına göre hayvanlar bir yaşından küçük, 1-5 yaş arası ve beş yaşından büyük olmak üzere üç gruba ayrıldı (Worthing ve ark., 2020). Kulak svabı örneklerinin alındığı kedi ve köpeklerin yaş, ırk ve cinsiyet bilgileri tablo 3.1'de sunuldu.

Tablo 3.1. Kulak svabı örneklerinin alındığı kedi ve köpeklerin yaş, ırk ve cinsiyet bilgileri.

	Kedi (n: 100)	Köpek (n: 100)
Yaş		
<1	43	31
1-5	57	56
>5		13
İrk		
Uzun tüylü	4	
Kısa tüylü	96	
Büyük		65
Orta		14
Küçük		21
Cinsiyet		
Dişi	58	55
Erkek	42	45

3.1.3. Referans Stafilokok Suşları

Bu araştırmada kontrol olarak kullanılan *S. aureus* 25923, *S. aureus* 43300 ve *Staphylococcus epidermidis* YT-169a suşları Öğr. Gör. Dr. Orhan YAVUZ ve Mert SUDAĞIDAN'dan temin edildi.

3.1.4. Besiyerleri

3.1.4.1. Blood Agar Base (Oxoid, UK)

Kulak svabı örneklerinden stafilokokların izolasyonu için kanlı agar kullanıldı. Besiyeri aşağıda verilen formüle göre hazırlandı.

Blood agar	40 gr
Distile su	1000 ml

Blood agar tartılarak distile su içerisinde eritildikten sonra, pH 7'ye ayarlandı ve 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi. Süre sonunda besiyeri 45-50 °C'ye kadar soğutulup üzerine %5-7 oranında steril defibrine koyun kanı ilave edildi. Petrilere yaklaşık olarak 12-13 ml besiyeri döküldükten sonra sterilizasyon kontrolü için 37 °C'de bir gece inkübe edildi. Defibrine steril koyun kanının alımı şekil 3.1'de sunuldu.



Şekil 3.1. Defibrine koyun kanının alınması.

3.1.4.2. MacConkey Agar (Condalab, Spain)

Kulak svabı örneklerinden izole edilen Gram negatif bakterilerin identifikasyonu için MacConkey agar kullanıldı. Besiyerinin hazırlanışı aşağıda verilen formüle göre yapıldı.

MacConkey Agar	50 gr
Distile su	1000 ml

MacConkey agar tartılarak distile su içerisinde eritildikten sonra, pH 7'ye ayarlandı ve 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi. Süre sonunda besiyeri 45-50 °C'ye kadar soğutulup petrilere 12-13 ml dağıtıldıktan sonra sterilizasyon kontrolü için 37 °C'de bir gece inkübe edildi.

3.1.4.3. Muller Hinton Agar (Oxoid, UK)

Kulak svabı örneklerinden izole edilen stafilocokların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla Muller Hinton Agar kullanıldı. Muller Hinton Agar aşağıda verilen formüle göre hazırlandı.

Muller Hinton Agar	38 gr
Distile su	1000 ml

Muller Hinton Agar tartılarak distile su içerisinde eritildikten sonra, pH 7'ye ayarlandı ve 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi. Süre sonunda besiyeri 45-50 °C'ye kadar soğutulup petrilere yaklaşık olarak 12-13 ml besiyerleri döküldü. Sterilizasyon kontrolü için 37 °C'de bir gece inkübe edildi.

3.1.4.4. %1 Glikoz (w/v) İçeren Brain Heart İnfüzyon (BHI) Broth

Kulak svabı örneklerinden izole edilen stafilocokların biyofilm üretme yeteneğini belirlemek için %1 glikoz içeren BHI broth kullanıldı. Besiyeri aşağıda verilen formüle göre hazırlandı.

Brain Heart İnfusiyon Broth (Difco, USA)

Brain heart infusiyon broth	37 gr
Distile su	1000 ml

Besiyeri tartılarak distile su içerisinde eritildikten sonra, pH 7'ye ayarlandı ve 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

Glikoz Çözeltisi (%10 w/v)

Glikoz (Tekkim, Türkiye)	10 gr
Distile su	100 ml

Glikoz distile su içerisinde tamamen çözündükten sonra 0,22 µm'lik steril enjektör ucu filtreler kullanılarak steril edildi.

Hazırlanan BHI buyyon soğuduktan sonra besiyerinin içerisine aseptik koşullarda glikoz çözeltisinden son konsantrasyon %1 olacak şekilde ilave edildi.

3.1.4.5. Triptik Soy Broth (Condalab, Spain)

Triptik soy broth (TSB) aşağıdaki formüle göre hazırlandı.

Triptik soy broth	40 gr
Distile su	1000 ml

Besiyeri tartılarak distile su içerisinde çözdürüldü. Hazırlanan besiyeri 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi.

3.1.4.6. Gliserol (%15, v/v) İçeren Triptik Soy Broth (Condalab, Spain)

Kulak svabı örneklerinden izole edilen stafilokokların -20 °C'de saklanması sırasında %15 (v/v) gliserol içeren TSB kullanıldı. Besiyeri aşağıda verilen formüle göre hazırlandı.

Triptik soy broth	4 gr
Gliserol (Aklarkimya, Ankara)	15 ml
Distile su	85 ml

Besiyeri tartılarak distile su içerisinde çözündürüldü. Çözelti içerisine gliserol ilave edildi ve distile su ile toplam hacim 100 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan besiyeri 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi.

3.1.5. Çalışmada Kullanılan Solüsyonlar

3.1.5.1.%0,9 (W/V)'luk Fizyolojik Tuzlu Su

%0,9'luk fizyolojik tuzlu su (FTS) aşağıdaki şekilde formüle edildi.

NaCl (Merck, Germany)	292,2 gr
Distile su	1000 ml

NaCl distile su içerisinde çözündürüldü ve 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril hale getirildi.

3.1.5.2. Fosfat Tamponlu Tuzlu Su (Phosphate Buffer Saline, PBS, pH 7,2)

Kulak svabı örneklerinden izole edilen stafilokokların biyofilm üretme yeteneğini belirlerken fosfat tamponlu su kullanıldı. PBS aşağıda verilen formüle göre hazırlandı.

NaCl (Merck, Germany)	4 gr
KCl (Merck, Germany)	0,1 gr
KH ₂ PO ₄ (Merck, Germany)	0,12 gr
Na ₂ HPO ₄ (Merck, Germany)	0,72 gr
Distile su	500 ml

Yukarıdaki maddeler distile su içerisinde iyice eritildikten sonra pH 7,2-7,4'e ayarlandı ve 121°C'de 20 dakika otoklavlanarak steril edildi.

3.1.5.3. %3'lük Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Solüsyonu (v/v)

Katalaz testi için gerekli olan % 3'lük H₂O₂ solüsyonu aşağıdaki formüle göre hazırlandı

H ₂ O ₂ (% 30, Merck, Germany)	10 ml
Distile su	90 ml

Distile su üzerine 10 ml % 30'luk H₂O₂ yavaş yavaş eklendi.

3.1.5.4. Tavşan Plazması (Merck, Germany)

Ticari olarak temin edilen liyofilize tavşan plazması 3 ml steril distile su ile çözdürüldü.

3.1.6. Çalışmada Kullanılan Antibiyotik Diskleri

Çalışmada penisilin (10 IU, Bioanalyse), ampisilin (10 µg, Bioanalyse), amoksisilin-klavulanik asit (20/10 µg, Bioanalyse), sefovesin (30 µg, Oxoid), sefoksitin (30 µg, Bioanalyse), oksasilin (1 µg, Bioanalyse), gentamisin (10 µg, Bioanalyse), amikasin (30 µg, Bioanalyse), eritromisin (15 µg, Bioanalyse), tetrasiklin (30 µg, Bioanalyse), enrofloksasin (5 µg, Bioanalyse), siprofloksasin (5 µg, Bioanalyse) klindamisin (2 µg, Bioanalyse) rifampin (5 µg, Bioanalyse) sülfametoksazol/trimetoprim (SM/TM, 23.75/1.25 µg, Bioanalyse) ve kloramfenikol (30 µg, Bioanalyse) diskleri kullanıldı.

3.1.7. DNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tris-Hidroklorid (Tris-HCL, 0,1 M): Tris-hidroklorid'ten (Fisher Scientific, UK) 12,114 g tartılarak 800 ml distile su ile çözdürüldü. İşlem sonunda distile su ile son hacim 1000 ml'ye tamamlandı. HCL ile pH 7,2'ye ayarlandıktan sonra 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi.

Lizostafin: Lizostafin (Sigma L-7386, USA), 100 µg/ml konsantrasyonunda kullanıldı.

Proteinaz K: Proteinaz K (Genaxxon, Germany), 100 µg/ml konsantrasyonunda kullanıldı.

3.1.8. DNA'nın Amplifikasyonu için Kullanılan Malzemeler

Taq DNA Polimeraz: Çalışmada Xpert Taq DNA Polymerase (dNTPs included) 500U (Grisp, Portugal) kullanıldı.

Primerler: Çalışmada *mecA* genin varlığını araştırmak için 162 bp'lik primer çifti (forward primer 5'- ACT GCT ATC CAC CCT CAA AC -3', reverse primer 5'- CTG GTG AAG TTG TAA TCT GG-3') kullanıldı (Mehrotra ve ark., 2000).

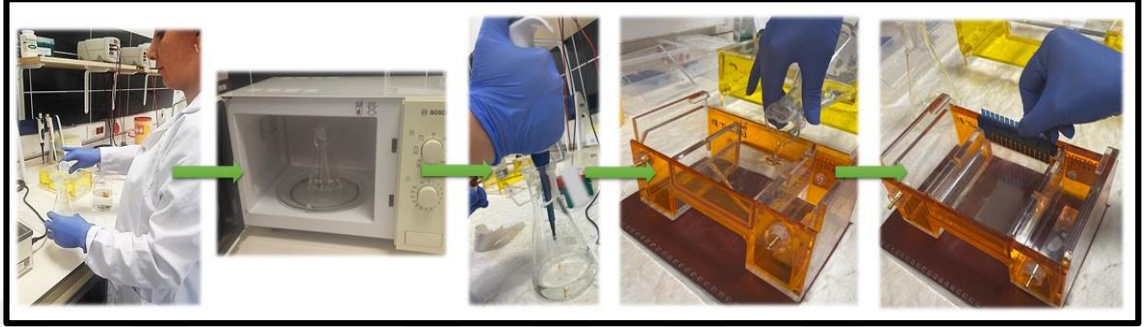
Marker: Çalışmada 100 bp *DNA Ladder* (Jena Bioscience, Germany) kullanıldı.

Pozitif ve Negatif Kontrol: PZR analizlerinde pozitif kontrol olarak *S. aureus* 43300 ve *S. pseudintermedius* Burdur2021 suşlarından izole edilen DNA örnekleri, negatif kontrol olarak ise *S. aureus* 25923 suşundan izole edilen DNA ve DNA içermeyen PZR karışımı kullanıldı.

3.1.9. Agaroz Jel Elektrophorez için Kullanılan Malzemeler

Tris-Acetate-EDTA (TAE) Elektrophorez Tamponu: Elektrophorez aşamasında, yürütme tamponu olarak 1 X TAE solüsyonu kullanıldı. Bunun için 10 X TAE stok tampon solüsyonundan (Fermentas, Lithuanian) 100 ml alınarak steril distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı ve hazırlanan 1 X TAE solüsyonundan agaroz jelin hazırlanmasında ve elektrophorez aşamasında yürütme tamponu olarak yararlanıldı.

Agaroz Jel (%1.5) (w/v): Elektroforez için %1,5'luk agaroz jelin hazırlanmasında, 1,5 g agaroz (Biomax, EEC) tartılarak 1 X TAE tamponu ile 100 ml'ye tamamlandı. Mikrodalga fırınında şeffaf hale gelinceye kadar çözdürüldü ve 5 µL Safeview™ classic (ABM, Canada) boyası eklenerek boyandı (Şekil 3.2).



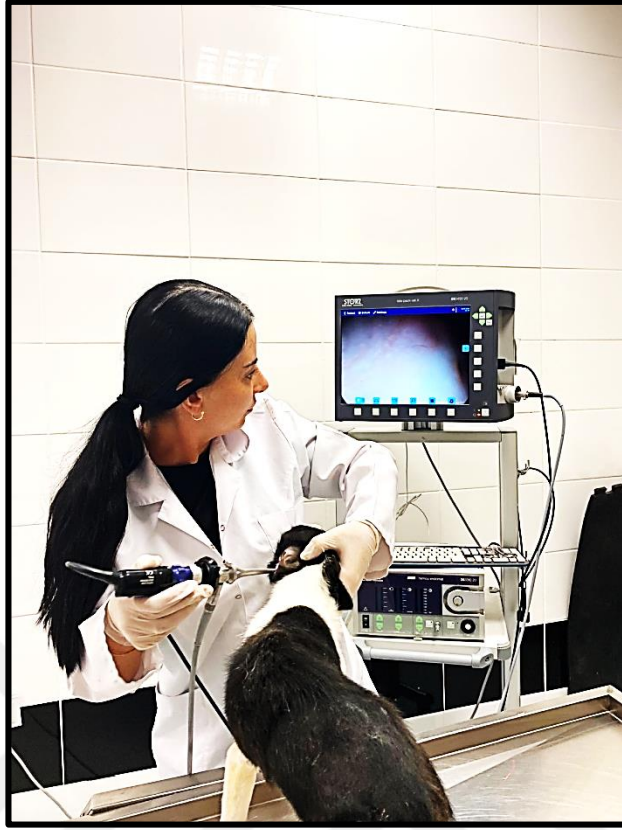
Şekil 3.2. Agaroz jelin hazırlanması.

Yükleme Tamponu: Çoğaltılan DNA'lar agaroz jele yüklenmeden önce 6X loading dye solüsyonu (Vivantis, Malaysia) ile boyandı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Klinik Bulguların Değerlendirilmesi

Kedi ve köpeklerden swap örneklerinin toplanması sırasında kulak kanalı otoskopik muayene ile incelendi (Şekil 3.3). Kulak kanalında eritem, şişlik/ödem, erozyon, ülser, eksudat, ağrı, puritis ve anormal koku gibi otitis ile ilişkili klinik bulgular saptanan hayvanlar hasta gruplara, otitis bulgusu olmayan ve genel sağlık sorunu bulunmayan hayvanlar ise sağlıklı gruplara dahil edildi. Hem hasta hem de sağlıklı gruptaki hayvanlara ait otitis eksterna ile ilişkili potansiyel risk faktörleri (yaş, cinsiyet, ırk ve tıbbi geçmişi) kaydedildi (Bierowiec ve ark., 2021; Elmoslemany ve ark., 2021).



Şekil 3.3. Kulak kanalının otoskopik muayene ile incelenmesi.

3.2.2. İzolasyon ve İdentifikasyon

Kulak svabı örnekleri %5 defibrine koyun kanı ihtiva eden kanlı agar (Oxoid, UK) ve MacConkey agara (Condalab, Spain) ekilerek (Şekil 3.4) ve 24-48 saat 37 °C’de aerobik koşullar altında inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda koloni morfolojisi incelendi. Gram boyama, katalaz ve koagülaz testleri ile ön identifikasyonu yapıldı (Quinn ve ark., 2011). *Staphylococcus* spp. izolatları %15 gliserollü TSB ile -20°C’de daha ileri araştırmalar için saklandı.



Şekil 3.4. Kulak svabı örneklerinin besiyerlerine ekimi.

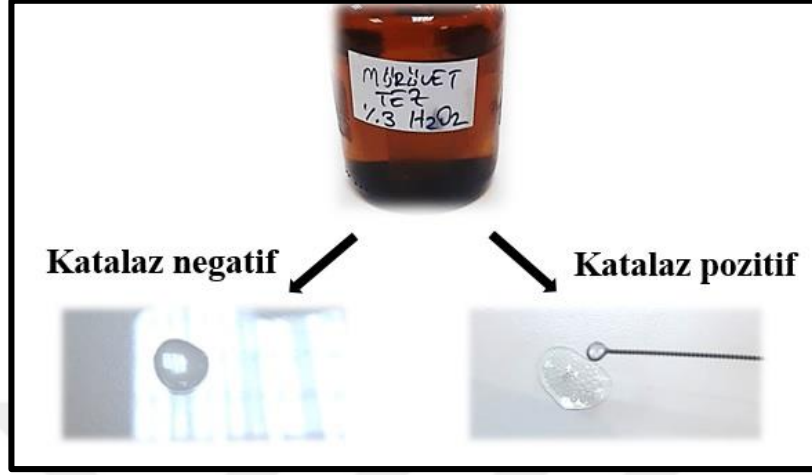
3.2.2.1. Gram Boyama

İnkübasyon süresi sonunda besiyerlerinde üreyen kolonilerden preparatlar hazırlandı ve ticari Gram boyama kiti (Histomed, Ankara) kullanılarak boyandı. Öncelikle hazırlanan preparatın üzerine kristal viole solüsyonu konuldu ve 2-3 dakika beklenildi. Süre sonunda boya döküldü ve preparat üzerine lugol solüsyonu konularak 1-2 dakika beklendi. Daha sonra boya dökülerek preparatlar absolüt alkol ile dekolore edildi. İşlem sonunda preparatlar su ile iyice yıkandı ve safranin solüsyonu ile 5-10 saniye boyandı. Süre sonunda preparatlar su ile yıkandı ve kurutma kağıdı arasında kurutuldu. Boyanan preparatlar immersiyon yağı damlatılarak 100X objektifte incelendi. Mor renkte görülen mikroorganizmalar Gram pozitif ve pembe renkte görülenler ise Gram negatif olarak değerlendirildi (Arda, 2006; Quinn ve ark., 2011).

3.2.2.2. Katalaz Testi

Mikroskopik muayenede Gram pozitif kok olduğu belirlenen izolatlar katalaz testi uygulandı. Test için taze %3'lük H_2O_2 solüsyonu ve izole edilen bakterilerin taze (18-24 saatlik) saf kültürü kullanıldı. Öncelikle temiz ve yağsız bir lamin üzerine %3'lük H_2O_2 solüsyonundan bir öze dolusu konuldu. Daha sonra katı besiyerinde üremiş olan bakteri kolonilerinden bir öze yardımıyla yeterli miktarda alınarak %3'lük H_2O_2 ile karıştırıldı. Gaz kabarcıklarının görülmesi pozitif olarak değerlendirildi (Şekil

3.5). *S. aureus* 25923 pozitif kontrol olarak kullanıldı (Arda, 2006; Quinn ve ark., 2011).

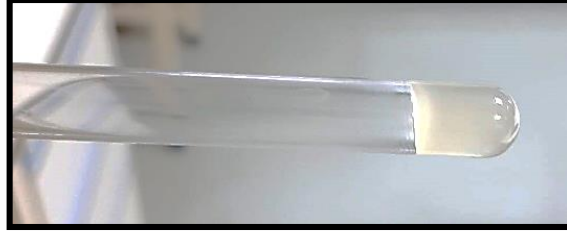


Şekil 3.5. Katalaz testinin değerlendirilmesi.

3.2.2.3. Koagülaz Testi

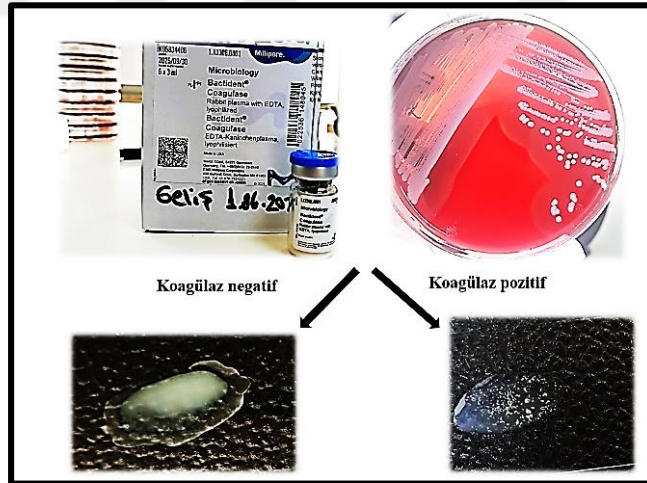
Katalaz testi pozitif olan *Staphylococcus* spp. şüpheli tüm izolatlara koagülaz testi uygulandı. Koagülaz testi iki farklı yöntem ile yapıldı. Serbest koagülazın tespiti için tüp koagülaz testi, bağlı koagülazın (clumping faktör) tespiti için ise lam koagülaz testi uygulandı.

Serbest koagülaz: Serbest koagülaz enzimin tespiti için bir tüpe 0,5 ml steril fizyolojik tuzlu su (FTS) konuldu ve 1-2 saf bakteri kolonisi inoküle edildi. Daha sonra süspansiyonun üzerine 0,5 ml tavşan plazması konularak homojenize edildi. Deney tüpü 37 °C’de 1-3-6 saat inkübe edildi ve pıhtı oluşumu her saat kontrol edildi. Tüpler çok hafifçe eğilerek koagülasyon durumu belirlendi. Tüp içinde plazmanın tam pıhtılaşması pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi (Şekil 3.6). Eğer fibrin oluşumu tam olmadığı durumlarda (kısmi koagülasyon) 37 °C’de 24 saat inkübasyona devam edildi. Süre sonunda pıhtılaşma yoksa negatif reaksiyon olarak değerlendirildi. *S. aureus* 25923 pozitif kontrol olarak kullanıldı (Arda, 2006; Quinn ve ark., 2011).



Şekil 3.6. Tüp koagülaz testinde pozitif reaksiyon.

Clumping faktör (Bağı Koagülaz): Temiz bir lam üzerine bir öze dolusu steril FTS konuldu ve taze bakteri kültüründen 1-2 koloni alınarak FTS’de homojenize edildi. Daha sonra lam üzerine bir öze dolusu steril taze tavşan plazması konularak homojenize edildi. Reaksiyon 3-5 sn içinde okundu. Lam üzerinde 3-5 sn içinde oluşan kümeleşme pozitif reaksiyon olarak kabul edildi (Şekil 3.7). Bu süreden sonra 1 dakikaya kadar oluşan kümeleşmeler geç reaksiyon olarak değerlendirildi. Bir dakikadan sonraki reaksiyonlar şüpheli ve hiçbir değişiklik yoksa negatif olarak değerlendirildi. *S. aureus* 25923 pozitif kontrol olarak kullanıldı (Arda, 2006; Quinn ve ark., 2011).



Şekil 3.7. Lam koagülaz testinin değerlendirmesi.

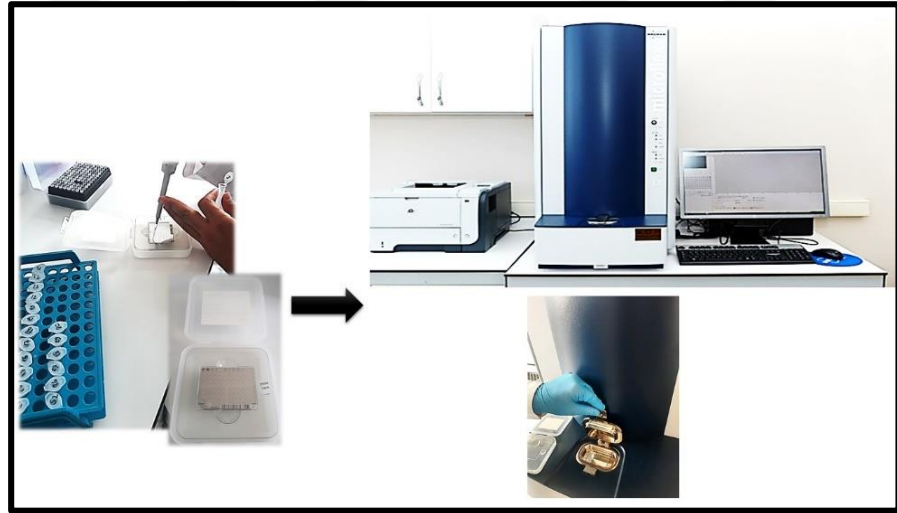
3.2.2.4. Hemolitik Aktivite

İzole edilen stafilokokların hemolitik aktivitesini değerlendirmek için bakteriler % 5 defibrine koyun kanı ihtiva eden kanlı agara pasajlanarak 37 °C’de

aerobik koşullarda 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda koloniler alfa, beta ve gama hemoliz yönünden incelendi (Quinn ve ark., 2011).

3.2.2.5. MALDI-TOF MS Analizi

Staphylococcus spp. şüpheli izolatların tür düzeyinde identifikasyonu MALDI-TOF MS yöntemi ile yapıldı. Analizler Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bitki Sağlığı Kliniğı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. *Staphylococcus* spp. şüpheli izolatlardan protein izolasyonu Uysal ve ark. (2019) tarafından daha önce bildirilen etanol-formik asit protokolüne göre yapıldı. Bu proteinlerin analizi sonucunda cihazın flex kontrol yazılım programı (Biotyper 3.0; Microflex LT; Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany) ile elde edilen spektrumlar, Maldi Biotyper Real-Time Classification (RTC) yazılımı (version.9) ile karşılaştırılarak bakterilerin cins ve tür düzeyinde identifikasyonu yapıldı (Şekil 3.8). Analiz sonucunda, 1.700-3.000 arasında sarı/yeşil renkli olarak belirlenen veriler, güvenilir skor değeri olarak kabul edildi (Uysal ve ark., 2018; Uysal, 2019).



Şekil 3.8. Örneklerin MALDI-TOF plakası üzerine konulması ve plakanın cihaza yerleştirilmesi

3.2.2.6. DNA Dizi Analizi

Staphylococcus spp. suşlarının moleküler identifikasyonu için izole edilen DNA örneklerinden rastgele seçilen 4 örneğın DNA dizi analizi hizmet alımı ile

(BMLabosis, Ankara) gerçekleştirildi. Bu amaçla universal 27F – 1492R primerleri kullanılarak izolatın 16S rRNA geni çoğaltılıp çift yönlü olarak DNA dizi analizi (ABI 3730XL, Applied Biosystems, Foster City, CA) yapıldı. Elde edilen 16S rRNA nükleotid dizileri tür tayininin yapılabilmesi için NCBI Gen Bankası ile karşılaştırıldı. Bu amaçla National Center of Biotechnology Information’ın web sayfasındaki (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) Nucleotide-Nucleotide BLAST programı kullanıldı.

3.2.3. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Kulak svaplarından izole edilen tüm *Staphylococcus* spp. suşlarının antibiyotik duyarlılık testleri MHA’da (Oxoid, UK) Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılarak “Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI)” kriterlerine göre yapıldı (Şekil 3.9). Bu amaçla 9 farklı antimikrobiyal sınıfı temsil eden 16 antibiyotik test edildi. **β -laktamlar:** penisilin (10IU, Bioanalyse), ampisilin (10 µg, Bioanalyse), amoksisilin-klavulanik asit (20/10 µg, Bioanalyse), sefovesin (30 µg, Oxoid), sefoksitin (30 µg, Bioanalyse), oksasilin (1 µg, Bioanalyse); **aminoglikozidler:** gentamisin (10 µg, Bioanalyse) ve amikasin (30 µg, Bioanalyse); **makrolitler:** eritromisin (15 µg, Bioanalyse); **tetrasiklinler:** tetrasiklin (30 µg, Bioanalyse); **florokinolonlar:** enrofloksasin (5 µg, Bioanalyse), siprofloksasin (5 µg, Bioanalyse); **linkozamidler:** klindamisin (2 µg, Bioanalyse); **rifamisinler:** rifampin (5 µg, Bioanalyse); **sülfonamidler:** sülfametoksazol/trimetoprim (SM/TM, 23.75/1.25 µg, Bioanalyse); **fenikoller:** kloramfenikol (30 µg, Bioanalyse) diskleri kullanıldı. Sonuçlar, disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zon çapları milimetrik olarak ölçülerek duyarlı (S), orta duyarlı (I) ve dirençli (R) olarak CLSI kriterlerine göre yorumlandı. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşu kontrol olarak kullanıldı. İzolatlar, üç veya daha fazla antimikrobiyal sınıfta yer alan minimum bir antimikrobiyal ajana direnç gösterdiği durumda MDR olarak kategorize edildi (Magiorakos ve ark., 2012).



Şekil 3.9. Antibiyotik duyarlılık testlerinin uygulanişı.

3.2.3.1. İndüklenebilir Klindamisin Direnci

Staphylococcus spp. izolatlarında indüklenebilir klindamisin direncini saptamak için CLSI tarafından önerilen D-test metodu uygulandı. Bu amaçla 0,5 MacFarland (10^8 CFU/ml) yoğunluğunda bakteri süspansiyonu hazırlandı ve steril eküvyon çubuğu yardımıyla MHA yüzeyine inoküle edildi. Daha sonra eritromisin (15 µg) ve klindamisin (2 µg) diskleri 15-26 mm mesafe ile yerleştirildi ve 37°C’de 16-18 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda inhibisyon zon çapları ölçüldü. *S. aureus* 25923 suşu duyarlılık testinde kontrol suşu olarak kullanıldı. Klindamisin zonunun eritromisine bakan tarafında düzleşme olmuşsa indüklenebilir klindamisin direnci pozitif (D-test pozitif, iMLSB direnç fenotipi), düzleşme olmaksızın dairesel bir inhibisyon alanı oluşmuşsa indüklenebilir klindamisin direnci negatif (D-test negatif, MS direnç fenotipi) olarak değerlendirildi. Eritromisin ve klindamisinin her ikisine de dirençli olan suşlar cMLSB direnç fenotipi, her ikisine de duyarlı olanlar S fenotipi olarak değerlendirildi.

3.2.3.2. Metisilin direnci

Staphylococcus spp. izolatlarında metisilin direnci fenotipik ve genotipik olmak üzere iki farklı yöntem ile belirlendi.

Metisilin Direncinin Fenotipik Tespiti: *Staphylococcus* spp. izolatlarında metisilin direncinin fenotipik tespiti, sefoksitin (30 µg) ve oksasilin (1 µg) diskleri kullanılarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile CLSI kriterlerine göre yapıldı.

Metisilin Direncinin Genotipik Tespiti: Genotipik olarak metisilin direncinin tespiti için öncelikle *Staphylococcus* spp. izolatlarından DNA izolasyonu Sudagidan ve Aydın (2008) tarafından bildirilen protokole göre yapıldı. Bu amaçla tüm *Staphylococcus* spp. izolatlarının 5 ml TSB'de 37°C'de 18-24 saat inkübasyonu yapıldı. Süre sonunda 200 µl bakteri süspansiyonu DNAaz, RNAaz free steril bir eppendorf tüpüne aktarıldı ve santrifüjlendi. İşlem sonrasında üstteki süpernantant atıldı ve 45 µl deiyonize ultra saf su ve 15 µl lizostafin (100 µg/ml) ile yeniden süspense edildi. 37 °C'de 1 saatlik inkübasyonun ardından örnekler 15 µl proteinaz K (100 µg/ml, Genaxxon, Germany) ve 150 µl 0,1 M tris (hidroksimetil)-aminometan (Tris)/HCl (pH 7.5) ilave edildi ve numuneler 37 °C'de 1 saat daha inkübe edildi. Son olarak, bakteri lizatları 5 dakika kaynatıldı ve izole edilen DNA'lar PZR analizinde kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı.

İzole edilen DNA'larda metisilin direncini kodlayan *mecA* genin varlığını araştırmak için 162 bp'lik primer çifti (forward primer 5'- ACT GCT ATC CAC CCT CAA AC -3', reverse primer 5'- CTG GTG AAG TTG TAA TCT GG-3') kullanılarak PZR testi yapıldı (Mehrotra ve ark., 2000). Bu amaçla, izole edilen her bir DNA örneği için; 5 µl Xpert Taq Reaction Buffer (5x), 1 µl her bir primerden (10 pmol/µl), 0,1 µl Xpert Taq DNA polimeraz (5U/µl), 15,4 µl DNAaz ve RNAaz ari ultra saf su ve 2,5 µl hedef DNA'dan oluşan 25 µl'lik PZR karışımları hazırlandı. Örnekler 94 °C 4 dk ön denatürasyondan sonra, 94 °C 30 saniye, 57,5 °C 30 saniye, 72 °C 30 saniye olmak üzere toplam 35 döngü ve son zincir uzaması için 72 °C 10 dakika şeklinde PZR ısı döngü cihazında (Applied Biosystems Veriti Thermal Cyclers, USA) amplifiye edildi (Mehrotra ve ark., 2000; Özdemir ve Keyvan, 2016). *S. aureus* ATCC 25923 şusundan izole edilen DNA ve DNA içermeyen PZR karışımı negatif kontrol, *S. aureus* ATCC 43300 ve *S. pseudintermedius* Burdur2021 şusundan izole edilen DNA örnekleri ise pozitif kontrol olarak kullanıldı. Amplifikasyondan sonra PZR ürünleri safeview™ classic (Abm, Canada) ile boyanmış %1,5'luk agaroz jelde yürütüldü ve UV transilluminatorde (Vilber Lourmat, France) görüntülendi.

3.2.4. Biyofilm Üretimi

Staphylococcus spp. izolatlarının kantitatif olarak biyofilm oluşturma yeteneklerinin araştırılması için mikrolaka yöntemi kullanıldı. Bu amaçla her bir *Staphylococcus* spp. suşu için 0,5 McFarland standardına göre ayarlanmış 20 µl bakteri, %1 glikoz içeren 180 µl TSB ile 96 kuyucuklu düz tabanlı mikrolakalara konuldu ve 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Steril %1 glikoz içeren TSB negatif kontrol, *S. aureus* 25923 ve *S. epidermidis* YT-169a suşları ise pozitif kontrol olarak kullanıldı. İnkübasyon süresi sonunda planktonik bakterileri uzaklaştırmak için kuyucuklar 3 defa 300 µl fosfat tamponlu tuzlu su (PBS, pH 7,2) ile yıkandı. Kuyucuklar 200 µl absöüt metanol ile 20 dakika oda sıcaklığında fıkse edildi ve 55 °C'de 1 saat kurutuldu. Süre sonunda kuyucuklar 200 µl %0,5 kristal viole ile 10 dakika boyandı ve sonrasında distile su ile yıkandı. Kuruduktan sonra kuyucuklara %33 (v/v) glasiyel asetik asit (Merck, Germany) konuldu ve optikal dansite (OD) değeri, mikrolate okuyucu (Biotek, USA) kullanılarak 590 nm'de ölçüldü (Jantorn ve ark., 2021; Kahraman ve ark., 2021) (Şekil 3.10). Deney 3 defa tekrarlandı. Kritik OD (OD_c) değeri hesaplandı ve biyofilm üretiminin değerlendirilmesi aşağıdaki kritere göre yapıldı (Jantorn ve ark., 2021).

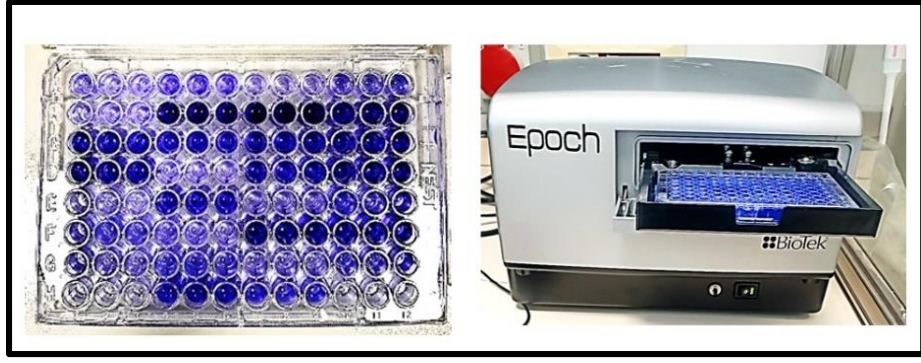
OD_c = Negatif kontrolün ortalama OD değeri + 3 X negatif kontrolün standart sapması

OD_{örnek} ≤ OD_c: biyofilm yok

OD_c < OD_ö ≤ 2 OD_c: zayıf biyofilm

2 OD_c < OD_ö ≤ 4OD_c: orta biyofilm

OD_ö > 4 OD_c: güçlü biofilm



Şekil 3.10. Mikroplate okuyucuda optikal dansite değerlerinin ölçülmesi.

3.2.5. İstatistiksel Analizler

Verilerin değerlendirilmesinde JAMOVİ versiyon 2.3.2 programı kullanıldı. Sürekli değişkenler ortalama ve standart hata olarak sunuldu. Kategorik değişkenler ise sayı veya yüzde olarak ifade edildi. Tek değişkenli analizler için “Kruskal Wallis” (sürekli değişkenler için) veya ki-kare testi (kategorik değişkenler için) kullanıldı. Risk faktörlerinin analizinde “Univariate analiz” yaklaşımı kullanıldı. JAMOVİ 2.3.2 programı kullanılarak uygunluğuna göre “Ki-Kare Testi” ve “Fischer Exact Testi” kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Çalışma Popülasyonu ve Örneklem

Kulak svabı örneklerinin alındığı hasta ve sağlıklı kediler arasında ırk, yaş ve cinsiyet yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Köpeklerde ise hasta ve sağlıklı gruplar arasında yaş grupları yönünden anlamlı bir fark saptanmamasına rağmen, orta boy ırk köpeklerin küçük ırk köpeklere göre ve erkeklerin dişilere göre otitise daha duyarlı olduğu belirlendi (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Kulak svabı örneklerinin alındığı hasta ve sağlıklı kedi ve köpeklerin yaş, ırk ve cinsiyet bilgileri.

Yaş	Kedi (n: 100)			Köpek (n: 100)		
	Hasta (n: 50)	Sağlıklı (n: 50)	<i>p</i> -değeri	Hasta (n: 50)	Sağlıklı (n: 50)	<i>p</i> -değeri
<1	23	20	0,545	13	18	0,098
1-5	27	30		27	29	
>5				10	3	
İrk	Uzun tüylü	3	0,617			0,013
	Kısa tüylü	47				
	Büyük			35	30	
	Orta			10	4	
	Küçük			5	16	
Cinsiyet	Dişi	28	0,685	22	33	0,027
	Erkek	22		28	17	

4.2. İzolasyon ve İdentifikasyon

Besiyerlerine ekimleri yapılan örneklerden izole edilen koloniler makroskopik ve mikroskopik morfolojileri yönünden incelendi. Mikroskopik muayenede izolatların 68'inin Gram pozitif kok olduğu gözlemlendi. Bu izolatların 67'sinin katalaz pozitif olduğu belirlenerek *Staphylococcus* spp. olarak tanımlandı.

Örnek alınan toplam 200 hayvandan 67'sinden (%33,5), 400 adet kulak svabı örneğinin ise 124'ünden (%31) *Staphylococcus* spp. izole edildi. Bununla birlikte

otitisli hayvanların (n: 100) 52'sinden (%52), sağlıklı hayvanların (n:100) ise 15'inden (%15) *Staphylococcus* spp. izole edildi. Örneklerin 59'undan (%88,06) *Staphylococcus* spp. saf olarak izole edilirken, 8'inden (%11,94) *Staphylococcus* spp. ile birlikte bir bakteriyel etken (1 *Streptococcus* spp., 2 *Corynebacterium* spp., 2 *Bacillus* spp., 1 *Pasteurella* spp. 2 *Proteus* spp.) daha izole edildi.

4.2.1. MALDI-TOF MS Analizi

MALDI-TOF MS analizi sonucunda *Staphylococcus* spp. izolatlarının 29'u (%43,29) *S. felis* olarak tanımlanmıştır. Bunları sırasıyla *S. pseudintermedius* (n: 27, %40,30), *S. aureus* (n: 3, %4,48) ve *S. simulans* (n:2, %2,99) takip etti. Sadece birer (%1,49) izolat ise *S. schleiferi*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. lugdunensis*, *S. pettenkoferi* ve *S. sciuri* olarak tanımlanmıştır.

4.2.2. DNA Dizi Analizi

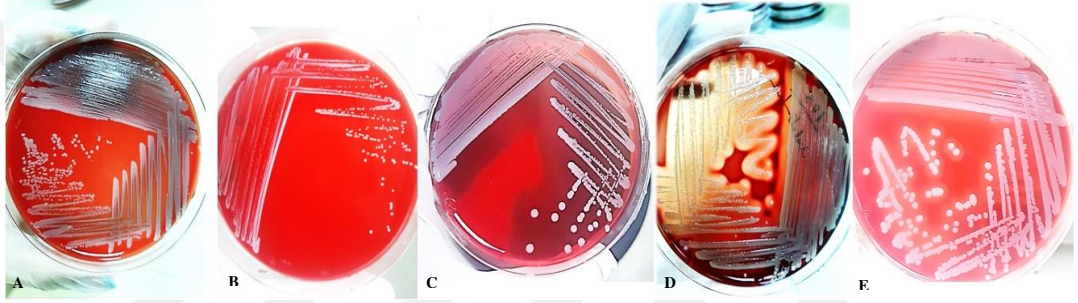
DNA dizi analizi sonucunda rastgele seçilen 4 DNA örneğinden 1'inin *S. felis* (erişim numarası: PP871688), 2'sinin *S. pseudintermedius* (erişim numarası: PP871689- PP871690), 1'inin ise *S. simulans* (erişim numarası: PP871691) olduğu doğrulandı. Sonuçlar MALDI-TOF MS analizi ile uyumlu bulundu.

4.2.3. Koagülaz Testi

Çalışmada izole edilen *Staphylococcus* spp. izolatlarının 31'inin (%46,27) koagülaz pozitif, 36'sının (%53,73) ise koagülaz negatif olduğu belirlendi. KPS izolatlarının tümünün (n: 31; %100) serbest koagülaz enzimi, 5'inin (%16,13) ise clumping faktör yönünden pozitif olduğu tespit edildi. *S. pseudintermedius* suşlarının tümü (n: 27; %100) serbest koagülaz enzimi yönünden pozitif bulunurken, sadece 2'sinin (%7,40) clumping faktör yönünden pozitif olduğu belirlendi. *S. aureus* suşlarının hepsi (n: 3; %100) hem serbest koagülaz enzimi hem de clumping faktör yönünden pozitif iken, *S. schleiferi* suşu (n:1; %100) serbest koagülaz enzimi yönünden pozitif, clumping faktör yönünden negatif bulundu.

4.2.4. Hemolitik Aktivite

Staphylococcus spp. izolatlarının hemoliz oluşturma yetenekleri incelendiğinde izolatların 60'ının (%89,55) β hemolitik, 7'sinin (%10,45) ise γ hemolitik olduğu gözlemlendi (Şekil 4.1). *S. pseudintermedius*, *S. aureus*, *S. schleiferi*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis* ve *S. lugdunensis* suşlarının tümü (%100) β hemolitik, *S. felis* suşlarının 26'sı (%89,66) β hemolitik, 3'ü (%10,34) γ hemolitik, *S. simulans*, *S. sciuri* ve *S. pettenkoferi* (%100) suşlarının ise γ hemolitik olduğu tespit edildi.



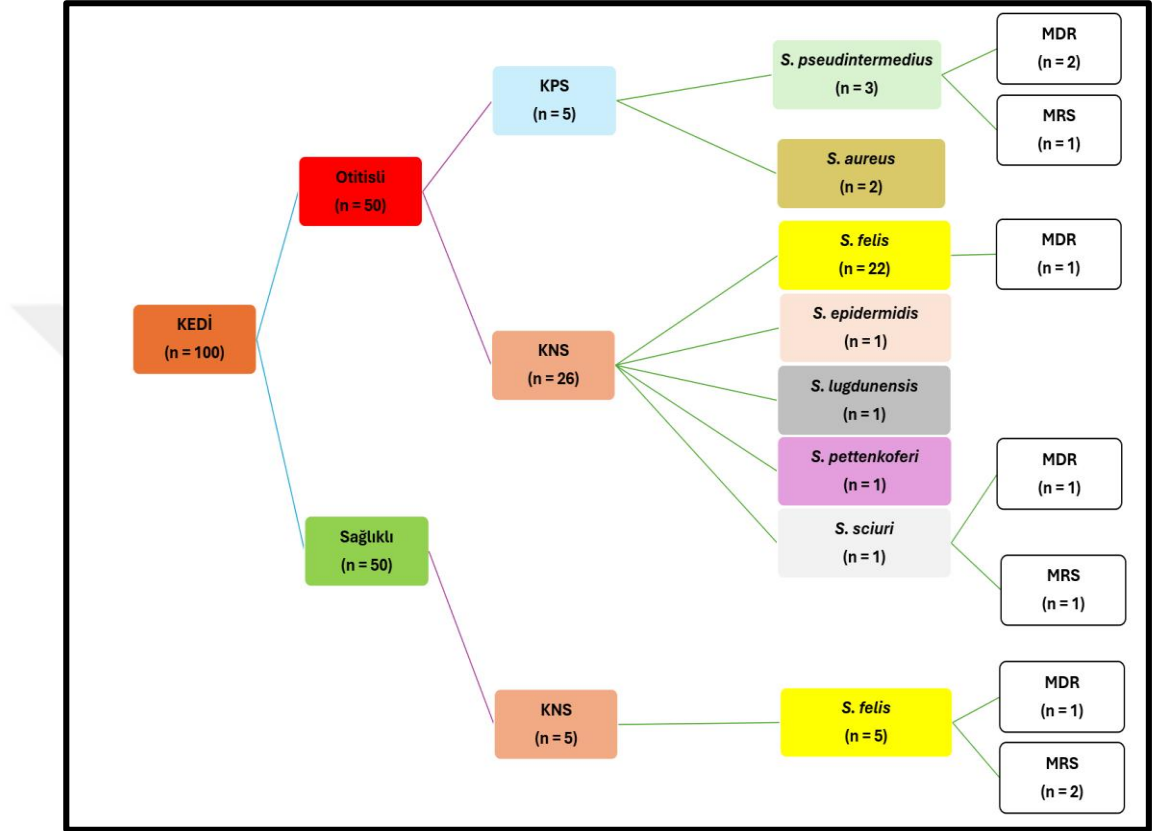
Şekil 4.1. *Staphylococcus* spp. izolatlarının hemoliz oluşturma yetenekleri. **A.** γ hemolitik *Staphylococcus simulans* (177 numaralı hasta köpek), **B.** γ hemolitik *Staphylococcus pettenkoferi* (88 numaralı hasta kedi), **C.** β hemolitik *Staphylococcus pseudintermedius* (129 numaralı sağlıklı köpek), **D.** β hemolitik *Staphylococcus aureus* (96 numaralı hasta kedi), **E.** β hemolitik *Staphylococcus felis* (30 numaralı sağlıklı kedi).

4.2.5. *Staphylococcus* spp. Dağılımı

4.2.5.1. Kedilerde *Staphylococcus* spp. Dağılımı

Staphylococcus spp. izolatları, sağlıklı kedilerin 5'inden (%10), otitisli kedilerin ise 31'inden (%62) olmak üzere toplamda 100 kedinin 36'sından (%36) izole edildi. 36 izolatın 5'i (%13,89) KPS ve 31'i (%86,11) KNS idi. *S. felis*, *S. pseudintermedius*, *S. aureus*, *S. sciuri*, *S. lugdunensis*, *S. epidermidis* ve *S. pettenkoferi* olmak üzere 7 stafilokok türü tanımlandı. KPS izolatlarının 3'ü (%60) *S. pseudintermedius* ve 2'si (%40) *S. aureus* iken, KNS izolatlarının 27'si (%87,12) *S. felis*, 1'i (%3,22) *S. sciuri*, 1'i (%3,22) *S. lugdunensis*, 1'i (%3,22) *S. epidermidis* ve 1'i (%3,22) *S. pettenkoferi* idi. *Staphylococcus* spp. türlerinin sağlıklı ve hasta

kedilerde dağılımı şekil 4.2’de sunuldu. Otitisli ve sağlıklı kediler arasında stafilocokların izolasyon sayısındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$, odds ratio (OR): 14,68, 95% confidence interval (CI):4,95-43,50, Tablo 4.2). Ancak stafilocokların tür dağılımında anlamlı fark saptanmadı ($p=0,99$).



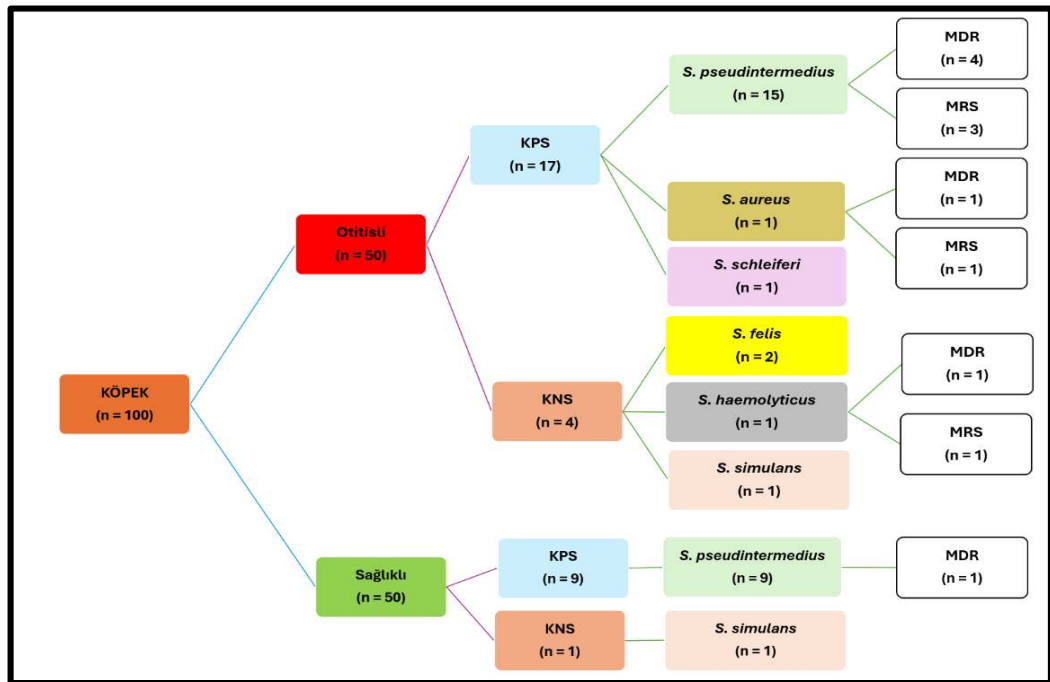
Şekil 4.2. Sağlıklı ve otitisli kedilerden izole edilen *Staphylococcus* spp., dağılımı.

Sağlıklı ve hasta kediler arasında ırk, yaş ve cinsiyete göre *Staphylococcus* spp. izolasyon sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$, Tablo 4.3).

4.2.5.2. Köpeklerde *Staphylococcus* spp. Dağılımı

Staphylococcus spp. izolatları, sağlıklı köpeklerin 10'undan (%20), otitisli köpeklerin ise 21'inden (%42) olmak üzere toplamda 100 köpeğin 31'inden (%31) izole edildi. 31 izolatın 26'sı (%83,87) KPS ve 5'i (%16,13) KNS idi. *S. pseudintermedius*, *S. felis*, *S. simulans*, *S. aureus*, *S. haemolyticus* ve *S. schleiferi* olmak üzere 6 stafilocok türü tanımlandı. KPS izolatlarının 24'ü (%92,30) *S. pseudintermedius*, 1'i (%3,85) *S. aureus* ve 1'i (%3,85) *S. schleiferi* idi. KNS izolatlarının ise 2'si (%40) *S. simulans*, 2'si (%40) *S. felis*, 1'i (%20) *S. haemolyticus* idi. *Staphylococcus* spp. türlerinin sağlıklı ve hasta köpeklerdeki dağılımı şekil 4.3'te sunuldu. Otitisli ve sağlıklı köpekler arasında stafilocokların izolasyon sayısındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,017$, OD: 2,89, %95 CI: 1,18-7,06, Tablo 4.2). Ancak stafilocokların tür dağılımında anlamlı fark saptanmadı ($p=0,934$).

Sağlıklı ve hasta köpekler arasında ırk, yaş ve cinsiyete göre *Staphylococcus* spp. izolasyon sayısında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$, Tablo 4.3)



Şekil 4.3. Sağlıklı ve otitisli köpeklerden izole edilen *Staphylococcus* spp., dağılımı.

Kedi ve köpekler arasında *Staphylococcus* spp. izolasyon sayısı yönünden anlamlı bir farklılığa rastlanmadı ($\chi^2=0,561$, $p=0,454$). Kedilerde en yüksek oranda KNS, köpeklerden ise en yüksek oranda KPS izole edildi ($p<0,001$, OR: 0,031). Kedilerden en fazla izole edilen stafilokok suşu *S. felis* iken, köpeklerden en yüksek oranda *S. pseudintermedius* izole edildi. *Staphylococcus* türlerinin dağılımında kedi ve köpekler arasında saptanan bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$). Diğer taraftan hasta kedilerin 3'ünden *S. pseudintermedius* izole edilirken, sağlıklı kedilerin hiçbirinden izole edilemedi. Benzer şekilde hasta köpeklerin 3'ünden *S. felis* izole edilirken, sağlıklı köpeklerden *S. felis* izole edilmedi. Hasta sahiplerinden alınan anamnez doğrultusunda *S. pseudintermedius* izole edilen kedilerin köpeklerle ve *S. felis* izole edilen köpeklerin ise kedilerle aynı ortamda bulunduğu öğrenildi.

Tablo 4.2. Sağlıklı ve hasta kedi ve köpeklerden izole edilen *Staphylococcus* spp. sayısı.

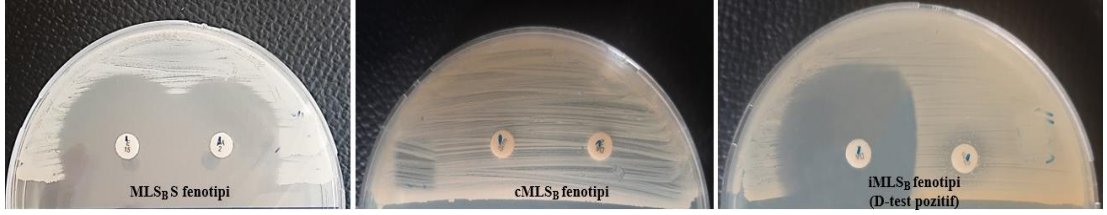
	Sağlıklı Kedi (n: 50)	Hasta Kedi (n: 50)	Toplam (n:100)	Sağlıklı Köpek (n: 50)	Hasta Köpek (n: 50)	Toplam (n: 100)
İzolat sayısı (%)	5 (10,0)	31 (62,0)	36 (36,0)	10 (20,0)	21 (42,0)	31 (31,0)
Koagülaz Pozitif Stafilokok Sayısı (%)						
<i>S. pseudintermedius</i>	0 (0,0)	3 (9,67)	3 (8,33)	9 (90,0)	15 (71,43)	24 (77,41)
<i>S. aureus</i>	0 (0,0)	2 (6,45)	2 (5,55)	0 (0,0)	1 (4,76)	1 (3,23)
<i>S. schleiferi</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (4,76)	1 (3,23)
Toplam	0 (0,0)	5 (16,12)	5 (13,88)	9 (90,0)	17 (80,95)	26 (83,87)
Koagülaz Negatif Stafilokok Sayısı (%)						
<i>S. felis</i>	5 (100,0)	22 (70,96)	27 (75,0)	0 (0,0)	2 (9,53)	2 (6,45)
<i>S. simulans</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (10,0)	1 (4,76)	2 (6,45)
<i>S. haemolyticus</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (4,76)	1 (3,23)
<i>S. epidermidis</i>	0 (0,0)	1 (3,23)	1 (2,78)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>S. lugdunensis</i>	0 (0,0)	1 (3,23)	1 (2,78)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>S. pettenkoferi</i>	0 (0,0)	1 (3,23)	1 (2,78)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>S. sciuri</i>	0 (0,0)	1 (3,23)	1 (2,78)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Toplam	5 (100,0)	26 (83,88)	31 (86,12)	1 (10,0)	4 (19,05)	5 (16,13)

Tablo 4.3. Sağlıklı ve hasta (otitisli) kedi ve köpeklerde cinsiyet, yaş ve ırka göre *Staphylococcus* spp. izolasyon sayısı.

		<i>Staphylococcus</i> spp. Negatif	<i>Staphylococcus</i> spp. Pozitif	<i>p</i> -değeri
Kedi	Cinsiyet	Dişi	39	0,427
		Erkek	25	
	Yaş	1-5 yaş	36	0,840
		<1 yaş	28	
	İrk	Kısa tüylü	60	0,294
		Uzun tüylü	4	
Köpek	Cinsiyet	Dişi	41	0,185
		Erkek	28	
	Yaş	<1 yaş	20	0,800
		1-5 yaş	40	
		>5 yaş	9	
	İrk	Küçük	14	0,954
		Orta	10	
		Büyük	45	

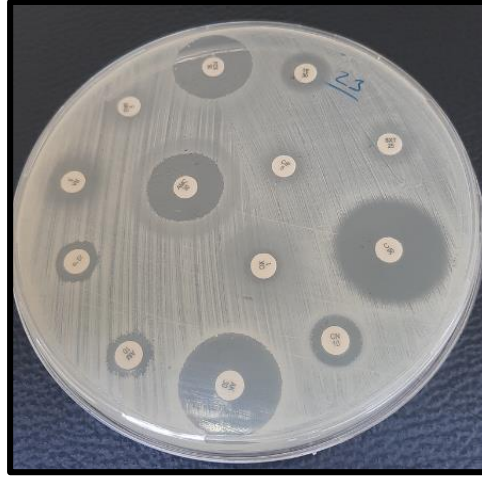
4.3. Antimikrobiyal Duyarlılık

Staphylococcus spp. suşlarında (n: 67) en yüksek oranda tetrasikline (n: 16, %23,88) karşı direnç saptandı. Bunu sırasıyla penisilin ve ampisilin (n: 15, %22,38), eritromisin (n: 14, %20,89), klindamisin (n: 11, %16,41), oksasilin (n: 7, %10,44), sefovesin, siprofloksasin ve sülfametoksazol/trimetoprim (n: 5, %7,46), amoksisilin-klavulanik asit, sefoksitin, gentamisin ve enrofloksasin (n: 4, %5,97), rifampin ve kloramfenikol (n: 3, %4,47) izledi. İzolatlarda amikasinine karşı ise direnç saptanmadı. Bir izolat (*S. felis*) gentamisine (%1,49), 1 izolat (*S. pseudintermedius*) tetrasikline (%1,49), 1 izolat (*S. haemolyticus*) enrofloksasine (%1,49) orta duyarlıydı. İndülenebilir klindamisin direnci ise 3 (%4,47) izolatta (*S. felis*, *S. pettenkoferi* ve *S. aureus*) tespit edildi (Şekil 4.4).

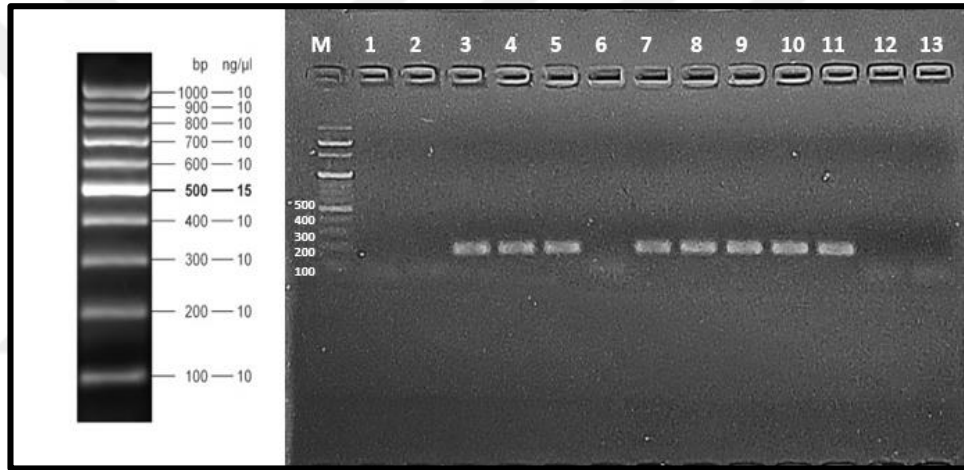


Şekil 4.4. İndüklenebilir klindamisin direncinin tespiti için uygulanan *D*-testi sonuçları.

Toplam 9 (%13,43) izolatta (4 *S. pseudintermedius*, 2 *S. felis*, 1 *S. aureus*, 1 *S. haemolyticus*, 1 *S. sciuri*) metisilin direnci belirlendi. Sonuçlar fenotipik metisilin direnci yönünden incelendiğinde 8 izolatta (1 *S. felis*, 4 *S. pseudintermedius*, 1 *S. aureus*, 1 *S. sciuri*, 1 *S. haemolyticus*) sefoksitin veya oksasilin direnci gözlemlendi (Şekil 4.5). *mecA* genine bağlı genotipik metisilin direnci ise 6 izolatta (1 *S. felis*, 3 *S. pseudintermedius*, 1 *S. aureus*, 1 *S. haemolyticus*) saptandı (Şekil 4.6). İzolatların 12'sinde (%17,91) ise çoklu ilaç direnci tespit edildi (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Metisilin ve çoklu ilaç dirençli *Staphylococcus pseudintermedius* suşu.



Şekil 4.6. *mecA* gen bölgesine yönelik uygulanan PZR testi sonuçları. M: marker, 1: DNA içermeyen negatif kontrol, 2: negatif kontrol (*S. aureus* 25925 suşu), 3: pozitif kontrol (*S. aureus* 43300 suşu), 4: pozitif kontrol (*S. pseudintermedius* Burdur2021 suşu), 5: 154 (hasta köpekten izole edilen *S. haemolyticus* suşu) 6: 157 (hasta köpekten izole edilen *S. pseudintermedius* suşu), 7: 162 (hasta köpekten izole edilen *S. aureus* suşu), 8: 166 (hasta köpekten izole edilen *S. pseudintermedius* suşu), 9: 184 (hasta köpekten izole edilen *S. pseudintermedius* suşu), 10: 64 (hasta kediden izole edilen *S. pseudintermedius* suşu), 11: 8 (sağlıklı kediden izole edilen *S. felis* suşu), 12: 13 (sağlıklı kediden izole edilen *S. felis* suşu), 13: 19 (sağlıklı kediden izole edilen *S. felis* suşu) numaralı örnek.

4.3.1. Kedilerden İzole Edilen Stafilocokların Antimikrobiyal Duyarlılığı

Antimikrobiyal duyarlılık testi sonucunda kedilerden izole edilen stafilocokların %19,44'ü penisilin, ampicilin ve eritromisine dirençliyken, izolatların hiçbirinde amikasin ve kloramfenikole karşı direnç saptanmadı. İzolatların %16,66'sı klindamisine, %13,88'i tetrasikline, %5,55'i oksasilin, gentamisin, enrofloksasin,

siprofloksasin ve sülfametoksazol/trimetoprim, %2,77'si ise amoksisilin-klavulanik asit, sefovesin, sefoksitin ve rifampine dirençliydi (Tablo 4.4). Bir izolat (%2,77) gentamisine orta duyarlıydı. İndüklenebilir klindamisin direnci ise 2 (%5,55) hasta kediden izole edilen *S. felis* ve *S. pettenkoferi* suşlarında tespit edildi.

Sağlıklı kedilerden izole edilen *S. felis* suşunun antimikrobiyal direnç paternleri, hasta kedilerden izole edilenlerden farklıydı (Şekil 4.7). Penisilin, ampisilin (odds oranı (OR): 63,0; $p < 0,001$) ve sefoksitine (OR:15,0; $p = 0,033$) dirençli izolatların sıklığı sağlıklı kedilerde hasta kedilere kıyasla önemli ölçüde daha yüksekti. Ancak, diğer antimikrobiyaller için hasta ve sağlıklı kediler arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0,05$). Şekil 4.8'de sağlıklı ve hasta kedilerden izole edilen *Staphylococcus* spp. izolatlarının antimikrobiyal direnç paternleri gösterilmektedir.

Kedilerden izole edilen 5 (%13,89) *Staphylococcus* spp. suşunun (2 *S. felis*, 2 *S. pseudintermedius*, 1 *S. sciuri*) 8 farklı antibiyotik sınıfına kadar direnç gösteren MDR izolatları olduğu belirlendi (Tablo 4.5). MDR izolatlarının 4'ü (%80) hasta kedilerden, 1'i (%20) ise sağlıklı kedilerden izole edildi. Toplamda 4 (%11,11) *Staphylococcus* spp. izolatında metisilin direnci saptandı. Üç (%75) *Staphylococcus* spp. izolatı (1 *S. felis*, 1 *S. pseudintermedius*, 1 *S. sciuri*) FOX veya OX'a dirençli bulundu. İki (%50) *Staphylococcus* spp. izolatında (1 *S. felis*, 1 *S. pseudintermedius*) ise *mecA* geni tespit edildi. MRS izolatlarının 2'si (%50) hasta kedilerden, 2'si (%50) ise sağlıklı kedilerden izole edildi (Tablo 4.6).

Kedilerden izole edilen MRS (n: 4) izolatlarında MSS (n: 32) izolatlarına göre yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı daha yüksek oranda direnç saptandı (Tablo 4.7). Benzer şekilde MRS izolatlarında (n: 3, %75) MSS izolatlarına (n: 2, %6,25) göre daha yaygın bir şekilde MDR tespit edildi ($p = 0,005$).

4.3.2. Köpeklerden İzole Edilen Stafilocokların Antimikrobiyal Duyarlılığı

Antimikrobiyal duyarlılık testi sonucunda köpeklerden izole edilen stafilocokların %35,48'i tetrasikline dirençliyken, izolatların hiçbirinde amikasine

karşı direnç saptanmadı. İzolatların % 25,80'i penisilin ve ampisiline, %22,50'si eritromisine, %16,12'si oksasilin ve klindamisine, %12,90'ı sefovesine, %9,67'si amoksisilin-klavulanik asit, sefoksitin, siprofloksasin, sülfametoksazol/trimetoprim ve kloramfenikole, %6,45'i gentamisin, enrofloksasin ve rifampine dirençliydi (Tablo 4.4). Birer izolat tetrasiklin (%3,22) ve enrofloksasine (%3,22) orta duyarlıydı. İndüklenebilir klindamisin direnci (%5,55) ise hasta bir köpekten izole edilen hem fenotipik hem de genotipik olarak (*mecA* geni) metisilin direnci saptanan bir *S. aureus* suşunda tespit edildi.

Sağlıklı ve hasta köpeklerden izole edilen *S. pseudintermedius* suşlarının antimikrobiyal direnç paternleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$, Şekil 4.9). Şekil 4.8'de sağlıklı ve hasta köpeklerden izole edilen *Staphylococcus* spp. izolatlarının antimikrobiyal direnç paternleri gösterilmektedir.

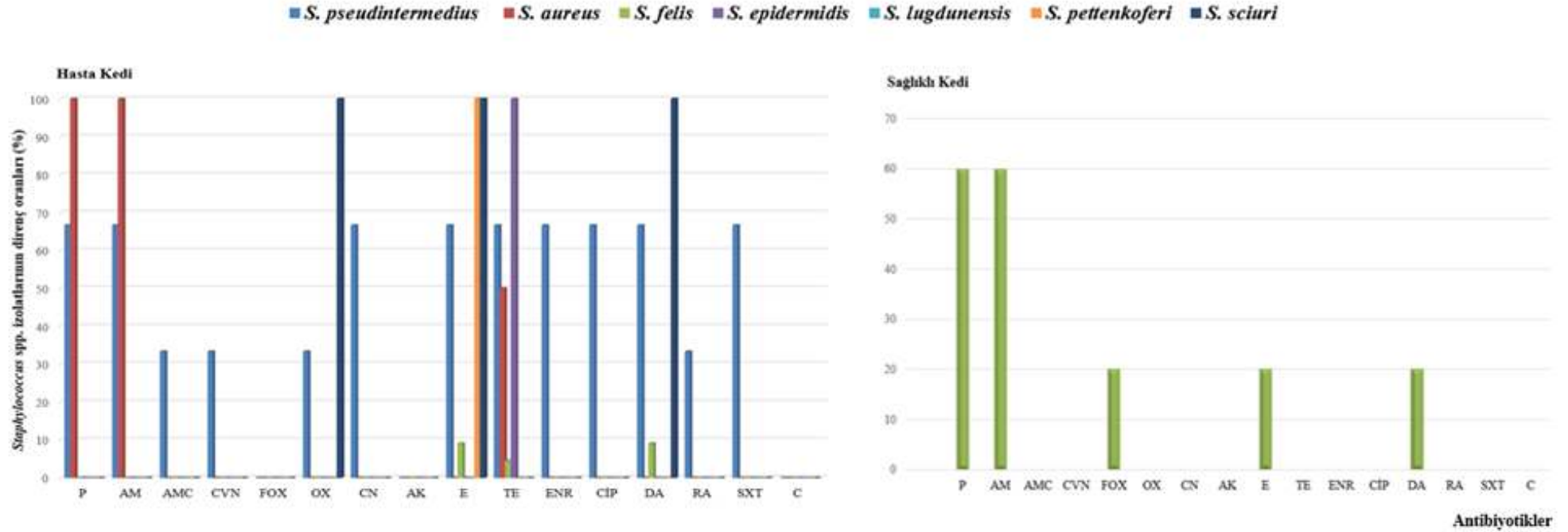
Köpeklerden izole edilen 7 (%22,59) *Staphylococcus* spp. suşunun (5 *S. pseudintermedius*, 1 *S. aureus*, 1 *S. haemolyticus*) 7 farklı antibiyotik sınıfına kadar direnç gösteren MDR izolatları olduğu belirlendi (Tablo 4.8). MDR izolatlarının 6'sı (%85,72) hasta köpeklerden, 1'i (%14,28) sağlıklı köpeklerden izole edildi. Toplamda 5 (%16,13) *Staphylococcus* spp. izolatında metisilin direnci saptandı. Beş (%100) *Staphylococcus* spp. izolatı (3 *S. pseudintermedius*, 1 *S. aureus*, 1 *S. haemolyticus*) FOX veya OX'a dirençli bulundu. Dört (%80) *Staphylococcus* spp. izolatında (2 *S. pseudintermedius*, 1 *S. aureus*, 1 *S. haemolyticus*) ise *mecA* geni tespit edildi. MRS izolatları hasta köpeklerden izole edildi. (Tablo 4.6). Sağlıklı köpeklerde metisilin direnci saptanmadı.

Köpeklerden izole edilen MRS (n: 5) izolatlarında MSS (n: 26) izolatlarına göre yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı daha yüksek oranda direnç saptandı (Tablo 4.7). Benzer şekilde MRS izolatlarında (n: 4, %80) MSS izolatlarına (n: 3, %11,54) göre daha yaygın bir şekilde MDR tespit edildi ($p=0,005$).

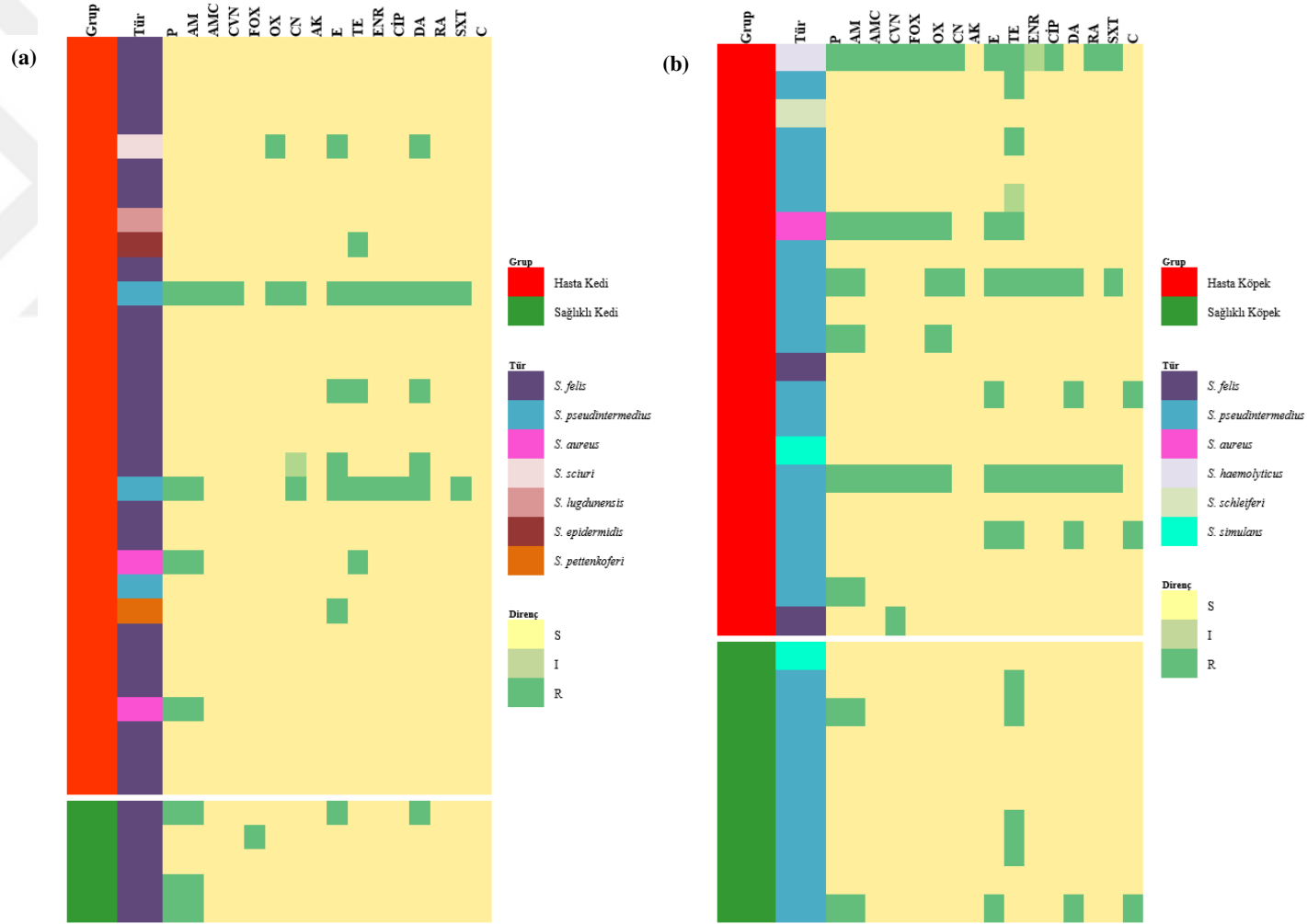
Tablo 4.4. Sağlıklı ve hasta kedi ve köpeklerden izole edilen *Staphylococcus* spp. izolatlarının antibiyotik direnç oranları.

Antibiyotik Sınıfı	Antimikrobiyal Ajan (disk içeriği)	Dirençli <i>Staphylococcus</i> spp. Sayısı (%)					
		Sağlıklı Kedi (n: 5)	Hasta Kedi (n: 31)	Toplam (n: 36)	Sağlıklı Köpek (n: 21)	Hasta Köpek (n: 10)	Toplam (n:31)
β-laktamlar	P (10 IU)	3 (60,0)	4 (12,90)	7 (19,44)	2 (9,52)	6 (60,0)	8 (25,80)
	AM (10 µg)	3 (60,0)	4 (12,90)	7 (19,44)	2 (9,52)	6 (60,0)	8 (25,80)
	AMC (20/10 µg)	0 (0,0)	1 (3,22)	1 (2,77)	0 (0,0)	3 (30,0)	3 (9,67)
	CVN (30 µg)	0 (0,0)	1 (3,22)	1 (2,77)	0 (0,0)	4 (40,0)	4 (12,90)
	FOX (30 µg)	1 (20,0)	0 (0,0)	1 (2,77)	0 (0,0)	3 (30,0)	3 (9,67)
Aminoglikozidler	OX (1 µg)	0 (0,0)	2 (6,45)	2 (5,55)	0 (0,0)	5 (50,0)	5 (16,12)
	CN (10 µg)	0 (0,0)	2 (6,45)	2 (5,55)	0 (0,0)	2 (20,0)	2 (6,45)
Makrolidler	AK (30 µg)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
	E (15 µg)	1 (20,0)	6 (19,35)	7 (19,44)	1 (4,76)	6 (60,0)	7 (22,50)
Tetrasiklinler	TE (30 µg)	0 (0,0)	5 (16,12)	5 (13,88)	4 (19,04)	7 (70,0)	11 (35,48)
Florokinolonlar	ENR (5 µg)	0 (0,0)	2 (6,45)	2 (5,55)	0 (0,0)	2 (20,0)	2 (6,45)
	CİP (5 µg)	0 (0,0)	2 (6,45)	2 (5,55)	0 (0,0)	3 (30,0)	3 (9,67)
Linkozamidler	DA (2 µg)	1 (20,0)	5 (16,12)	6 (16,66)	1 (4,76)	4 (40,0)	5 (16,12)
Rifamisinler	RA (5 µg)	0 (0,0)	1 (3,22)	1 (2,77)	0 (0,0)	2 (20,0)	2 (6,45)
Sülfonamidler	SXT (SM/TM, 23.75/1.25 µg)	0 (0,0)	2 (6,45)	2 (5,55)	0 (0,0)	3 (30,0)	3 (9,67)
Fenikoller	C (30 µg)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (4,76)	2 (20,0)	3 (9,67)

P: penisilin; AM: ampisilin; AMP: amoksasilin-klavulonik asit; CVN: sefovesin; FOX: sefoksitin; OX: oksasilin; CN: gentamisin; AK: amikasin; E: eritromisin; TE: tetrasiklin; ENR: enrofloksasilin; CİP: siprofloksasin; DA: klindamisin; RA: rifampin; SXT: sülfametoksazol/trimetoprim; C: kloramfenikol.



Şekil 4.7. Sağlıklı ve hasta kedilerden izole edilen stafilocok türlerinin antimikrobiyal direnç sıklığı. P: penisilin; AM: ampisilin; AMP: amoksasilin-klavulonik asit; CVN: sefovesin; FOX: sefoksitin; OX: oksasilin; CN: gentamisin; AK: amikasin; E: eritromisin; TE: tetrasiklin; ENR: enrofloksasilin; CIP: siprofloksasin; DA: klindamisin; RA: rifampin; SXT: sülfametoksazol/trimetoprim; C: kloramfenikol.



Şekil 4.8. Sağlıklı ve hasta kedi (a) ve köpeklerden (b) izole edilen *Staphylococcus* spp. suşlarının antimikrobiyal direnç paternlerinin ısı haritası görünümü. P: penisilin; AM: ampisilin; AMP: amoksisilin-klavulonik asit; CVN: sefovesin; FOX: sefoksitin; OX: oksasilin; CN: gentamisin; AK: amikasin; E: eritromisin; TE: tetrasiklin; ENR: enrofloksasilin; CİP: siprofloksasin; DA: klindamisin; RA: rifampin; SXT: sülfametoksazol/trimetoprim; C: kloramfenikol.

Tablo 4.5. Sağlıklı ve hasta kedilerden izole edilen MDR ve MRS izolatlarının sayısı.

<i>Staphylococcus spp.</i>	n	MDR Sayısı			MRS Sayısı		
		Sağlıklı Kedi	Hasta Kedi	Toplam	Sağlıklı Kedi	Hasta Kedi	Toplam
Koagülaz pozitif	5	0	2/5	2/5	0	1/5	1/5
<i>S. pseudintermedius</i>	3	0	2/3	2/3	0	1/3	1/3
<i>S. aureus</i>	2	0	0/2	0/2	0	0/2	0/2
Koagülaz negatif	31	1/5	2/26	3/31	2/5	1/26	3/31
<i>S. felis</i>	27	1/5	1/22	2/27	2/5	0/22	2/27
<i>S. epidermidis</i>	1	0	0/1	0/1	0	0/1	0/1
<i>S. lugdunensis</i>	1	0	0/1	0/1	0	0/1	0/1
<i>S. pettenkoferi</i>	1	0	0/1	0/1	0	0/1	0/1
<i>S. sciuri</i>	1	0	1/1	1/1	0	1/1	1/1
Toplam	36	1/5	4/31	5/36	2/5	2/31	4/36
<i>p</i>-değeri		0,549			0,084		

MDR: çoklu ilaç direnci, MRS: metisiline dirençli stafilokok.

Tablo 4.6. Sağlıklı ve hasta kedi ve köpeklerden izole edilen MDR ve MRS izolatlarının antimikrobiyal direnç paternleri.

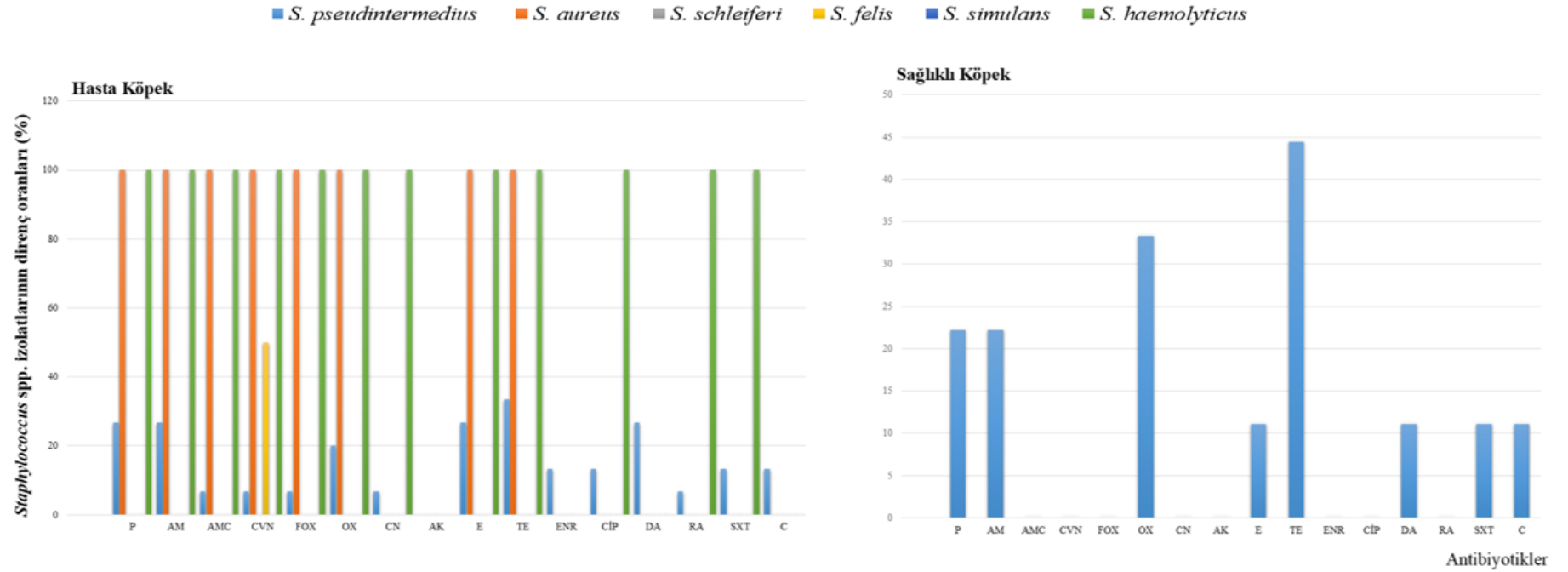
Grup	Hayvan No	Tür	<i>mecA</i>	Antibiyotik Direnç Patterni	Biyofilm
Kedi					
Sağlıklı	8	<i>S. felis</i>	+	P, AM, E, DA	Zayıf
	10	<i>S. felis</i>	-	FOX	Zayıf
	55	<i>S. sciuri</i>	-	OX, E, DA	Güçlü
Hasta	64	<i>S. pseudintermedius</i>	+	P, AM, AMC, CVN, OX, CN, AK, E, TE, ENR, CİP, DA, RA, SXT	Güçlü
	73	<i>S. felis</i>	-	E, TE, DA	Zayıf
	80	<i>S. pseudintermedius</i>	-	P, AM, CN, E, TE, ENR, CİP, DA, SXT	Güçlü
Köpek					
Sağlıklı	150	<i>S. pseudintermedius</i>	-	P, AM, E, DA, C	Güçlü
	154	<i>S. haemolyticus</i>	+	P, AM, AMC, CVN, FOX, OX, CN, E, TE, CİP, RA, SXT	Güçlü
	166	<i>S. pseudintermedius</i>	+	P, AM, OX, CN, E, TE, ENR, CİP, DA, SXT	Güçlü
	170	<i>S. pseudintermedius</i>	-	P, AM, OX	Güçlü
Hasta	173	<i>S. pseudintermedius</i>	-	E, DA, C	Güçlü
	184	<i>S. pseudintermedius</i>	+	P, AM, AMC, CVN, FOX, OX, E, TE, ENR, CİP, DA, RA, SXT	Güçlü
	193	<i>S. pseudintermedius</i>	-	E, TE, DA, C	Güçlü
	162	<i>S. aureus</i>	+	P, AM, AMC, CVN, FOX, OX, E, TE	Güçlü

MDR: çoklu ilaç direnci, MRS: metisiline dirençli stafilokok, P: penisilin; AM: ampisilin; AMP: amoksasilin-klavulonik asit; CVN: sefovesin; FOX: sefoksitin; OX: oksasilin; CN: gentamisin; AK: amikasin; E: eritromisin; TE: tetrasiklin; ENR: enrofloksasilin; CİP: siprofloksasin; DA: klindamisin; RA: rifampin; SXT: sülfametoksazol/trimetoprim; C: kloramfenikol.

Tablo 4.7. Kedi ve köpeklerden izole edilen MRS ve MSS izolatlarının antibiyotiklere direnç oranları.

Antimikrobiyal Ajan	Kedi			Köpek		
	MRS (n: 4)	MSS (n: 32)	<i>p</i> -Değeri	MRS (n: 5)	MSS (n: 26)	<i>p</i> -Değeri
P	2 (50,0)	5 (15,62)	0,163	5 (100,0)	3 (11,53)	<0,001
AM	2 (50,0)	5 (15,62)	0,163	5 (100,0)	3 (11,53)	<0,001
AMC	1 (25,0)	0 (0,0)	0,111	3 (60,0)	0 (0,0)	0,002
CVN	1 (25,0)	0 (0,0)	0,111	3 (60,0)	1 (3,84)	0,008
FOX	1 (25,0)	0 (0,0)	0,111	3 (60,0)	0 (0,0)	0,002
OX	2 (50,0)	0 (0,0)	0,010	5 (100,0)	0 (0,0)	< 0,001
CN	1 (25,0)	1 (3,12)	0,305	2 (40,0)	0 (0,0)	0,022
AK	0 (0,0)	0 (0,0)		0 (0,0)	0 (0,0)	
E	3 (75,0)	4 (12,5)	0,018	4 (80,0)	3 (11,53)	0,005
TE	1 (25,0)	4 (12,5)	0,466	4 (80,0)	7 (26,92)	0,083
ENR	1 (25,0)	1 (3,12)	0,213	2 (40,0)	0 (0,0)	0,002
CİP	1 (25,0)	1 (3,12)	0,213	3 (60,0)	0 (0,0)	0,002
DA	3 (75,0)	3 (9,37)	0,010	2 (40,0)	3 (11,53)	0,173
RA	1 (25,0)	0 (0,0)	0,111	2 (40,0)	0 (0,0)	0,022
SXT	1 (25,0)	1 (3,12)	0,213	3 (60,0)	0 (0,0)	0,002
C	0 (0,0)	0 (0,0)		0 (0,0)	3 (11,53)	0,99

MRS: metisiline dirençli stafilokok, MSS: metisiline dirençli stafilokok, P: penisilin; AM: ampisilin; AMP: amoksasilin-klavulonik asit; CVN: sefovesin; FOX: sefoksitin; OX: oksasilin; CN: gentamisin; AK: amikasin; E: eritromisin; TE: tetrasiklin; ENR: enrofloksasilin; CİP: siprofloksasin; DA: klindamisin; RA: rifampin; SXT: sülfametoksazol/trimetoprim; C: kloramfenikol.



Şekil 4.9. Sağlıklı ve hasta köpeklerden izole edilen stafilocok türlerinin antimikrobiyal direnç sıklığı. P: penisilin; AM: ampisilin; AMP: amoksisilin-klavulonik asit; CVN: sefovesin; FOX: sefoksitin; OX: oksasilin; CN: gentamisin; AK: amikasin; E: eritromisin; TE: tetrasiklin; ENR: enrofloksasilin; CİP: siprofloksasin; DA: klindamisin; RA: rifampin; SXT: sülfametoksazol/trimetoprim; C: kloramfenikol.

Tablo 4.8. Sağlıklı ve hasta köpeklerden izole edilen MDR ve MRS izolatlarının sayısı.

<i>Staphylococcus spp.</i>	n	MDR Sayısı			MRS Sayısı		
		Sağlıklı Köpek	Hasta Köpek	Toplam	Sağlıklı Köpek	Hasta Köpek	Toplam
Koagülaz pozitif	26	1/9	5/17	6/26	0/9	4/17	4/26
<i>S. pseudintermedius</i>	24	1/9	4/15	5/24	0/9	3/15	3/24
<i>S. aureus</i>	1	0	1/1	1/1	0	1/1	1/1
<i>S. schleiferi</i>	1	0	0/1	0/1	0	0/1	0/1
Koagülaz negatif	5	0/1	0/4	1/5	0/1	1/4	1/5
<i>S. felis</i>	2	0	0/2	0/2	0	0/2	0/2
<i>S. simulans</i>	2	0/1	0/1	0/2	0/1	0/1	0/2
<i>S. haemolyticus</i>	1	0	1/1	1/1	0	1/1	1/1
Toplam	31	1/10	6/21	7/31	0/10	5/21	5/31
<i>p</i>-değeri		0,379			0,147		

MDR: çoklu ilaç direnci, MRS: metisiline dirençli stafilokok.

4.4. Biyofilm Üretimi

Kantitatif biyofilm üretim testi (mikroplaka testi) sonucunda kedi ve köpeklerden izole edilen *Staphylococcus* spp. suşlarının (n: 67) 64'ünde (%95,52) biyofilm üretimi tespit edildi. İzolatların 36'sında (%53,73) güçlü ($0,680 < OD$), 12'sinde (%17,91) orta ($0,340 < OD \leq 0,680$) ve 16'sında (%23,88) zayıf ($0,170 < OD \leq 0,340$) biyofilm üretimi saptandı. İzolatların 3'ünde (%4,48) ($OD < 0,170$) ise biyofilm üretimi tespit edilmedi. Pozitif kontrol olarak kullanılan *S. aureus* 25923 ($OD = 0,871$) ve *S. epidermidis* YT169a ($OD = 1,560$) suşlarında güçlü biyofilm üretimi saptandı.

S. pseudintermedius suşlarının (n: 27) 26'sında güçlü ($0,930 < OD \leq 2,787$) biyofilm üretimi belirlenirken, 1'inin ($OD = 0,151$) biyofilm üretmediği tespit edildi. *S. aureus* suşlarının (n: 3) tümünde güçlü ($0,681 < OD \leq 0,767$) biyofilm üretimi saptandı. *S. felis* suşlarının (n: 29) ise 1'inin güçlü ($OD = 0,775$), 10'unun orta ($0,364 < OD \leq 0,532$), 16'sının zayıf ($0,176 < OD \leq 0,339$) biyofilm ürettiği, 2'sinin ($OD = 0,144$, $OD = 0,153$) ise biyofilm üretmediği belirlendi. *S. simulans* (n: 2) suşlarının 1'inin güçlü ($OD = 1,442$) ve 1'inin orta ($OD = 0,387$) düzey biyofilm ürettiği tespit edildi. Birer izolatın olduğu *S. epidermidis* ($OD > 3,805$), *S. lugdunensis* ($OD = 3,805$), *S. sciuri* ($OD = 2,010$), *S. haemolyticus* ($OD = 3,472$) ve *S. schleiferi* ($OD = 1,621$) suşlarında güçlü, *S. pettenkoferi* ($OD = 0,351$) suşunda ise orta düzeyde biyofilm üretimi belirlendi (Tablo 4.9). İstatistiksel analizlerde hem *S. pseudintermedius* suşlarında hem de “diğer” olarak gruplandırılan suşlarda, *S. felis* suşlarına kıyasla güçlü biyofilm üretimi tespit edildi ($p < 0,001$).

Hasta ve sağlıklı kedilerden izole edilen stafilokokların biyofilm üretme yeteneği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmasına rağmen ($p = 0,016$), köpeklerden izole edilen stafilokoklar arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p = 0,323$, Tablo 4.9). Köpeklerde “güçlü” biyofilm üretimi hem hasta hem de sağlıklı hayvanlarda tespit edildi. Hasta kedilerde güçlü (%20,03, 9/31), orta (%32,26, 10/31) ve zayıf (%38,70, 12/31) biyofilm üretimi benzer oranlarda görülürken; sağlıklı kedilerde yalnızca zayıf (%60, 3/5) biyofilm üretimi saptandı (Tablo 4.9).

Antibiyotik direncine göre, MSS izolatlarının %50,00'si (29/58) güçlü, %20,69'u (12/58) orta, %24,14'ünün (14/58) zayıf biyofilm ürettiği tespit edildi. MRS izolatlarının %77,78'inin (7/9) güçlü, %22,22'sinin (2/9) zayıf, MDR izolatlarının ise %83,33'ünün (10/12) güçlü, %16,67'sinin (2/12) zayıf biyofilm ürettiği belirlendi (Tablo 4.10). Test sonucuna göre metisilin direnci ($p=0,99$) ve MDR ($p=0,99$) ile biyofilm üretimi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Penisilin, ampisilin ve tetrasikline direnç ile biyofilm üretme gücü arasında anlamlı bir ilişki görülürken ($p<0,05$), diğer antibiyotiklere direnç ile biyofilm üretme gücü arasında ilişki saptanmadı ($p >0,05$, Tablo 4.11).



Tablo 4.9. *Staphylococcus* spp. suşlarının izolasyon kaynağına ve biyofilm üretme kapasitelerine göre dağılımı.

<i>Staphylococcus</i> spp.	Kedi						Köpek						Toplam (%)
	Hasta			Sağlıklı			Hasta			Sağlıklı			
	Güçlü	Orta	Zayıf	Güçlü	Orta	Zayıf	Güçlü	Orta	Zayıf	Güçlü	Orta	Zayıf	
<i>S. pseudintermedius</i>	3/3						15/15			8/9			26/27 (96,30)
<i>S. aureus</i>	2/2						1/1						3/3 (100,00)
<i>S. schleiferi</i>							1/1						1/1 (100,00)
<i>S. felis</i>	1/22	9/22	12/22			3/5		1/2	1/2				27/29 (93,10)
<i>S. simulans</i>								1/1		1/1			2/2 (100,00)
<i>S. sciuri</i>	1/1												1/1 (100,00)
<i>S. lugdunensis</i>	1/1												1/1 (100,00)
<i>S. epidermidis</i>	1/1												1/1 (100,00)
<i>S. pettenkoferi</i>		1/1											1/1 (100,00)
<i>S. haemolyticus</i>							1/1						1/1 (100,00)
Toplam (%)	31/31 (100,00)			3/5 (60,00)			21/21 (100,00)			9/10 (90,00)			
p-değeri				0,016						0,323			

Tablo 4.10. MDR, MRS ve MSS izolatları ile biyofilm oluşturma yeteneği.

<i>Staphylococcus spp.</i>	Biyofilm üreten izolat sayısı (%)									
	MDR			MRS			MSS			
	n	Zayıf	Güçlü	n	Zayıf	Güçlü	n	Zayıf	Orta	Güçlü
<i>S. pseudintermedius</i>	7		7 (100,00)	4		4 (100,00)	23			22 (95,65)
<i>S. aureus</i>	1		1 (100,00)	1		1 (100,00)	2			2 (100,00)
<i>S. schleiferi</i>	0			0			1			1 (100,00)
<i>S. felis</i>	2	2 (100,00)		2	2 (100,00)		27	14 (51,85)	10 (37,04)	1 (3,70)
<i>S. simulans</i>	0			0			2		1 (50,00)	1 (50,00)
<i>S. sciuri</i>	1		1(100,00)	1		1(100,00)	0			
<i>S. lugdunensis</i>	0			0			1			1 (100,00)
<i>S. epidermidis</i>	0			0			1			1 (100,00)
<i>S. pettenkoferi</i>	0			0			1		1 (100,00)	
<i>S. haemolyticus</i>	1		1 (100,00)	1		1 (100,00)	0			
Toplam	12	2 (16,67)	10 (83,33)	8	2 (22,22)	7 (77,78)	58	14 (24,14)	12 (20,69)	29 (50,00)

MDR: çoklu ilaç direnci, MRS: metisiline dirençli stafilokok, MSS: metisiline dirençli stafilokok.

Tablo 4.11. Fenotipik yöntemle antibiyotik dirençli/duyarlı suşlar ve biyofilm oluşturma yeteneği.

Antibiyotikler	Biyofilm üreten izolat sayısı (%)								<i>p</i> -Değeri
	Dirençli			Toplam	Duyarlı			Toplam	
	Zayıf	Orta	Güçlü		Zayıf	Orta	Güçlü		
P	1	0	12	13	15	12	24	51	0,010
AM	1	0	12	13	15	12	24	51	0,010
AMC	0	0	4	4	16	12	32	60	0,376
CVN	1	0	4	5	15	12	32	59	0,820
FOX	1	0	3	4	15	12	33	60	0,810
OX	0	0	7	7	16	12	29	57	0,056
CN	0	0	4	4	16	12	32	60	0,163
AK	0	0	0	0	16	12	36	64	
E	2	2	10	14	14	10	26	50	0,510
TE	1	0	15	16	15	12	21	48	0,002
ENR	0	0	4	4	16	12	32	60	0,652
CİP	0	0	5	5	16	12	31	59	0,223
DA	2	1	8	11	14	11	28	53	0,546
RA	0	0	3	3	16	12	33	61	0,577
SXT	0	0	5	5	16	12	31	59	0,223
C	0	0	3	3	16	12	33	61	0,577

P: penisilin; AM: ampisilin; AMP: amoksisilin-klavulonik asit; CVN: sefovesin; FOX: sefoksitin; OX: oksasilin; CN: gentamisin; AK: amikasin; E: eritromisin; TE: tetrasiklin; ENR: enrofloksasilin; CİP: siprofloksasin; DA: klindamisin; RA: rifampin; SXT: sülfametoksazol/trimetoprim; C: kloramfenikol.

4.5. Risk Faktörleri

Hayvan sahiplerine yapılan anket sonuçlarına göre hem MDR hem de MRS için “Ailede antimikrobiyal kullanımı”, “Aknesi olan aile üyesi”, “Kedi/köpekte daha önce antimikrobiyal kullanımı”, “Kedi/köpekte mevcut antimikrobiyal kullanımı”nın önemli risk faktörleri olduğu saptanmasına rağmen ($p<0,05$), “Evde çocuk” değişkeninin yalnızca MRS için anlamlı bir etki gösterdiği belirlendi ($p=0,020$). Diğer taraftan “Ailenin yaşadığı yer”, “Kedi/köpeğin yaşadığı ortam”, “Kliniğe getirilme nedeni”, “Başka kedi veya köpekler ile temas” risk faktörlerinin ise MDR veya MRS için anlamlı bir etki göstermediği tespit edildi ($p>0,05$, Tablo 4.12).

Tablo 4.12. Sağlıklı ve hasta kedi ve köpeklerden izole edilen *Staphylococcus* spp. izolatlarından MDR ve MRS izolatları ile ilişkili risk faktörlerinin tek değişkenli analizi.

Faktör	MDR		MRS		MDR		MRS	
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Odds Ratio	<i>p</i> -değeri	Odds Ratio	<i>p</i> -değeri
Ailede antimikrobiyal kullanımı								
Yok	3	36	2	37	0,176		0,162	
Var	9	19	7	21	Ref	0,010	Ref	0,019
Aknesi olan aile üyesi								
Yok	5	46	4	47	0,140		0,187	
Var	7	9	5	11	Ref	0,002	Ref	0,017
Kedi/köpekte daha önce antimikrobiyal kullanımı								
Yok	3	40	3	40	0,125		0,225	
Var	9	15	6	18	Ref	0,002	Ref	0,038
Kedi/köpekte mevcut antimikrobiyal kullanımı								
Yok	3	48	3	48	0,049		0,104	
Var	9	7	6	10	Ref	<0,001	Ref	0,001
Evde çocuk								
Yok	6	39	3	42	0,410		0,190	
Var	6	16	6	16	Ref	0,162	Ref	0,020
Ailenin yaşadığı yer								
Köy	0	5	0	5	Ref		Ref	
Kentte	4	15	2	17	3,193		1,571	
müstakil ev								
Apartman	8	35	7	36	2,634		2,26	
daresi						0,540		0,545

MDR: çoklu ilaç direnci, MRS: metisiline dirençli stafilokok.

Tablo 4.12. (Devam) Sağlıklı ve hasta kedi ve köpeklerden izole edilen *Staphylococcus* spp. izolatlarından MDR ve MRS izolatları ile ilişkili risk faktörlerinin tek değişkenli analizi.

Faktör	MDR		MRS		MDR		MRS	
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Odds Ratio	p-değeri	Odds Ratio	p-değeri
Kedi/köpeğin yaşadığı ortam								
İçeride	4	25	3	26	Ref		Ref	
Kısmi dışarıda	5	10	3	12	3,125		2,167	
Dışarıda	3	20	3	20	0,937	0,209	1,300	0,671
Kliniğe getirilme nedeni								
Aşı, traş veya kısırlaştırma	2	13	2	13	Ref		Ref	
Tedavi	10	42	7	45	1,550	0,600	1,010	0,990
Başka kedi veya köpekler ile temas								
Yok	3	19	2	20	0,632		0,543	
Var	9	36	7	38	Ref	0,524	Ref	0,466

MDR: çoklu ilaç direnci, MRS: metisiline dirençli stafilokok.

5. TARTIŞMA

Otitis eksterna tek veya çift taraflı, kulak kepçesi dahil olmak üzere dış kulak kanalının akut veya kronik seyirli yangısal bir hastalığıdır (Carlotti ve ark., 1997). Otitis eksterna, ırk, cinsiyet veya yaştan bağımsız olarak her kedi veya köpekte gözlenebilir, fakat hastalığın oluşmasında çeşitli mikroorganizmalar, genetik faktörler ve anatomik yapının rol oynadığı bilinmektedir (August, 1988, Keskin ve ark., 2010; Murphy, 2001). Başta Himalayan ve Persian ırkı kediler ile Poodle, Cocker Spanial, Alman Çoban Köpekleri, Labrador Retriever, Kaniş ve Fox Terrier ırkı köpekler olmak üzere daha çok sarkık kulaklı, uzun tüylü, kulak içerisinde yüksek tüy yoğunluğuna ve kulak kanalında yüksek nem seviyesine sahip olan ırkların otitis eksternaya predispozisyon gösterdiği rapor edilmiştir (Angus ve ark., 2002; Brame ve Cain 2021; Carlotti, 1991; Fernandez ve ark., 2006; Keskin, 1999; O'Neill ve ark., 2021; Rosser, 2004; Scott ve ark., 2001; Zur ve ark., 2011). Benzer şekilde bu çalışmada da hasta ve sağlıklı kediler arasında ırk, yaş ve cinsiyet yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Köpeklerde ise hasta ve sağlıklı gruplar arasında yaş grupları yönünden anlamlı bir fark saptanmamasına rağmen, orta boy ırk köpeklerin küçük ırk köpeklerle göre, erkeklerin ise dişilere göre otitise daha duyarlı olduğu belirlendi. Çok sayıda çalışmada otitis eksternanın bazı köpek ırklarında yüksek oranda görüldüğü rapor edilmiştir (Angus ve ark., 2002; O'Neill ve ark., 2021; Zur ve ark., 2011). Bu çalışmada da önceki raporlar (Angus ve ark., 2002; O'Neill ve ark., 2021; Zur ve ark., 2011) ile uyumlu bir şekilde otitisli grupta karışık ırk, kangal, Golden Retriever, Cocker Spaniel, Alman Çoban Köpeği ve Terrier gibi büyük ve orta boy ırk köpeklerin sayısı diğer küçük ırklara göre fazlaydı. Diğer taraftan, yaş ve cinsiyet ile otitis eksterna arasındaki ilişkiyi araştıran sınırlı sayıda rapor bulunmaktadır (Kasai ve ark., 2021; Kumar ve ark., 2014; O'Neill ve ark., 2021; Zur ve ark., 2011). O'Neill ve ark. (2021) erkek köpeklerde dişilere kıyasla 1,21 kat (%95 CI: 1,09-1,34, $P<0,001$) daha fazla otitis eksterna saptadıklarını bildirmişlerdir. Hindistan'da 273 otitisli köpek üzerinde yapılan bir çalışmada erkek köpeklerde dişilere kıyasla daha yüksek otitis

eksterna prevalansı rapor edilmiştir (Kumar ve ark., 2014). Zur ve ark. (2011) da erkek köpeklerde (n: 80) dişi köpeklerden (n: 69) daha fazla otitis eksterna tespit ettiklerini, ancak köpeklerde otitis eksterna ile cinsiyet predispozisyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamadıklarını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Kasai ve ark. (2021) tarafından otitis eksternalı ve sağlıklı köpeklerin kulak kanalı mikrobiyotasının karşılaştırıldığı bir çalışmada yaş ve cinsiyet yönünden gruplar arasında fark saptanmadığı, ancak otitis eksternalı erkek (n: 16) köpeklerin sayısının dişilerden (n: 7) daha fazla olduğu rapor edilmiştir.

Sağlıklı köpeklerin %5 ila %71,2'sinde (Tater ve ark., 2003), sağlıklı kedilerin ise %2 ile %71'inde (Brame ve Cain, 2021) dış kulak kanalından stafilokokların izole edildiği rapor edilmiştir. Bradley ve ark. (2020) sağlıklı köpeklerin kulak kanalından en fazla izole edilen bakteri genusunun *Staphylococcus* spp. olduğunu ve otitis olgularında sayısının arttığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Kasai ve ark. (2021) otitis eksternalı köpeklerin kulak kanalı mikrobiyotasında bulunan *Staphylococcus* spp. miktarının sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı ($P = 0,04$) bir şekilde arttığını rapor etmişlerdir. Daha önceki raporlarla uyumlu olarak bu çalışmada da hem sağlıklı kedilerin (n:5, %10) hem de köpeklerin (n:10, %20) kulak kanalından *Staphylococcus* spp. izole edildi ve otitisli kedi (n:31, %62) ve köpeklerde (n:21, %42) *Staphylococcus* spp. izolasyon sayısı sağlıklı hayvanlardan daha yüksekti.

Tüm dünyada çok sayıda çalışmada köpeklerde en yüksek oranda otitise neden olan bakteriyel patojenlerin stafilokoklar olduğu rapor edilmiştir (Bajwa, 2019; Lynch ve Helbig, 2021; Perry ve ark., 2017). Fernandez ve ark. (2006) otitis eksternalı köpeklerden %12,50 oranında *S. aureus*, %8,33 oranında *S. epidermidis* ve %5,56 oranında KNS izole ettiklerini bildirmişlerdir. Oliveira ve ark. (2006) 62 adet otitisli köpekten %43,3 oranında *S. intermedius* ve %30 oranında *S. aureus* izole ettiklerini rapor etmişlerdir. Goodacre ve ark. (1997) tarafından *S. intermedius*'un köpeklerde otitis vakalarının %45'inden izole edildiği bildirilmiştir. Zur ve ark. (2011) tarafından otitisli köpeklerden en yüksek oranda izole edilen stafilokok türünün *S. pseudintermedius* olduğu rapor edilmiştir. Lynch ve Helbig (2021) tarafından *S. pseudintermedius*'un köpeklerde otitis eksterna vakalarının %20-94,3'ünden izole edilen en önemli patojen olduğu ileri sürülmüştür. Bununla birlikte otitis eksterna

olgularında *S. pseudintermedius*'un prevalansı halen araştırılmakta ve coğrafi konumun *S. pseudintermedius*'un prevalansında önemli bir faktör olduğu öne sürülmektedir (Perry ve ark., 2017).

Türkiye’de yapılan çalışmalarda da otitis eksterna şüpheli köpeklerden en yüksek oranda izole edilen bakteriyel patojenin *Staphylococcus* spp. olduğu ve %18 ila %80 arasında izole edildiği rapor edilmiştir (Bıçakçıoğlu ve ark., 2021; Borum ve ark., 2014; Diren Sığırcı ve ark., 2018; İlhan ve ark., 2022; Keskin ve ark., 1999; Öztürk ve ark., 2010). Keskin ve ark.(1999) otitis eksternalı 81 köpekten en yüksek oranda (%46,9; n:39) *S. aureus* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Borum ve ark. (2014) otitis eksternalı 54 köpekten %55,76 oranında *S. aureus*, %17,30 oranında ise KNS izole etmişlerdir. Öztürk ve ark. (2016) 2005-2014 yılları arasında Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesine getirilen otitis eksternalı köpeklerden en yüksek oranda (%31,25) *S. aureus*, %14,06 oranında ise KNS izole ettiklerini rapor etmişlerdir. Diren Sığırcı ve ark. (2018) tarafından 2005-2016 yılları arasında olmak üzere 11 yıl boyunca otitis eksternalı köpeklerde bakteriyel ve mikotik etkenlerin dağılımını inceledikleri bir çalışmada en yüksek oranda (%18,7) izole edilen bakteriyel patojenin *S. intermedius* olduğunu bildirmişlerdir. İlhan ve ark. (2022) Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi’ne getirilen otitis eksternalı köpeklerden en yüksek oranda (%80) izole edilen patojenin *Staphylococcus* spp. olduğunu, tür düzeyinde ise %29,1 oranında *S. aureus*, %25 oranında *S. schleiferi* subsp. *schleiferi*, %20,8 oranında KNS, %16,6 oranında *S. haemolyticus* ve %8,3 oranında *S. epidermidis* izole ettiklerini rapor etmişlerdir. Hassan ve ark. (2023) İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi’ne getirilen 100 otitis eksternalı köpekte yürüttükleri çalışmada hastaların %36’sından *Staphylococcus* spp. izole ettiklerini ve en yüksek oranda izole ettikleri stafilokok türünün *S. pseudintermedius* (%41,6) olduğunu, bunu sırasıyla *S. aureus* (%22,2), *S. epidermidis* (%11,1), *S. hyicus* (%5,5) ve *S. chromogenes*’in (5,5) takip ettiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada da önceki raporlar ile uyumlu bir şekilde otitisli köpeklerden en yüksek oranda izole edilen bakteriyel patojen *Staphylococcus* spp. (n:21, %42) idi. Diğer taraftan tür düzeyinde değerlendirildiğinde ise Lynch ve Helbig (2021) ve Hassan ve ark. (2023)’nın raporları ile benzer şekilde otitisli köpeklerden en yüksek

oranda izole edilen stafilokok türü *S. pseudintermedius* (n:15, %71,43) idi. Önceki raporlarda otitisli köpeklerde *S. pseudintermedius*'tan ziyade en yüksek oranda *S. aureus* veya *S. intermedius*'un rapor edilme nedenlerinin; I. *S. pseudintermedius*'un 2005 yılında Devriese ve ark. tarafından tanımlanan yeni bir tür olması, II. standart laboratuvar yöntemleriyle *S. aureus* ve *S. intermedius* ile *S. pseudintermedius* ayrımının zorluğu ve bazı *S. pseudintermedius* suşlarının *S. aureus* veya *S. intermedius* olarak yanlış sınıflandırılmasından kaynaklanabileceği düşünüldü.

S. pseudintermedius'un clumping faktörü negatiftir ve bu nedenle stafilokokları tanımlamak için sadece bu testi kullanan laboratuvarlar tarafından KNS olarak yanlış tanımlanabilir. Öte yandan tüp koagülaz testi pozitifdir ve bu nedenle sadece bu testi kullanan laboratuvarlar tarafından *S. aureus* olarak yanlış tanımlanabilir (Bannoehr ve Guardabassi, 2012). Bu çalışmada izole edilen *S. pseudintermedius* suşlarının tümü (n: 27; %100) serbest koagülaz enzimi yönünden pozitif bulunurken, sadece 2'sinin (%7,40) clumping faktör yönünden pozitif olduğu belirlendi. Benzer şekilde 2023 yılında Glajzner ve ark. tarafından 40 *S. pseudintermedius* izolatından 4'ünde clumping faktör saptandığı ve bu suşların insan kaynaklı *S. pseudintermedius* suşları olduğu rapor edilmiştir. Glajzner ve ark. (2023) tarafından yapılan bu rapor sonuçlarımızı desteklemekte ve *S. pseudintermedius* suşları arasında clumping faktör yönünden farklılıklar olabileceğini düşündürmektedir.

Son yıllarda, gen tabanlı yaklaşımlar, fenotipik olarak *S. intermedius* olarak tanımlanan KPS'lerin, *S. intermedius* grubunu temsil eden *S. intermedius*, *S. delphini* ve *S. pseudintermedius* olmak üzere yakın ilişkili üç tür olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar, daha önce *S. intermedius* olarak tanımlanan çoğu köpek izolatının *S. pseudintermedius* olarak sınıflandırılması gerektiğini göstermektedir. Günümüzde *S. intermedius* grubu içerisinde yer alan stafilokok türlerini klasik biyokimyasal yöntemler ile ayırt etmek oldukça zordur ve güvenilir değildir (Bannoehr ve ark., 2007; Bond ve Loeffler, 2012; Tse ve ark., 2011).

S. pseudintermedius'un identifikasyonunda MALDI-TOF tiplendirmesinin sensitivite ve spesifitesi ile ilişkili farklı raporlar bulunmaktadır (Decristophoris ve

ark., 2011; Murugaiyan ve ark., 2014; Nisa ve ark., 2019; Silva ve ark., 2015). Yakın tarihte yapılan bir çalışmada, Bruker MALDI-TOF MS ile *S. pseudintermedius*'un identifikasyonun oldukça yüksek sensitivite ve spesifite ile yapılabildiği ve güvenle kullanılabileceği rapor edilmektedir (Nisa ve ark., 2019). Bu durumun Bruker referans veri tabanındaki gelişmeler ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada da MALDI-TOF analizi ile *S. pseudintermedius* olarak tanımlanan suşlara ait DNA örneklerinden rastgele seçilen 2 tanesi DNA dizi analizi ile doğrulandı (erişim numarası: PP871689- PP871690).

Türkiye’de köpeklerde otitis olgularının oldukça yaygın ve yüksek oranda görüldüğü ve en yaygın bakteriyel patojenlerin stafilokok cinsine ait olduğu yukarıda sunulan literatür verileri ile ortaya konulmuştur. Ancak Türkiye’de otitis eksterna üzerine yapılan bu araştırmaların köpekler üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. Bununla birlikte kedilerde otitis eksterna ile ilişkili bakteriyel patojenlerin rapor edildiği sadece bir vaka raporuna rastlanıldı (Aslantaş ve ark., 2023). Türkiye ile benzer şekilde diğer ülkelerde de kedilerde otitis eksterna üzerine az sayıda veri bulunmaktadır. Martins ve ark. 2022 yılında 138 köpek ve 4 kedi olmak üzere toplam 142 otitis olgusunun 126’sından patojen etken izole ettiklerini, vakaların 108 (%85,7)’inden bakteriyel patojen, 7 (%5,5)’sinden *Malassezia* spp. ve 13 (%10,3)’ünden hem bakteriyel patojen hem de *Malassezia* spp. izole ettiklerini rapor etmişlerdir. Çalışmada çoğunlukla (%39) *Staphylococcus* spp.’nin saf kültürler halinde ürediği, karışık kültürlerin ise %74,6’sında *Staphylococcus* spp.’nin izole edildiği ve bu kültürlerin %21,4’ünde *Staphylococcus* spp. ile birlikte Gram negatif çomakların (*Enterobacteriaceae* ve/veya *Pseudomonas* spp.) da ürediği bildirilmiştir (Martins ve ark., 2022). Ayrıca otitis eksternalı kedilerin %72’sinden kokların ürediği ve yaygın olarak miks enfeksiyonların gözlendiği de bildirilmiştir (Perego ve ark., 2014). Otitisli kedilerden izole edilen kokların genellikle stafilokok türleri olduğu rapor edilmiştir (Hariharan ve ark., 2006; Kroemer ve ark., 2014). Elmoslemany ve ark. (2021) otitisli kedilerden %44 oranında *S. aureus*, %32 oranında *S. felis*, %8 oranında *S. pseudintermedius*, %8 oranında *S. capitis* ve %8 oranında *S. saprophyticus* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da önceki raporlar ile uyumlu bir şekilde otitisli kedilerden en yüksek oranda izole edilen bakteriyel patojen *Staphylococcus*

spp. (n:31, %62) idi. Bununla birlikte Elmoslemany ve ark. (2021) ile benzer şekilde *S. felis* (n:22, %70,96) otitisli kedilerden yüksek oranda izole edilen stafilokok türüydü.

Bu çalışmada köpeklerden en yüksek oranda KPS izole edilirken, kedilerden KNS izole edildi. Köpeklerde yüksek oranda KPS izolasyonu *S. pseudintermedius* ile ilişkili iken, kedilerde yüksek oranda KNS izolasyonu *S. felis*'ten kaynaklanmaktadır. Otitisli köpeklerden *S. pseudintermedius*'tan (n:15, %71,43) sonra sırasıyla *S. felis* (n:2, %9,53), *S. aureus* (n:1; %4,76), *S. schleiferi* (n:1; %4,76), *S. simulans* (n:1; %4,76) ve *S. haemolyticus* (n:1; %4,76), otitisli kedilerden ise *S. felis*'ten (n:22, %70,96) sonra sırasıyla *S. pseudintermedius* (n:3, %9,67), *S. aureus* (n:2, %6,45), *S. epidermidis* (n:1, %3,23), *S. lugdunensis* (n:1, %3,23), *S. pettenkoferi* (n:1, %3,23) ve *S. sciuri* (n:1, %3,23) izole ve identifiye edildi. Stafilokokların dağılımı önceki raporlar ile benzerlik göstermektedir (Bierowiec ve ark., 2019; 2021; Elmoslemany ve ark., 2021; Ma ve ark., 2020).

Staphylococcus spp. türlerinin çoğu birçok konakçıda bulunurken, *S. pseudintermedius* ve *S. felis* gibi bazı türler ise belirgin konak spesifitesi göstermektedir (Bannoehr ve ark., 2012; Bierowiec ve ark., 2019; 2021; Ma ve ark., 2020). *S. aureus* insanlarda stafilokokal hastalıklarla ilişkili baskın KPS türü iken, *S. pseudintermedius* köpekler için benzer bir öneme sahiptir (Bannoehr ve ark., 2012). Bir deri kommensali olan *S. pseudintermedius* sıklıkla deri ve yara enfeksiyonları olan köpeklerden izole edilmektedir (Weese ve van Duijkeren, 2010). Köpeklerde, *S. pseudintermedius* ile kolonizasyon yaygındır ve sağlıklı köpeklerde %90'na kadar izole edilebilmektedir (Rubin ve ark., 2011). İnsanlardaki *S. aureus* kolonizasyonu gibi, köpeklerde *S. pseudintermedius*, farenks ve rektum başta olmak üzere birçok vücut bölgesinden izole edilebilmektedir (Bierowiec ve ark., 2019; Ma ve ark., 2020).

İnsanların kalıcı olarak *S. pseudintermedius* ile kolonize olmadıkları, ancak enfekte köpeklerle yakın temas sonucu geçici taşıyıcılar olabilecekleri ve bu nedenle *S. pseudintermedius*'un köpeklerden insanlara zoonotik bulaşmasının bir halk sağlığı sorunu olduğu bildirilmiştir (Bierowiec ve ark., 2021; Guimarães ve ark., 2023; Paul

ve ark., 2011). Ayrıca, *S. pseudintermedius* ile kolonize olan insanların hayvanlar arasında bulaşmada rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (Rana ve ark., 2022).

Kedilerde *S. pseudintermedius*'un kolonizasyonunun ise köpeklerden çok daha düşük oranlarda olduğu bildirilmiş ve kedilerden izole edilmesinin bir enfeksiyonun göstergesi olduğu ileri sürülmüştür (Bierowiec ve ark., 2019; 2021; Carrol ve ark., 2021; Hanselman ve ark., 2009). *S. pseudintermedius*'un sağlıklı ve hasta kedilerdeki prevalansının sırasıyla %2,49 ve %7,61 olduğu rapor edilmiştir (Bierowiec ve ark., 2021). Bu çalışmada da sağlıklı kedilerin kulak kanalından *S. pseudintermedius* izole edilemezken, hasta kedilerin ise 3'ünden (%6), sağlıklı köpeklerin 9'undan (%18) ve hasta (otitisli) köpeklerin 15'inden (%30) izole edildi. *S. pseudintermedius*'un sağlıklı kedilerden izole edilmeyip, hasta kedilerden izole edilmesi, hem sağlıklı hem de hasta köpeklerde kedilerden daha yüksek oranlarda tespit edilmesi ve *S. pseudintermedius* izole edilen kedilerin köpekler ve insanlar ile yakın temasının olduğu bilgisi, Bierowiec ve ark. (2021) tarafından ileri sürülen *S. pseudintermedius*'un kedilere kıyasla köpeklere daha uyumlu olduğu, kedilerin doğal mikrobiyotası olarak değerlendirilmemesi gerektiği ve kedilerden izole edilmesinin enfeksiyon ile ilişkili olabileceği görüşünü desteklemektedir. Diğer taraftan kedilerde bulunan başlıca kommensal stafilokok türünün *S. felis* olduğu bilinmekte (Bierowiec ve ark., 2019; Gandolfi-Decristophoris ve ark., 2013; Ma ve ark., 2020) ve bazı araştırmacılar tarafından *S. pseudintermedius*'un kedilerde düşük oranda izole edilmesinin *S. felis* tarafından antagonize edilmesinden kaynaklanabileceği öne sürülmektedir (O'Neill ve ark., 2021b). Bu çalışmada sağlıklı kedilerin kulak kanalından izole edilen tek stafilokok türü *S. felis* iken, sağlıklı köpeklerin kulak kanalından izole edilmedi. Bununla birlikte hasta kedilerin 22'sinden (%44), hasta köpeklerin ise 2'sinden (%4) *S. felis* izole edildi. Bu veriler *S. felis*'in az sayıda köpekten izole edildiğini bildiren raporları desteklemektedir (Kurnaz ve ark., 2020; Ma ve ark., 2020).

Farklı *Staphylococcus* türleri farklı konak türlerine ve çevresel nişlere sahip olmasına rağmen, kommensal stafilokokların farklı türler arasında bulaştığı sıklıkla rapor edilmektedir (Guimarães ve ark., 2023; Hanselman ve ark., 2009). Türler arasındaki temasın derecesi ve ortak kaynak enfeksiyonları gibi çevresel faktörlerin kommensal stafilokokların türler arasında bulaşmasında etkili faktörler olduğu ileri

sürülmektedir (Bierowiec ve ark., 2019; 2021; Guimarães ve ark., 2023; Hanselman ve ark., 2009; Ma ve ark., 2020;). *S. aureus*, insanlarda önemli bir kommensal stafilokok türüdür. Buna karşın, *S. aureus* köpeklerde nispeten nadiren kolonize olmaktadır (Hanselman ve ark., 2009; Ma ve ark., 2020). Bu çalışmada da *S. aureus* sadece 2 hasta kedi ve 1 hasta köpekten izole edildi. Hanselman ve ark. (2009) tarafından yürütülen bir çalışmada *S. aureus*'un tipik olarak köpek veya kedi kommensali olarak kabul edilmediği ve aynı anda hem köpek/kedilerin hem de bir insanın kolonize olduğu evlerin %50'sinde insanlarda ve hayvanlarda ayırt edilemeyen suşların bulunduğu rapor edilmiş ve bu durumun türler arası bulaşmadan kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Aynı çalışmada insan ve evcil hayvanlar arasındaki yakın temasın ve aynı ortamda bulunmanın türler arasında bulaşmada etkili olduğu rapor edilmiştir. Bununla birlikte insanlarla çok az teması olan veya hiç teması olmayan başıboş ve sokakta yaşayan köpek ve kedilerin *S. aureus* taşıma olasılığının ev hayvanlarına göre daha düşük olduğu bildirilmiştir (Bierowiec ve ark., 2016; Boost ve ark., 2008). Bu nedenle bu çalışmada hasta pet hayvanlarından *S. aureus*'un izole edilmesinde insanlardan evcil hayvanlarına doğrudan veya ortak bir ev ortamıyla temas yoluyla bulaşmasının bir sonucu olduğu düşünüldü. Bununla birlikte bu çalışmada da önceki raporlar (Bierowiec ve ark., 2019; Hanselman ve ark., 2009; Ma ve ark., 2020) ile benzer şekilde hasta hayvanlardan *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis* ve *S. lugdunensis* dahil olmak üzere insan kommensali *Staphylococcus* türleri izole edildi ve genel prevalansı oldukça düşüktü. *S. schleiferi* ise tipik olarak köpeklerden rapor edilmektedir (Hanselman ve ark., 2009). Bu çalışmada da hasta bir köpekten izole edildi.

Bu çalışmada daha önceki raporlar (Bierowiec ve ark., 2019; Elmoslemany ve ark., 2021) ile uyumlu olarak kedi ve köpeklerden *Staphylococcus* spp. izolasyon oranında ırk, yaş ve cinsiyete göre anlamlı bir fark saptanmadı.

Dünya çapında veteriner hekimler tarafından otitis tedavi protokolleri genellikle klinik tabloya ve bazen de eksudattan hazırlanan preparatların Gram boyama yöntemi ile incelenmesine dayanmaktadır. Bu da ampirik antibiyotik ve topikal antienflamatuar ilaç uygulamasına yol açmaktadır (Hariharan ve ark., 2006). Köpeklerde otitis olgularından yaygın olarak izole edilen stafilokok türleri çoğunlukla

herhangi bir duyarlılık testi yapılmadan çeşitli antimikrobiyallerle tedavi edilmeye çalışılmaktadır (Coelho ve ark., 2007). Kedilerde ise otitis alerjiler, tedavinin daha az etkili olması ve yaygın olarak sistemik ilaç tedavisine ihtiyaç duyulması nedeniyle genellikle köpeklerden daha zorlu bir süreçle sonuçlanmaktadır (Kennis, 2012). İnsanlar ile kedi ve köpekler benzer antimikrobiyallerle tedavi edilmektedirler (Coelho ve ark., 2007). Bu durum dünya çapında görülen β -laktam antibiyotiklere dirençle sonuçlanan *mec* genlerini taşıyan suşların yayılmasına yol açmakta ve antimikrobiyal ajanlarla tedaviyi zorlaştırmaktadır (Coelho ve ark., 2007; Worthing ve ark., 2018).

Yapılan çalışmalarda otitis eksternalı köpeklerden izole edilen mikroorganizmaların antibiyotiklere duyarlılıkları farklılıklar göstermektedir. Cristina ve Degi (2013) tarafından köpeklerde otitis vakalarından izole edilen *S. intermedius* suşlarının antibiyotik direncinin araştırıldığı bir çalışmada *S. intermedius*'un polimiksin B'ye tamamen (%100) dirençli, eritromisin (%66,66), kanamisin (%50), tetrasiklin ve linkomisin (%45,83), gentamisin ve amoksisilin/klavulanik aside (%37,5) karşı yüksek düzeyde dirençli olduğu ve *S. intermedius*'un sefoklara %100 duyarlı olduğu rapor edilmiştir. Scherer ve ark. (2018) tarafından otitis eksternalı 52 köpekten 44'ünde *S. pseudintermedius* izole edilmiş ve bu izolatların %75'inin sefaleksine ve %93,2'sinin amoksisilin/klavulanik aside duyarlı ve %63,6'sının sülfametoksazol-trimetoprim, %61,4'ünün tetrasiklin, %38,6'sının enrofloksasin, %27'sinin gentamisin ve oksasiline ise dirençli olduğu ve bununla birlikte çoklu antibiyotik direnci saptandığı rapor edilmiştir. Keskin ve ark. (1999) otitis eksternalı köpeklerden izole ettikleri *S. aureus* izolatlarından 16'sının gentamisine, 17'sinin tetrasikline, 13'ünün spiramisine, 13'ünün ampisiline, 28'inin sefalosporine, 10'unun linkomisine, 35'inin enrofloksasiline duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Borum ve ark. (2014) Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesine getirilen otitis eksternalı köpeklerden izole ettikleri *S. aureus* ve KNS'lerin antibiyotiklere yüksek düzeyde duyarlı olduklarını rapor etmişlerdir. Öztürk ve ark. (2016) otitis eksternalı köpeklerden izole ettikleri *S. aureus* ve KNS türlerinin tümünün amoksisilin klavulonik aside duyarlı olduğunu, ancak amoksisilin, enrofloksasin, oksitetrasiklin, gentamisin, eritromisin ve trimetoprim-sulfametoksazole ise değişen oranlarda dirençli olduklarını bildirmişlerdir. Diren Sığırcı ve ark. (2018) otitis eksternalı

köpeklerden izole ettikleri *S. intermedius* suşlarının sırasıyla %39,8; %25,7; %18,1; %30,9; %22,2; %62,5; %73,9; %30; %24,7; %75 ve %71,8 oranlarında gentamisin, amikasin, siprofloksasin, enrofloksasin, amoksasilin-klavulonik asit, ampisilin, penisilin, ampisilin-sulbaktam, sefoperazon, eritromisin ve tetrasikline dirençli olduğunu rapor etmişlerdir.

Bu çalışmada da köpeklerden izole edilen stafilocoklarda yüksek oranda antibiyotik direnci saptandı. Hasta ve sağlıklı grupların antibiyotik direnç patternleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. Köpeklerde saptanan bu yüksek düzeyde antibiyotik direnç profilinden sorumlu en önemli stafilocok türü *S. pseudintermedius* idi. Kedilerde ise köpeklere göre daha düşük oranlarda direnç saptandı. Bunun nedeni ise kedilerden baskın olarak izole edilen *S. felis* suşlarının *S. pseudintermedius* suşlarına göre antibiyotiklere daha duyarlı olmasından kaynaklanmaktadır. Elde edilen bu veriler önceki raporlar ile uyumludur (Jantorn ve ark., 2021; Lilenbaum ve ark., 1999; Nisa ve ark., 2019; Worthing ve ark., 2018). Bu çalışmada kedi ve köpeklerde amikasin direnç saptanmazken, her iki grupta da penisilin, ampisilin, eritromisin ve tetrasiklin direnci yüksek düzeydeydi. Bunun nedeni bu hayvanların tedavisinde en sık kullanılan antimikrobiyal ajanlar olması (Schwarz ve Chaslus-Dancla, 2001), metisilin direncinin β -laktam grubu antibiyotiklerin yanı sıra linkozamid, aminoglikozitler, kinolonlar, makrolidler, fenikoller, sülfonamidler ve tetrasiklinler dahil olmak üzere β -laktam olmayan antibiyotiklere de dirence yol açması (Hawkey, 2008; Papich, 2012) ve *S. pseudintermedius* ve *S. aureus* gibi stafilocok türlerinin direnç genlerini kazanması ve bulundurması ile birlikte horizontal gen transferi eğiliminden (Bierowiec ve ark., 2021) kaynaklanabileceği düşünüldü. Amikasin ise insanlarda kullanılmasına rağmen, kedi ve köpeklerde sıklıkla kullanılan bir antibiyotik değildir (Schwarz ve Chaslus-Dancla, 2001). Benzer şekilde Gómez-Beltrán ve ark. (2020) da *S. aureus* ve *S. pseudintermedius* suşlarının amikasin %100 duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Antimikrobiyal direnç açısından metisiline dirençli stafilocoklar, hayvanlarda ve insanlarda yaygın olarak kullanılan tüm β -laktam antibiyotiklere dirençli oldukları ve halk sağlığı üzerinde büyük bir etkiye sahip oldukları için özel bir öneme sahiptir (Loeffler ve ark., 2007; Ross Fitzgerald, 2009). Birçok ülkede pet hayvanlarında,

özellikle köpeklerde, MRSA ile ilişkili otitis enfeksiyonlarının yanısıra, yara enfeksiyonları, cerrahi operasyon enfeksiyonları, piyoderma, piyojenik endokardit, suppuratif pnömoni, osteomyelit, septik artritis ve idrar yolu enfeksiyonları da rapor edilmiştir (Algammal ve ark., 2020; Fındık ve ark., 2018; Weese ve van Duijkeren, 2010).

Martins ve ark. (2022) otitisli 138 köpek ve 4 kedi üzerinde yaptıkları çalışmada izolatların neredeyse %50'sinde çoklu ilaç direnci gözlemlediklerini, veteriner hekimlikte yakın gelecekte birinci basamak antimikrobiyallere yanıt vermeyen zorlu vakalar ile karşılaşılabilirliğini ve evcil hayvanların sahipleri ile yakınlığı göz önüne bulundurulduğunda çoklu ilaca dirençli bakterilerin potansiyel bir halk sağlığı sorunu haline geldiğini vurgulamışlardır. Öztürk ve ark. (2010), 52 otitis eksternalı köpekten alınan 89 kulak sıvabından izole ettikleri 21 *S. aureus* suşundan 2'sinde fenotipik olarak metisilin direnci saptadıklarını, ancak *mecA* geninin tespit edilmediğini, 17 *S.intermedius* suşunda ise fenotipik ve genotipik olarak metisilin direncinin saptanmadığını rapor etmişlerdir. İlhan ve ark. (2022) otitis eksternalı köpeklerden izole ettikleri *S. aureus* izolatlarının %42,8'inde, *S.schleiferi* izolatlarının %33,3'ünde, KNS'ların %40'ında, *S.haemolyticus* izolatlarının ise %75'inde çoklu antibiyotik direnci saptadıklarını, bununla birlikte *S.haemolyticus* izolatlarının %100'ünde, *S.schleiferi* ve KNS izolatlarının %50'sinde, *S.aureus* izolatlarının %42,8'inde ve *S. epidermidis* izolatlarının ise %33,3'ünde metisilin direnci tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Son yıllarda metisilin ve non- β -laktam antibiyotiklere dirençli *S. pseudintermedius*'un insanlarda ve hayvanlarda ortaya çıkması ve yayılması da endişe yaratmaktadır (Algammal ve ark., 2020; Aslantaş ve ark., 2023; Bierowiec ve ark., 2019; Fındık ve ark., 2018; Guardabassi ve ark., 2013; Jantorn ve ark., 2021; Johnstone 2020; Nisa ve ark., 2019; Sababoglu Baytaroglu ve Cınar, 2022). Hasta hayvanlardan izole edilen *S. pseudintermedius* izolatları fenotipik ve genetik olarak β -laktamlara karşı daha dirençli olup tedavide antibiyotiklerin başarılı bir şekilde uygulanmasını sınırlandırmaktadır (Bierowiec ve ark., 2021; Carroll ve ark., 2021; Nisa ve ark., 2019). β -laktam direnci genellikle çoklu ilaç direnci ile ilişkilendirilmekte ve bu nedenle, evcil hayvanlar ile insanlar arasındaki yakın ilişki göz önüne alındığında, *S.*

pseudintermedius'un "Tek Sağlık" kapsamında değerlendirilmesi gereken önemli bir bakteri olduğu öne sürülmektedir (Carroll ve ark., 2021).

Glajzner ve ark. (2023) tarafından *S. pseudintermedius* suşlarında β -laktam grubu antibiyotiklere karşı direncin %79'a kadar ulaştığı rapor edilmiştir. Bu direncin, modifiye penisilin bağlayıcı proteinlerden (*mecA* geni), β -laktamaz üretiminden (*blaZ* geni) veya tolerans fenomeninden kaynaklanıyor olabileceği ileri sürülmüştür. *S. aureus* ve *S. pseudintermedius* izolatlarının veteriner hekimlikte kullanımına izin verilen birçok antimikrobiyole direnç gösterdiğine dair raporlar bulunmaktadır (Fındık ve ark., 2018; Nisa ve ark., 2019; Perreten ve ark., 2010; Weese ve van Duijkeren, 2010).

Fındık ve ark. (2018) 33 sağlıklı köpek (burun mukozası, dorsum nasi ve perineden) ve sahiplerinden (burun mukozası) toplam 132 svap örneği aldıkları bir çalışmada 8 (%17) MRSP, 3 (%13,04) MDR *S. pseudintermedius* izole ettiklerini, 2 MRSP izolatında *mecA* genini tespit ettiklerini, ancak *fem* genini saptamadıklarını, köpeklerde ve insanlarda bulunan MRSP prevalansı aynı olup %3,03 olduğunu rapor etmişlerdir. Jantorn ve ark. (2021) tarafından köpeklerde MRSP prevalansının %28.30 (53/15) olduğu, MRSP izolatlarının %93.33'ünde (15/14) *mecA* genini tespit ettiklerini rapor etmişlerdir. Bu çalışmada da benzer şekilde MRSP izolatlarının %75'inde (3/4) *mecA* geni tespit edildi.

Köpeklerde otitis eksterna vakalarının %10-48,1'inde MRSP suşlarının izole edildiği bildirilmiştir (Chan ve ark., 2018; Ruscher ve ark., 2009; Sim ve ark., 2019; Zur ve ark.,2016). Metisilin dirençli suşların kloramfenikol, klindamisin, tetrasiklin, klaritromisin, seftriakson, siprofloksasin ve trimetoprim dahil diğer antibiyotiklere karşı da direnç patterni gösterdiği rapor edilmiştir (Jantorn ve ark., 2021). Bir çalışmada tüm MRSP izolatlarının aynı zamanda çoklu ilaca dirençli olduğu da rapor edilmiştir (Zur ve ark.,2016). Türkiye'de ilk defa 2022 yılında bir kedide idrar yolu enfeksiyonundan Sababoglu Baytaroglu ve Cinar tarafından MDR-MRSP rapor edilmiştir. Aslantaş ve ark. (2023) tarafından ise Türkiye'de ilk defa otitisli bir kediden izole edilen MRSP suşunun tüm genom analizi yapılarak moleküler karakterizasyonu yapılmıştır.

Bu çalışmada da köpeklerden izole edilen 24 *S. pseudintermedius* suşunun 3'ü MDR, 1'i MRS ve 2'si hem MDR hem de MRS idi. Hasta köpeklerden izole edilen 15 *S. pseudintermedius* suşundan 2'si MDR, 1'i MRS, 2'si hem MDR hem de MRS iken, sağlıklı köpeklerden izole edilen 9 *S. pseudintermedius* suşundan 1'i MDR idi. Bierowiec ve ark. (2021) sağlıklı ve hasta kedilerde MRSP prevalansının sırasıyla %0,12 ve %2,98 olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada ise sağlıklı kedilerden *S. pseudintermedius* izole edilemedi, ancak hasta kedilerden izole edilen 3 *S. pseudintermedius* suşundan 1'inin hem MDR hem de MRS olduğu, 1 suşun ise sadece MDR olduğu belirlendi. Bununla birlikte önceki çalışmalar ile benzer şekilde bu çalışmada da kedi ve köpeklerden izole edilen MRS izolatlarında MSS izolatlarına göre yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı daha yüksek oranda direnç saptandı. MRS izolatlarında MSS izolatlarına göre daha yaygın bir şekilde MDR tespit edildi.

S. felis suşlarının genellikle antibiyotiklere duyarlı olduğu rapor edilmektedir (Litster ve ark., 2007, 2011; Worthing ve ark., 2018). Worthing ve ark. (2018) tarafından fenotipik antibiyotik duyarlılık testlerinde 37 *S. felis* izolatından 34'ünün (%92) test edilen tüm antimikrobiyallere karşı duyarlı olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada da 29 *S. felis* suşundan 22'si (%75,86) tüm antibiyotiklere duyarlı iken, üçer izolat penisilin, ampisilin, eritromisin ve klindamisine, birer izolat sefoksitin, sefovesin ve tetrasikline dirençliydi. Ancak bu çalışmada penisilin, ampisilin (odds oranı (OR): 63,0; $p<0,001$) ve sefoksitine (OR:15,0; $p=0,033$) dirençli izolatların sıklığı sağlıklı kedilerde hasta kedilere kıyasla önemli ölçüde daha yüksekti. Sağlıklı kedilerde β -laktam grubu antibiyotiklere direncin hasta kedilere göre daha yüksek bulunmasının kediler ve sahipleri arasındaki yakın temasın dirençli suşların gen aktarımından kaynaklanabileceğini ve sağlıklı hayvanların MRS ve MDR *Staphylococcus* spp. için rezervuar olabileceğini düşündürdü.

Veteriner hekimlikte KNS türlerinde metisiline karşı antibiyotik direnci ise nadiren rapor edilmektedir (Teixeira ve ark., 2019). Teixeira ve ark. (2019) sağlıklı ve piyoderma veya otitis bulguları olan hasta köpeklerden izole ettikleri KNS'lerin %10,2'sinde metisilin direnci tespit ettiklerini ve metisilin direnci yönünden sağlıklı ve hasta köpekler arasında istatistiksel olarak fark saptamadıklarını ($p>0,05$), refakatçi hayvanların metisilin dirençli KNS taşıyıcısı olduğunu rapor etmişlerdir. Bu nedenle

bu bakterilerin direnç profillerinin izlenmesi gerektiğini ve hayvanların insanlar için potansiyel risk olup olmadığı konusunda araştırmalar yapılması gerektiğini vurgulamışlardır (Teixeira ve ark., 2019). Bazı çalışmalarda *S. felis* izolatlarında da metisilin direnci ve MDR rapor edilmiştir (Lilenbaum ve ark., 1999; Muniz vd., 2013). Bu çalışmada da sağlıklı kedilerden izole edilen 1 *S. felis* suşunun hem MDR hem de MRS ve 1 *S. felis* suşunu ise yalnızca MRS olduğu, hasta bir kediden izole edilen *S. felis* suşunun sadece MDR olduğu tespit edildi.

Stafilokokların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde makrolid, linkozamid, streptogramin B (MLS_B) grubu antibiyotikler sıklıkla kullanılmaktadır. Yapısal olarak bu grup antibiyotiklere dirençli olan suşlar bu gruptaki antibiyotiklerin tümüne dirençli iken, indüklenebilir dirence sahip olan suşlar linkozamidlere ve streptogramin B'ye duyarlıdır. Stafilokokların tedavisinde klindamisin tercih edilen bir antibiyotiktir ve antibiyotik direncinin doğru belirlenebilmesi ve uygun tedavinin yapılabilmesi için indüklenebilir klindamisin direncinin tespit edilmesi gerekmektedir (Ulusoy Karaca ve ark., 2007). Bir araştırmada indüklebilir klindamisin direncinin MRSA (%19,6) ve metisilin dirençli KNS'lerde (%33,2) metisiline duyarlı *S. aureus* (%8,7) ve KNS'lere (%26,9) göre daha yüksek düzeyde tespit edildiği rapor edilmiştir (Ulusoy Karaca ve ark., 2007). Bu çalışmada ise sadece 3 izolatta indüklebilir klindamisin direnci tespit edildi. Bu izolatlardan 2'si MSS (1 *S. felis*, 1 *S. pettenkoferi*), 1'i MRSA idi.

Evcil hayvanlarda MDR ve MRS stafilokok kolonizasyonu için risk faktörlerinin belirlenmesi, insanlar ve hayvanlar arasındaki bulaşmayı kontrol etmek için gereklidir. MRSA taşıyan kedi ve köpekler ile sahipleri arasındaki yakın temas patojen ve direnç genlerinin transferini kolaylaştırabileceği için insan sağlığı açısından potansiyel bir risk teşkil etmektedir. Bu çalışmada kedi/köpek ya da aile üyeleri için antibiyotik tedavisi uygulanmış olması ve ailede akne olması daha yüksek MDR ve MRS riski ile ilişkili bulundu. “Evde çocuk” değişkeninin ise yalnızca MRS için anlamlı bir etki gösterdiği belirlendi. Benzer bir araştırmada (Elmoslemany ve ark., 2021) kedilerde kliniğe getirilme nedeni de MDR ve MRS ile ilişkili bulunmuş olmasına rağmen bu çalışmada anlamlı bulunmadı. Diğer taraftan “Ailenin yaşadığı yer”, “Kedi/köpeğin yaşadığı ortam”, “Başka kedi veya köpekler ile temas” risk

faktörlerinin ise MDR veya MRS için anlamlı bir etki göstermediği tespit edildi. Ancak Bierowiec ve ark. (2016) evde yaşayan kedilerde, kentsel alanlarda yaşayan yabani kedi popülasyonuna göre daha yüksek *S. aureus* prevalansı ve MRSA saptadıklarını ve insanlarla yakın temasın kedilerde antibiyotik direncinin bulunması riskini arttırdığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada hayvanların yaşadığı ortam ile MDR veya MRS arasında ilişki saptanmamasının Türkiye’de sokakta yaşayan hayvanların insanlardan tamamen izole olmaması, bu hayvanların da insanlar ile direkt temasının olması ve hayvanseverler tarafından sokak hayvanlarının da tedavilerinin yaptırılmasından kaynaklanabileceğini düşünüldü. Diğer taraftan insanlar ile yakın temas ve antibiyotik kullanımı hayvanlarda MDR ve MRS için risk oluşturmalarına rağmen, başka kedi ve köpekler ile temas ile ilişkili böyle bir risk saptanmaması hayvanlarda saptanan direncin insanlardan ve yoğun antibiyotik kullanımından kaynaklandığını düşündürdü. Diğer taraftan “Evde çocuk” değişkeninin ise yalnızca MRS için anlamlı olmasının yetişkinlerle karşılaştırıldığında, çocukların hayvanları yoğun bir şekilde tutma ve yüzlerine veya ağızlarına dokunma olasılığının daha yüksek olması ve bunun sonucunda bulaş riskinin de artması ile ilişkili olduğu düşünüldü.

Son yıllarda *Staphylococcus* spp. ve *Pseudomonas* spp. gibi bazı patojenlerin biyofilm tabakası oluşturarak uygun bir tedaviye rağmen, enfeksiyonu kalıcı hale getirdiği ve biyofilm tabakasının bu patojenlerin antimikrobiyal ajanlara direncinde önemli rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (Bajwa, 2019; Chan ve ark., 2019; Paterson, 2016). Bu nedenle biyofilm oluşturma yeteneği, antibiyotik direncine ve nozokomiyal enfeksiyonların yayılmasına yol açan önemli bir virülans faktörü olarak kabul edilmektedir (Osland ve ark., 2012). Bakteriyel biyofilmlerin, aynı bakteri türünün planktonik durumuna kıyasla antibiyotiklere on ila bin kat daha dirençli olduğu bildirilmiştir (Mah ve O'Toole, 2001; Olson ve ark., 2002).

S. pseudintermedius'un biyofilm üretme yeteneği daha önce rapor edilmiştir. Güney Kore’de yapılan bir çalışmada sağlıklı köpeklerden izole edilen tüm *S. pseudintermedius* izolatlarının ya güçlü ya da orta düzeyde biyofilm ürettiğini bildirilmiştir (Han ve ark., 2015). Jontorn ve ark. (2021) ise köpeklerden izole edilen tüm *S. pseudintermedius* suşlarının biyofilm ürettiğini, bunların da %90'ından fazlasının ya güçlü ya da orta düzeyde biyofilm üreticisi olduğunu ve dirençli suşların

çoğunun (%45-60) güçlü biyofilm ürettiğini, ancak biyofilm üretimi ile antibiyotik direnci arasında anlamlı ilişki saptamadıklarını rapor etmişlerdir. Başka bir çalışmada, güçlü, orta düzey, zayıf ve biyofilm üretmeyen *S. pseudintermedius*'un sırasıyla %61, %34, %3 ve %2 oranında tespit edildiği olduğu bildirilmiştir (Singh ve ark., 2013). Güçlü biyofilm üretme yeteneği sağlıklı ve hasta kedilerde sırasıyla %40,9 ve %53,8 oranında olarak bildirilmiştir (Bierowiec ve ark., 2021). *S. felis*'te ise biyofilm geninin saptandığı rapor edilmiştir (Worthing ve ark., 2018). Bu çalışmada da literatür ile uyumlu olarak *S. pseudintermedius* suşlarında güçlü biyofilm üretimi saptandı ve antibiyotik direnci ile biyofilm üretme yeteneği arasında anlamlı ilişki tespit edilmedi. *S. felis* suşlarının (n: 29) ise 1'inin güçlü, 10'unun orta, 16'sının zayıf biyofilm ürettiği, 2'sinin ise biyofilm üretmediği belirlendi. İstatistiksel analizlerde hem *S. pseudintermedius* suşlarında hem de diğer suşlarda, *S. felis* suşlarına kıyasla güçlü biyofilm üretimi tespit edildi. Antibiyotik direnci ile biyofilm üretme yeteneği karşılaştırıldığında metisilin direnci ve MDR ile biyofilm üretimi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Ancak penisilin, ampisilin ve tetrasikline direnç ile biyofilm üretme gücü arasında anlamlı bir ilişki saptandı. Bu çalışmada izole edilen stafilokoklarda en yüksek düzey de direnç de bu antibiyotiklere karşı belirlendi. Senobar Tahaei ve ark. (2021) ise *S. aureus* izolatlarında eritromisin, klindamisin ve rifampin direnci ile biyofilm pozitifliği arasında pozitif korelasyon tespit etmişlerdir. Biyofilm üretimi ile antibiyotik direnci arasındaki ilişkinin anlaşılabilmesi için moleküler olarak direnç mekanizmalarının daha detaylı bir şekilde araştırılması gerektiği sonucuna varıldı.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre;

1. Kedilerde ırk ve cinsiyetin otitis eksterna için predispozisyon oluşturmadağı, büyük ve orta boy ırk köpeklerde otitis eksternanın daha fazla görüldüğü ve erkek köpeklerin dişilere göre daha duyarlı olduğı,
2. Otitis eksternalı kedi (%62) ve köpeklerin (%42) kulak kanalından stafilokokların izolasyon oranının, sağlıklı kedi (%10) ve köpeklerin (%20) kulak kanalından izolasyon oranından yüksek olduğı ve enfeksiyona bağılı olarak stafilokokların sayısal olarak arttığı,
3. Köpeklerin kulak kanalından en fazla izole edilen stafilokok türünün *S. pseudintermedius*, kedilerin ise *S. felis* olduğı ve otitis olgularına da baskın olarak bu bakterilerin neden olduğı,
4. Kommensal stafilokok türlerinin farklı türlerden izolasyonunun bir enfeksiyonun göstergesi olabileceğı,
5. Hasta ve sağlıklı hayvanlar arasında ırk, yaş ve cinsiyete göre *Staphylococcus* spp. izolasyon sayısında anlamlı bir ilişki olmadığı,
6. Kedi ve köpeklerin kulak kanalından izole edilen stafilokokların en yüksek oranda tetrasiklin, penisilin, ampisilin, eritromisin ve klindamisine dirençli olduğı,
7. Kedi ve köpeklerin kulak kanalından izole edilen stafilokoklarda amikasinine direnç saptanmadığı,
8. Kedi ve köpeklerin kulak kanalından izole edilen 3 *Staphylococcus* spp. suşunda indüklenebilir klindamisin direnci saptanması nedeniyle doğru

tedavinin yapılabilmesi için indüklenebilir klindamisin direncinin belirlenmesi gerektiği,

9. *S. pseudintermedius* suşlarında yüksek oranda antibiyotik direncinin saptanması ve bu direncin aynı tür içinde ve türler arasında aktarılabilmesi nedeniyle antibiyotik direnç profilinin sürekli izlenmesi gerektiği,
10. *S. felis* suşlarının büyük oranda antibiyotiklere duyarlı olmasına rağmen, hem sağlıklı hem de hasta hayvanlarda MRS ve MDR suşların saptanması nedeniyle refakatçi hayvanların metisilin dirençli KNS taşıyıcısı olduğu, bu bakterilerin direnç profillerinin izlenmesi gerektiği ve hayvanların insanlar için potansiyel risk olup olmadığı konusunda araştırmalar yapılması gerektiği,
11. MDR-MRS suşlarının artarak tüm dünyadan rapor edilmesi, bu çalışmada da yoğun antibiyotik kullanımı ve hayvanlar ile insanlar arasındaki temasın bu direnç ile ilişkili önemli risk faktörleri olarak belirlenmesi, etken, çevre ve bireyler arasında bu direncin aktarılabilmesine işaret etmektedir. Bu nedenle ampirik tedaviden ziyade antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarına dayanarak tedavi uygulanması, direnç profillerinin sürekli izlenmesi ve hayvanlarda ve insanlarda antibiyotik kullanımının kısıtlanması gerektiği,
12. *S. pseudintermedius* suşlarında saptanan ciddi antibiyotik direnci ile birlikte güçlü biyofilm üretimi de tespit edildi. Ancak *S. pseudintermedius*'a göre antibiyotiklere genel olarak duyarlı olan *S. felis* suşlarında hasta hayvanlarda güçlü, orta ve zayıf biyofilm üretimi birbirine yakın oranlarda saptanırken, sağlıklı hayvanlarda yalnızca zayıf biyofilm üretimi saptandı. Bununla birlikte *Staphylococcus* spp. izolatlarının biyofilm üretme yeteneği ile MRS ve MDR arasında anlamlı ilişki bulunmamasına rağmen, biyofilm üretme gücü ile penisilin, ampisilin ve tetrasiklin direnci arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıydı. Bu nedenle antibiyotik direnci ile biyofilm üretimi arasındaki ilişkinin moleküler mekanizmalar ile ortaya konulmasına ihtiyaç olduğu söylenebilir.

Bildiğimiz kadarıyla bu tez, Türkiye’de sağlıklı ve otitisli kedi ve köpeklerden *Staphylococcus* türlerinin izole ve identifiye edilerek, tür çeşitliliğinin, antibiyotik duyarlılık profillerinin, metisilin direnci veya çoklu ilaç direnci varlığının, biyofilm üretme yeteneğinin ve antibiyotik direnci ile ilişkili risk faktörlerinin değerlendirildiği ilk araştırma niteliğindedir.



KAYNAKLAR

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(4)**, 252–259.

Akan M (2006). *Staphylococcus* infeksiyonları. In: *Aydın N, Paracıkoğlu J. (Eds), Veteriner Mikrobiyoloji*, Ankara: İlke-Emek Yayınları, s: 5-13.

Akay Ö. (1984). Otitis Externa'lı Köpeklerden. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **31(03)**, 453-462.

Alen S, Koneman E, Janda W, Schreckenberger P, Winn W, Woods G, Procop G (2006). *The Gram positive cocci: Part I: Staphylococci and related organisms*. In: Lippincott DP, Wilkins W. (Eds), 5nd Edition, Philadelphia: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, s: 539-76.

Algammal AM, Hetta HF, Elkelish A, Alkhalifah DHH, Hozzein WN, Batiha GES, El Nahhas N, Mabrok M A (2020). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): One health perspective approach to the bacterium epidemiology, virulence factors, antibiotic-resistance, and zoonotic impact. *Infect. Drug. Resist.*, **13**, 3255.

Angus JC, Lichtensteiger C, Campbell KI, Schaeffer DJ (2002). Breed variations in histopathologic features of chronic severe otitis externa in dogs: 80 cases (1995-2001). *JAVMA*, **221**, 1000-1006.

Anthony AA, Anthony OI (2013). *Staphylococcus* species and emerging traits in their commensal subgroup: a call to arms. *JPAM*, **7(4)**, 3281-3291.

Archer GL (1990). *Staphylococcus epidermidis and other coagulase negative staphylococci*. In: Mandel GL, Douglas RG, Bennett JE. (Eds.), *Principles and practice of infectious diseases*. Melbourne: Churchill Livingstone, p: 1511-1517.

Arda M (2006). *Temel Mikrobiyoloji*. 3. Baskı, Ankara: Medisan Yayınevi, s: 283-289.

Ascher F, Maynard L, Herve' D, Allaire D, Simon J, Bourjalliat JC (1988). Mise au point et e'tude expe'rim mentale d'une formulation destine'e au traitement des otites externes du chien et du chat. Partie I e'pidemiologie et microbiologie. *Prat. Me'd Chir Anim. Comp.*, **23**, 267-272.

Aslantaş Ö, Olgun E, Bayirli M, Büyükal tay K (2023). Molecular Characterization of Methicillin-and Multidrug-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius* Strain Isolated from a Case of Feline Otitis Externa. *Isr. J. Vet. Med.*, **78**, 1.

Aufox EE, May ER (2019). *Top 5 keys to successful management of otitis externa*. University of Tennessee, Knoxville, Tennessee, USA

August JR (1988). Otitis externa: a disease of multifactorial etiology. *Vet.Clin. N Am-Small Anim. Pract.*, **18**, 731-742.

Bailey K (2015). Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in New Zealand. Vol. 28 New Zealand Veterinary Association.

Baird-Parker AC (1990). The staphylococci: an introduction. *J. Appl. Bacteriol.*, **69**, 1-8.

Bajwa J (2019). Canine otitis externa—Treatment and complications. *Can. Vet. J.*, **60(1)**, 97.

Balachandran M, Bemis DA, Kania SA (2018). Expression and function of protein a in *Staphylococcus pseudintermedius*. *Virulence*, **9(1)**, 390–401.

Ballhausen B, Kriegeskorte A, van Alen S, Jung P, Köck R, Peters G, Bischoff M, Becker K (2017). The pathogenicity and host adaptation of livestock-associated MRSA CC398. *Vet. Microbiol.*, **200**, 39-45.

Bannerman TL (2003). *Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase positive cocci that grow aerobically*. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA,

Yorke RH. (Eds), Manual of Clinical Microbiology, 8th Edition, Washington, DC: ASM Press, p: 384-404.

Bannoehr J, Ben Zakour NL, Waller AS (2007). Population genetic structure of the *Staphylococcus intermedius* group: insights into *agr* diversification and the emergence of methicillin-resistant strains. *J. Bacteriol.*, **189**, 8685-8692.

Bannoehr J, Brown JK, Shaw DJ, Fitzgerald RJ, van den Broek AH, Thoday KL, (2012). *Staphylococcus pseudintermedius* surface proteins SpsD and SpsO mediate adherence to ex vivo canine corneocytes. *Vet. Dermatol.*, **23**, 119-124.

Bannoehr J, Guardabassi L (2012). *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. *Vet. Dermatol.*, **23**(4), 253-e52.

Baytaroglu EŞ, Şahin A (2023). Mastitise Neden Olan Koagülaz Negatif Stafilokokların Prevalansı. In: Çoğun HY (Ed), Veteriner Hekimliği Bilimlerinde Güncel Tartışmalar 2. Kızılay, Ankara, p: 4-36.

Becker K, Heilmann C, Peters G (2014). Coagulase-negative staphylococci. *Clin. Microbiol. Rev.*, **27**, 870-926.

Bell AG, Coombs GW, Cater B, Douglass C (2016). First report of a *mecA*-positive multidrug-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from a dog in New Zealand. *N Z Vet. J.*, **64**, 253-256.

Bergdoll MS (1983). *Enterotoxins, Staphylococci and staphylococcal infections.* Academic Press, Inc. New York, p: 559-598.

Bes ML, Slim S, Becharnia F, Meugnier H, Vandenesch F, Etienne J, Freney J (2002). Population diversity of *Staphylococcus intermedius* isolates from various host species: typing by 16S-23S intergenic ribosomal DNA spacer polymorphism analysis. *J. Clin. Microbiol.*, **40**, 2275-2277.

Bıçakcıoğlu T, Yörük Ş, Müştak HK (2021). Antibiotic resistance profiles of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from dogs with otitis externa. *Etlik Vet. Mikrobiyol. Derg.*, **32(2)**, 118-123.

Bierowiec K, Korzeniowska-Kowal A, Wzorek A, Rypula K, Gamian A (2019). Prevalence of *Staphylococcus* species colonization in healthy and sick cats. *Biomed Res. Int.*, **1**, 4360525.

Bierowiec K, Miszczak M, Korzeniowska-Kowal A, Wzorek A, Plókarz D, Gamian A (2021). Epidemiology of *Staphylococcus pseudintermedius* in cats in Poland. *Sci. Rep.*, **11(1)**, 18898.

Bierowiec K, Ploneczka-Janeczko K, Rypula K (2016). Is the colonisation of *Staphylococcus aureus* in pets associated with their close contact with owners? *PLoS One*, **11**, e0156052.

Bond R, Loeffler A (2012). What's happened to *Staphylococcus intermedius*? Taxonomic revision and emergence of multi-drug resistance. *J. Small Anim. Pract.*, **53**, 147–154.

Boost MV, O'Donoghue MM, James A (2008). Prevalence of *Staphylococcus aureus* carriage among dogs and their owners. *Epidemiol. Infect.*, **136**, 953–964.

Borjesson S, Gomez-Sanz E, Ekstrom K, Torres C, Gronlund U (2015). *Staphylococcus pseudintermedius* can be misdiagnosed as *Staphylococcus aureus* in humans with dog bite wounds. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, **34**, 839-844.

Borum AE, Çeçen G, Demir G, Çetin C, Şentürk S (2014). Köpeklerde otitis externa vakalarından izole edilen mikroorganizmalar ve antibakteriyel duyarlılıklarının belirlenmesi. *Kocatepe Vet. J.* **7(1)**, 27-31

Bradley CW, Lee FF, Rankin SC, Kalan LR, Horwinski J, Morris DO, Grice EA, Cain CL (2020). The otic microbiota and mycobiota in a referral population of dogs in eastern USA with otitis externa. *Vet. Dermatol.*, **31(3)**, 225-e49.

Brame B, Cain C (2021). Chronic otitis in cats: clinical management of primary, predisposing and perpetuating factors. *JFMS*, **23(5)**, 433-446.

Cain CL (2013). Antimicrobial resistance in staphylococci in small animals. *Vet. Clin. N Am-Small Anim. Pract.*, **43(1)**, 19-40.

Carlotti DN (1991). Diagnosis and medical treatment of otitis externa in dogs and cats. *J. Small Anim. Pract.*, **32**, 394-400.

Carlotti DN, TaillieuLeRoy S (1997). Otitis externa in the dog. Aetiology and clinical findings; literature review and retrospective study of 752 cases. *Pratique Medicale Et Chirurgicale De L Animal De Compagnie*, **32(3)**, 243-257.

Chan WY, Hickey EE, Khazandi M, Page SW, Trott DJ, Hill PB (2018). *In vitro* antimicrobial activity of narasin against common clinical isolates associated with canine otitis externa. *Vet. Dermatol.*, **29**, 149-e57.

Chan WY, Hickey EE, Page SW, Trott DJ, Hill PB (2019). Biofilm production by pathogens associated with canine otitis externa, and the antibiofilm activity of ionophores and antimicrobial adjuvants. *JVPT*, **42(6)**, 682-692.

Chesneau O, Morvan A, Aubert S, El Solh N. (2000). The value of rRNA gene restriction site polymorphism analysis for delineating taxa in the genus *Staphylococcus*. *IJSEM*, **50**, 689-697.

Cheung GY, Otto M (2023). Virulence mechanisms of *Staphylococcal* animal pathogens. *Int. J. Mol. Sci.*, **24(19)**, 14587.

Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ, Baddour LM, Barret FF, Melton DM, Beaches EH (1985). Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J. Clin. Microbiol.*, **22**, 996-1006.

Chrobak-Chmiel D, Golke A, Dembele K, Cwiek K, Kizerwetter-Swida M, Rzewuska M, Binek M (2008). *Staphylococcus pseudintermedius*, both commensal and pathogen. *Med. Weter.*, **74**, 362-370.

CLSI (2013). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals; (VET01-S2) (2nd ed.), CLSI, Wayne.

CLSI (2015). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition. CLSI document M07-A10. CLSI Wayne.

CLSI (2015). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 25th Informational Supplement, CLSI Document M100-S25. CLSI, Wayne.

CLSI (2017). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. CLSI supplement M100., CLSI Wayne.

CLSI (2018). CLSI Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals (VET08) (4th ed.), CLSI, Wayne.

CLSI (2024). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 34th Edition, M100-ED34.

CLSI (2024). Performance Standards for Antimicrobial Disk And Dilution Susceptibility Tests For Bacteria Isolated From Animals; (VET01S-ED7) (7th ed.), CLSI Wayne.

Cole LK (2004) Ooscopic evaluation of the ear canal. *Vet. Clin. North Am. - Small Anim. Pract.*, **34(2)**, 397-410.

Cole LK, Kwochka KW, Kowalski JJ, Hillier A (1998). Microbial flora and antimicrobial susceptibility patterns of isolated pathogens from the horizontal ear canal and middle ear in dogs with otitis media. *JAVMA*, **212**, 534-538

Cristina RT, Dégi J (2009). *Otitele la caine si pisica (in Romanian)*. Chapter 2, Ed. Brumar, Timisoara, Romania. p: 219-228.

Damborg P, Broens EM, Chomel BB, Guenther S, Pasmans F, Wagenaar JA, Weese JS, Wieler LH, Windahl U, Vanrompay D (2016). Bacterial zoonoses transmitted by household pets: State-of-the-art and future perspectives for targeted research and policy actions. *J. Comp. Pathol.*, **155**, 27–40.

De Bel A, Van Hoorde K, Wybo I, Vandoorslaer K, Echahidi F, DenBrandt E, Schumann P, Ieven M, Soetens O, Piérard D, Vandamme P (2013). *Staphylococcus jettensis* sp. nov., a coagulase-negative staphylococcal species isolated from human clinical specimens. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **63**, 3250–3256.

Decristophoris P, Fasola A, Benagli C, Tonolla M, Petrini O (2011). Identification of *Staphylococcus intermedius* Group by MALDITOF MS. *Syst. Appl. Microbiol.*, **34**, 45–51.

Devriese LA (1977). Isolation and identification of *Staphylococcus hyicus*. *Am. J. Vet. Res.*, **38**, 787–779.

Devriese LA, van de Kerckhove A (1979). A comparison of methods and the validity of deoxyribonuclease tests for the characterization of staphylococci isolated from animals. *J. Appl. Bacteriol.*, **46**, 385–393.

Devriese LA, Vancanneyt M, Baele M (2005). *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase-positive species from animals. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **55**, 1569–1573.

Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM (2000). Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Rev.*, **13**, 16–34.

Diren Sığircı B, Kahraman BB, Çelik B, Metiner K, Serkan İ, Bağcıl AF, Seyyal AK (2018). Bacterial and fungal species isolated from dogs with otitis externa. *Kocatepe Vet. J.*, **11(3)**, 260–265.

Elmoslemany A, Elsohaby I, Alorabi M, Alkafafy M, Al-Marri T, Aldoweriej A, Fayez M (2021). Diversity and risk factors associated with multidrug and methicillin-resistant staphylococci isolated from cats admitted to a veterinary clinic in eastern province, Saudi Arabia. *Antibiotics*, **10(4)**, 367.

Euzeby J (2010). Validation list no. 132. List of new names and new combinations previously effectively, but not validly, published. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **60**, 469-472.

Evans JB (1957). Genus *Staphylococcus*. In *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 7th edn, ed. Breed, R.S., Murray, E.G.D. & Smith, N.R. pp. 464- 466. Baltimore: Williams & Wilkins

Ewers C, Bethe A, Semmler T, Guenther S, Wieler L (2012). Extended-spectrum - lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health: A global perspective. *Clin. Microbiol. Infect.*, **18**, 646–655.

Facco, Kantar Tns (2016). Nouvelle enquête FACCO/KANTAR TNS: Début de stabilisation pour la population canine. France, p. 2. www.prodaf.org/fr/nosoutils/documents/item/download/7_486c0e220c93b21175648e1fe35210a7.

Fairbrother RW (1940). Coagulase production as a criterion for the classification of the staphylococci. *J. Pathol. Bacteriol.*, **50**, 83–88.

Fernandez G, Barboza G, Villalobos A, Para O, Finol G, Ramirez RA (2006). Isolation and identification of microorganisms present in 53 dogs suffering otitis externa. *Rev. Cient-Fac. Cien V.*, **16**, 23-30.

Findik A, Ciftci A, Önyay T, Sezener MG, Koçak Y, Gülhan T (2018). Determination of methicillin resistance and some genotypic characteristics of staphylococci isolated from dogs and their owners. *Turkish J. of Vet. & A. Sci.*, **42(6)**, 549-555.

Freney J, Brun Y, Bes M, Meugnier H, Grimont F, Grimont PA, Nervi C, Fleurette J (1988). *Staphylococcus lugdunensis* sp. nov. and *Staphylococcus schleiferi* sp. nov., two species from human clinical specimens. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **38**, 168-172.

Gandolfi-Decristophoris P, Regula G, Petrini O, Zinsstag J, Schelling E (2013). Prevalence and risk factors for carriage of multi-drug resistant staphylococci in healthy cats and dogs. *J. Vet. Sci.*, **14**, 449–456.

Ghebremedhin B, Layer F, König W, König B (2008). Genetic classification and distinguishing of *Staphylococcus* species based on different partial *gap*, 16S rRNA, *hsp60*, *rpoB*, *sodA*, and *tuf* gene sequences. *J. Clin. Microbiol.*, **46**, 1019–1025.

Gherardi G, Di Bonaventura G, Savini V (2018). Staphylococcal taxonomy. In: *Pet-To-Man Travelling Staphylococci*. Academic Press. p: 1-10.

Glajzner P, Szewczyk EM, Szemraj M (2023). Pathogenic potential and antimicrobial resistance of *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from human and animals. *Folia microbiol.*, **68**(2), 231-243.

Gómez-Beltrán DA, Villar D, López-Osorio S, Ferguson D, Monsalve LK, Chaparro-Gutiérrez JJ (2020). Prevalence of antimicrobial resistance in bacterial isolates from dogs and cats in a veterinary diagnostic laboratory in Colombia from 2016–2019. *Vet. Sci.*, **7**(4), 173.

Gonzalez-Martin M, Corbera JA, Suarez-Bonnet A, Tejedor-Junco MT (2020). Virulence factors in coagulase-positive staphylococci of veterinary interest other than *Staphylococcus aureus*. *Vet. Q.*, **40**, 118-131.

Goodacre R, Harvey R, Howell SA, Greenham LW, Noble WC (1997). An epidemiological study of *Staphylococcus intermedius* strains isolated from dogs, their owners and veterinary surgeons. *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, **44**, 49-64.

Götz F, Bannerman T, Schleifer KH (2006). *The genera Staphylococcus and Micrococcus*. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E (eds), *The Prokaryotes*. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/0-387-30744-3_1.

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.

Grobbe M, Lubke-Becker A, Alesik E, Schwarz S, Wallmann J, Werckenthin C, Wieler LH (2007). Antimicrobial susceptibility of *Klebsiella* spp. and *Proteus* spp. from various organ systems of horses, dogs and cats as determined in the BfT-GermVet monitoring program 2004-2006. *Berl. Munch. Tierarztl Wochenschr*, **120**, 402-411.

Grundmann H, Aires-de-Sousa M, Boyce J (2006). Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *Lancet*, **368**, 874-885.

Guardabassi L, Loeber ME, Jacobson A (2004). Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. *Vet. Microbiol.*, **98**, 23–27.

Guimarães L, Teixeira IM, da Silva IT, Antunes M, Pesset C, Fonseca C, Penna B (2023). Epidemiologic case investigation on the zoonotic transmission of Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* among dogs and their owners. *J. Infect. Public Heal.*, **16**, 183-189.

Hajek V (1976). *Staphylococcus intermedius*, a new species isolated from animals. *Int J. Syst. Evol. Microbiol.*, **26(4)**, 401–408.

Han JI, Yang CH, Park HM (2015). Emergence of biofilm-producing *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from healthy dogs in South Korea. *Vet. Q.*, **35**, 207–210.

Hanselman BA, Kruth SA, Rousseau J, Weese JS (2009). Coagulase positive staphylococcal colonization of humans and their household pets. *Can. Vet. J.*, **50**, 954–958.

Hariharan H, Coles M, Poole D, Lund L, Page R (2006). Update on antimicrobial susceptibilities of bacterial isolates from canine and feline otitis externa. *Can. Vet. J.*, **47**, 253-255.

Harrison EM, Weinert LA, Holden MT, Welch JJ, Wilson K, Morgan FJ, Harris SR, Loeffler A, Boag AK, Peacock SJA, (2014). Shared population of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* 15 circulates in humans and companion animals. *MBio*, **5(3)**, 10-1128.

Harvey R, Marples R, Noble W (1994). Nasal carriage of *Staphylococcus intermedius* in humans in contact with dogs. *Microb .Ecol. Health Dis.*, **7**, 225-227

Hassan M, Kekeç AI, Halaç B, Kahraman BB (2023). Otitis Externa in Dogs: Distribution and Antimicrobial Susceptibility Patterns of *Staphylococcus* spp. Isolates. *Macedonian Vet. Review*, **46(1)**, 43-50.

Hawkey PM (2008). The growing burden of antimicrobial resistance. *J. Antimicrob. Chemother*, **62**, 9.

Hermans K, Devriese LA, Haesebrouck F (2010). *Staphylococcus*. In: Gyles CL, Prescott JF, Songer JG, Thoen CO (Eds), Pathogenesis of bacterial infections in animals, Wiley-Blackwell, Iowa, USA, p:75-89.

Higgins R, Gottschalk M (1991). Quebec. Isolation of *Staphylococcus felis* from cases of external otitis in cats. *Can. Vet. J.*, **32**, 312-313.

Hoekstra KA, Paulton RJL (2002). Clinical prevalence and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and *Staph. intermedius* in dogs. *J. of Appl. Microbiol.*, **93**, 406-413.

Huang HP, Little CJ, McNeil PE (2009). Histological changes in the external ear canal of dogs with otitis externa. *Vet. Dermatol.*, **20(5-6)**, 422-428.

Huebner J, Goldmann DA (1999). Coagulase-negative staphylococci: Role as pathogens. *Annu. Rev. Med.*, **50**, 223–236.

İlhan Z, Muharrem E, Akyol ET, Gülaydın Ö, Ekin İH (2022). Otitis eksternalı köpeklerden izole edilen stafilokokların *in vitro* antibiyotik duyarlılıkları. *Kocatepe Vet. J.*, **15(4)**, 395-400.

Jacobson LS (2002). Diagnosis and medical treatment of otitis externa in the dog and cat. *S. Afr. Vet. Ver.*, **73**, 162–170.

Jantorn P, Heemmamad H, Soimala T, Indoung S, Saising J, Chokpaisarn J, Wanna W, Tipmanee V, Saeloh D (2021). Antibiotic resistance profile and biofilm production of *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs in Thailand. *Pharmaceuticals*, **14(6)**, 592.

Jones RD, Kania SA, Rohrbach BW, Frank LA, Bernis DA (2007). Prevalence of oxacillin-and multidrug-resistant staphylococci in clinical samples from dogs: 1.772 samples (2001–2005) *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **230**, 221–227.

Kahraman HA, Tutun H, Kaya MM, Tutun S, Usluer MS, Rugji J, Yurdakul O (2021). Total phenolic content, antiradical, antimicrobial and antibiofilm properties of grape and apple vinegar. *JAVST*, **6(2)**, 150-158.

Kang JH, Chung TH, Hwang CY (2017). Clonal distribution of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from skin infection of dogs in Korea. *Vet. Microbiol.* **210**, 32-37.

Kania SA (2004). Methicillin resistance of staphylococci isolated from the skin of dogs with pyoderma. *Am. J. Vet. Res.*, **65(9)**, 1265-1268.

Karaca AU, Balaban N, Mumcuoğlu İ, Yetener V, Karabulut H (2007). Klinik örneklerden izole edilen stafilokoklarda indüklenebilir klindamisin direncinin belirlenmesi. *Flora*, **12(4)**, 190-195.

Kasai T, Fukui Y, Aoki K, Ishii Y, Tateda K (2021). Changes in the ear canal microbiota of dogs with otitis externa. *J. of Appl. Microbiol.*, **130(4)**, 1084–1091.

Kennis RA (2012). *Feline otitis: diagnosis and treatment*. In: Morris DO, Kennis RA (Eds), Clinical dermatology, an issue of veterinary clinics: small animal practice, Elsevier, Philadelphia, USA, **43(1)**, p: 51-56.

Kernodle DS, Classen DC, Burke JP, Kiser AB (1990). Failure of cephalosporins to prevent *Staphylococcus aureus* surgical wound infections. *JAMA*, **263**, 961-996.

Keskin O (1999). Otitis eksternalı köpeklerden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *Ank. Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **(46)**, 2-3.

Keskin O, Tel OY, Kaya NA (2010). Aerobic bacteria and fungi isolated from external ear canal of healthy dogs and the antibiotic susceptibility of staphylococci. *J. Anim. Vet. Adv.*, **9(3)**, 496-500.

Kiss G, Radvanyi SZ, Szigeti G (1997). New combination for the therapy of canine otitis externa I Microbiology of otitis externa. *JSAP*, **38(2)**, 51-56.

Kong C, Neoh HM, Nathan S. (2016). Targeting *Staphylococcus aureus* toxins: A potential form of anti-virulence therapy. *Toxins*, **8(3)**.

Kotilainen P (1990). Association of coagulase negative staphylococcal slime production and adherence with the development and outcome of adult septicemias. *J. Clin. Microbiol.*, **28**, 2779 -2785.

Krahwinkel DJ (1992). *External ear canal*. In: Slatter D (Ed), Textbook of Small Animal Surgery, Saunders, Philadelphia, USA, 1746.

Kroemer S, Garch FE, Galland D (2014). Antibiotic susceptibility of bacteria isolated from infections in cats and dogs throughout Europe (2002–2009). *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, **37**, 97-108.

Kumar S, Hussain K, Sharma R, Chhibber S, Sharma N (2014). Prevalence of canine otitis externa in Jammu. *J. Anim. Res.*, **4(1)**, 121.

Kurnaz H (2022). *Kedi ve köpek kökenli stafilocok türlerinde beta-laktam direncinin fenotipik ve genotipik karakterizasyonu.* Uludağ Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Bursa/Türkiye.

Kurnaz H, Büyükcangaz E, Şen A (2020). *Sağlıklı kedi ve köpeklerdeki Staphylococcus spp. prevalansı ve antimikrobiyal direnç profili.* 14. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi. Konya, Turkey, s: 111-113.

Kuyucuoğlu Y, Sarıtaş ZK (2010). Sağlıklı köpeklerin dış kulak kanalından izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *Kocatepe Vet J.*, **3(2)**, 19- 23.

Kwok AY, Chow AW (2003). Phylogenetic study of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species based on partial *hsp60* gene sequences. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **53**, 87–92.

Leonard C, Thiry D, Taminiau B, Daube G, Fontaine J (2022). External ear canal evaluation in dogs with chronic suppurative otitis externa: Comparison of direct cytology, bacterial culture and 16S amplicon profiling. *Vet. Sci.*, **9(7)**, 366.

Lilenbaum W, Veras M, Blum E (2000). Antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from otitis externa in dogs. *Lett. Appl. Microbiol.*, **31**, 42-45.

Lina G, Quaglia A, Reverdy ME, Leclercq R, Etienne J (1999). Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides and streptogramins among staphylococci. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **43**, 1062-1066.

Litster A, Thompson M, Moss S, Trott D (2011). Feline bacterial urinary tract infections: An update on an evolving clinical problem. *Vet. J.*, **187**, 18–22.

Liu J (2016). Staphylococcal chromosomal cassettes mec (SCCmec): A mobile genetic element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Microb. Pathog.*, **101**, 56–67.

Loeffler A, Linek M, Moodley A, Guardabassi L, Sung JM, Winkler M, Weiss R, Lloyd DH (2007). First report of multiresistant, *mecA*-positive *Staphylococcus*

intermedius in Europe: 12 cases from a veterinary dermatology referral clinic in Germany. *Vet. Dermatol.*, **18**, 412–421.

Logas DB (1994). Diseases of the ear canal. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, **24**, 905-919.

Lynch, SA, Helbig KJ (2021). The Complex Diseases of *Staphylococcus pseudintermedius* in Canines: Where to Next? *Vet. Sci.*, **8**, 11.

Ma GC, Worthing KA, Ward MP, Norris JM (2020). Commensal staphylococci including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from dogs and cats in remote New South Wales, Australia. *Microb. Ecol.*, **79**(1), 164-174.

Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *CMI*, **18**, 268–281.

Mah TFC, O'Toole GA (2001). Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol.*, **9**(1), 34–39.

Martins E, Maboni G, Battisti R, da Costa L, Selva HL, Levitzki ED, Gressler LT (2022). High rates of multidrug resistance in bacteria associated with small animal otitis: A study of cumulative microbiological culture and antimicrobial susceptibility. *Microbial Pathog.*, **165**, 105399.

May ER, Hnilica KA, Frank LA, Jones RD, Bemis DA (2005). Isolation of *Staphylococcus schleiferi* from healthy dogs and dogs with otitis, pyoderma, or both. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **227**, 928-931.

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.

McKeever PJ, Richardson HW (1988). Otitis externa, part 2, clinical appearance and diagnostic methods. *Comp. Anim. Pract.*, **2**, 25-31.

McKeever PJ, Torres S (1988). Otitis externa, part 1, the ear and predisposing factors to otitis externa. *Comp. Anim. Pract.*, **2**, 7-14.

Méan M, M Mallaret, P Andrini (2007). A neonatal specialist with recurrent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carriage implicated in the transmission of MRSA to newborns. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, **28**, 625-628.

Mehrotra M, Wang G, Johnson WM (2000). Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. *J. Clin. Microbiol.*, **38(3)**, 1032-1035.

Meyer SA (1978). Schleifer KH. Deoxyribonucleic acid reassociation in the classification of coagulase-positive staphylococci. *Arch. Microbiol.* **117**, 183–188.

Moriello KA (2013). *Overview of Otitis Externa*. The Merck Manual Veterinary. Erişim Tarihi: Nisan, 2020.

Morris DO, Rook KA, Shofer FS, Rankin SC (2006). Screening of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* and *Staphylococcus schleiferi* isolates obtained from small companion animals for antimicrobial resistance: A retrospective review of 749 isolates (2003–04). *Vet. Dermatol.*, **17**, 332–337.

Murphy MA (2001). Review of Techniques for the Investigation of Otitis Externa and Otitis Media. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.*, **16(3)**, 236-41.

Murugaiyan J, Walther B, Stamm I, Abou-Elnaga Y, Brueggemann-Schwarze S, Vincze S, Roesler U (2014). Species differentiation within the *Staphylococcus intermedius* group using a refined MALDI-TOF MS database. *CMI*, **20(10)**, 1007-1014.

Nasaj M, Saeidi Z, Asghari B, Roshanaei G, Arabestani MR (2020). Identification of hemolysin encoding genes and their association with antimicrobial resistance pattern among clinical isolates of coagulase-negative staphylococci. *BMC Res. Notes*, **13**, 1-6.

Nisa S, Bercker C, Midwinter AC, Bruce I, Graham CF, Venter P, Wilkinson DA (2019). Combining MALDI-TOF and genomics in the study of methicillin resistant and multidrug resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in New Zealand. *Sci. Rep.*, **9(1)**, 1271.

Njoroge CW, Mande JD, Mitema ES, Kitaa JMA (2017). Multidrug resistance of common bacterial pathogens from wounds and otitis externa in small animals during a 10 year period in Kenya. *Inter. J. Vet. Sci.*, **5(4)**, 262-267.

O’Gara JP (2017). Into the storm: Chasing the opportunistic pathogen *Staphylococcus aureus* from skin colonisation to life threatening infections. *Environ. Microbiol.*, **19(10)**, 3823–3833.

O’Neill DG, Volk AV, Soares T (2021a). Frequency and predisposing factors for canine otitis externa in the UK – a primary veterinary care epidemiological view. *Canine Genet. Epidemiol.*, **8**, 7.

O’Neill AM, Worthing K A, Kulkarni N, Li F, Nakatsuji T, McGrosso D, Mills RH, Kalla G, Cheng JY, Norris JM, Pogliano K, Pogliano J, Gonzalez DJ, Gallo RL (2021b). Antimicrobials from a feline commensal bacterium inhibit skin infection by drug-resistant *S. pseudintermedius*. *eLife*, **10**, e66793.

Oliveira LC, Leite CAL, Brilhante RSN, Carvalho CBM (2006). Etiology of canine otitis media and antimicrobial susceptibility of coagulase-positive staphylococci in Fortaleza city, Brazil. *Bras. J. Microbiol.*, **37**, 144-147.

Olson ME, Ceri H, Morck DW, Buret AG, Read RR (2002). Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. *Canadian J. Vet. Res.*, **66(2)**, 86–92.

Osland AM, Vestby LK, Fanuelson H, Slettemeås JS, Sunde M (2012). Clonal diversity and biofilm-forming ability of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *J. Antimicrob. Chemother.*, **67**(4), 841–848.

Özdemir H, Keyvan E (2016). Isolation and characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from beef, sheep and chicken meat. *Ank. Univ. Vet. Fak. Derg.*, **63**(4), 333-338.

Öztürk D, Avki S, Türütoğlu H, Yiğitarıslan K, Sağnak S (2010). Methicillin resistance among coagulase-positive staphylococci isolated from dogs with otitis externa, skin wounds and pyoderma. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, **16**(4), 651-656.

Pantucek R, Svec P, Dajcs JJ, Machová I, Cernohlavkova J, Sedo O, Gelbicova T, Maslanova I, Doskar J, Zdrahal Z, Ruzickova V, Sedlacek I (2013). *Staphylococcus petrasii* sp. nov. including *S. petrasii* subsp. *petrasii* subsp. nov. and *S. petrasii* subsp. *croceilyticus* subsp. nov., isolated from human clinical specimens and human ear infections. *Syst. Appl. Microbiol.*, **36**, 90–95.

Papich MG (2012). Selection of antibiotics for methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*: Time to revisit some old drugs. *Vet. Dermatol.*, **23**(4), 1–10.

Parisi JT (1985). Coagulase-negative staphylococci and the epidemiological typing of *Staphylococcus epidermidis*. *Microbiol. Rev.*, **49**, 126-139.

Paterson S (2016). Discovering the causes of otitis externa. *In Pract.*, **38**, 7-11

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.

Penna B, Varges R, Medeiros L, Martins GM, Martins RR, Lilenbaum W (2009). In vitro antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from canine pyoderma in Rio de Janeiro, Brazil. *Braz. J. Microbiol.*, **40**, 490-494.

Perego R, Proverbio D, Bagnagatti De Giorgi G, Della Pepa A, Spada E (2014). Prevalence of otitis externa in stray cats in northern Italy. *JFMS*, **216**(6), 483-490.

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.

Perry LR, MacLennan B, Korven R, Rawlings TA (2017). Epidemiological study of dogs with otitis externa in Cape Breton, Nova Scotia. *Can. Vet. J.*, **58**, 168–174.

Petrov V, Mihaylov G, Tsachev I, Zhelev G, Marutsov P, Koev K (2013). Otitis externa in dogs: microbiology and antimicrobial susceptibility. *Revue Méd. Vét.*, **164**(1), 18-22.

Pinchbeck LR, Cole LK, Hillier A, Kowalski JJ, Rajala-Schultz PJ, Bannerman TL (2006). York, S. Genotypic relatedness of staphylococcal strains isolated from pustules and carriage sites in dogs with superficial bacterial folliculitis. *Am. J. Vet. Res.*, **67**, 1337–1346.

Prescott JF, Hanna WJ, Reid-smith R(2002). Antimicrobial drug use and resistance in dogs. *Can. Vet. J.*, **43**: 107-116.

Prévost G, Couppié P, Monteil H (2003). *Staphylococcal epidermolysins*. *Curr. Opin. Infect. Dis.*, **16**, 71-76.

Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, FitzPatrick ES, Fanning S, Hartigan PJ (2011). *Veterinary microbiology and microbial disease*. 2nd ed, Chichester (UK): Wiley-Blackwell.

Rana EA, Islam MZ, Das T, Dutta A, Ahad A, Biswas PK, Barua H (2022). Prevalence of coagulase-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in dogs in Bangladesh. *Vet. Med. Sci.*, **8**(2), 498-508.

Rasheed NA, Hussein NR (2020). Characterization of different virulent factors in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates recovered from Iraqis and Syrian refugees in Duhok. *Plos One*, **15(8)**, e0237714.

Rîmbu C, Horhoge C, Cozma A, Cretu C, Grecu M, Rusu R, Guguianu E (2020). Analysis of bacteriological infected dog and cat bite wounds in veterinary medical staff. *Bull Univ Agric Sci Vet Med Cluj Napoca.*, **77(1)**, 43-52.

Ross Fitzgerald J (2009). The *Staphylococcus intermedius* group of bacterial pathogens: Species re-classification, pathogenesis and the emergence of methicillin resistance. *Vet. Dermatol.*, **20**, 490–495.

Rosser EJ (2004). Causes of otitis externa. *Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract.*, **34(2)**, 459-468.

Rubin J, 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.

Ruscher C, Lübke-Becker A, Wleklinski C-G, Soba A, Wieler LH, Walther B (2009). Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from clinical samples of companion animals and equidae. *Vet. Microbiol.*, **136**, 197–201.

Sababoglu E, Cinar H (2022). Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Turkey: a case of urinary tract infection due to urinary stones in a cat. 5th International Health Sciences and Life Congress, 648, 10-12 March 2022 Burdur, Turkey.

Sancak B (2011). *Staphylococcus aureus* ve antibiyotik direnci. *Mikrobiyol. Bul.*, **45(3)**, 565-576.

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

Scali F, Camussone C, Calvinho LF, Cipolla M, Zecconi A. (2015). Which are important targets in development of *S. aureus* mastitis vaccine? *Res. Vet. Sci.* **100**, 88–99.

Schwarz S, Chaslus-Dancla E (2001). Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Vet. Res.*, **32(3-4)**, 201-225.

Scott DW, Miller WH, Griffin CE (2001). Diseases of eyelids, claws, anal sacs and ears. In: *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Co, 1204–16.

Seilie ES, Bubeck Wardenburg J (2017). *Staphylococcus aureus* pore-forming toxins: The interface of pathogen and host complexity. *Semin. Cell. Dev. Biol.* **72**, 101–116.

Sender G, Pawlik A, Korwin-Kossakowska A (2017). Current concepts on the impact of coagulase-negative staphylococci causing bovine mastitis as a threat to human and animal health-a review. *Anim. Sci. Paper. Rep.*, **35**, 123-135.

Senobar Tahaei SA, Stájer A, Barrak I, Ostorházi E, Szabó D, Gajdács M (2021). Correlation between biofilm-formation and the antibiotic resistant phenotype in *Staphylococcus aureus* isolates: a laboratory-based study in Hungary and a review of the literature. *Infect. Drug Resist.*, **14**, 1155-1168.

Silva MB (2015). An evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for the identification of *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from canine infections. *JVDI*, **27**, 231-235.

Sim JXF, Khazandi M, Chan WY, Trott DJ, Deo P (2019). Antimicrobial activity of thyme oil, oregano oil, thymol and carvacrol against sensitive and resistant microbial isolates from dogs with otitis externa. *Vet. Dermatol.*, **30**, 524-e159.

Singh A, Walker M, Rousseau J, Weese JS (2013). Characterization of the biofilm forming ability of *Staphylococcus pseudintermedius* from dogs. *BMC Vet. Res.*, **9**, 93.

- Singh A, Walker M, Rousseau J, Weese JS (2013).** Characterization of the biofilm forming ability of *Staphylococcus pseudintermedius* from dogs. *BMC Vet. Res.*, **9**, 93.
- Skalka B (1985).** Hyaluronidase test in the diagnosis of staphylococci. *Vet. Med. (Praha)*, **30**, 373–378.
- So JH (2012).** Dissemination of multidrug-resistant *Escherichia coli* in Korean veterinary hospitals. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **73**, 195-199.
- Song H, Lim S (2015).** Assessing pet industry in Korea using service quality improvement gap model. *IJTPM*, **15**(1), 2-20.
- Stackebrandt E, Rainey FA, Ward-Rainey NL (1997).** Proposal for a new hierarchic classification system, Actinobacteria classis nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **47**, 479-491.
- Takahashi T, Satoh I, Kikuchi N (1999).** Phylogenetic relationships of 38 taxa of the genus *Staphylococcus* based on 16S rRNA gene sequence analysis. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **49**, 725-728.
- Tamakan H, Göçmen H (2019).** Kedi ve köpeklerde metisilin dirençli *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) taşıyıcılığı. *Ataturk Univ. Vet. Bilim. Derg.*, **14**(1), 98-106.
- Tang YW, Han J, McCormac MA, Li H, Stratton CW (2008).** *Staphylococcus pseudolugdunensis* sp. nov., a pyrrolidonyl arylamidase ornithine decarboxylase-positive bacterium isolated from blood cultures. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **60**, 351-359.
- Tanner MA, Everett CL, Youvan DC (2000).** Molecular phylogenetic evidence for non-invasive zoonotic transmission of *Staphylococcus intermedius* from a canine pet to a human. *J. Clin. Microbiol.*, **38**, 1628-1631.
- Tater KC, Scott DW, Miller Jr, WH, Erb HN (2003).** The cytology of the external ear canal in the normal dog and cat. *J. Vet. Med. Series A.*, **50**(7), 370-374.

Teixeira IM, de Oliveira Ferreira E, de Araújo Penna B (2019). Dogs as reservoir of methicillin resistant coagulase negative staphylococci strains—A possible neglected risk. *Microb. Pathog.*, **135**, 103616.

Tse H, Tsoi HW, Leung SP (2011). Complete genome sequence of the veterinary pathogen *Staphylococcus pseudintermedius* strain hku10-03, isolated in a case of canine pyoderma. *J. Bacteriol.*, **193**, 1783–1784.

Uysal A, Kurt Ş, Soylu EM, Kara M, Soylu S (2018). *Evaluation of the Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight (MALDI-TOF) Mass Spectrometry for Identification of Some Plant Fungal Pathogenic Species.* International Agricultural Science Congress. 09-12 May Van/Turkey.

Uysal A, Kurt Ş, Soylu S, Soylu Em, Kara M (2019). Yaprığı yenen sebzelerdeki mikroorganizma türlerinin MALDI-TOF MS (Matris Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Süresi Kütle Spektrometresi) tekniği kullanılarak tanınması. *YYÜ Tar. Bil. Derg.*, **29(4)**, 595-603.

Van Duijkeren E, Catry B, Greko C, Moreno MA, Pomba MC, Pyörälä S, Törneke K (2011). Review on methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *J. Antimicrob. Chemother.*, **66(12)**, 2705-2714.

Vestergaard M (2017). Inhibition of the ATP Synthase Eliminates the Intrinsic Resistance of *Staphylococcus aureus* towards Polymyxins. *mBio* **8**, 1114-1117.

Von Eiff C, Becker K, Machka K, Stammer H, Peters G (2001). Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. Study Group. *N. Engl. J. Med.*, **344**, 11–16.

Weese JS., van Duijkeren E., (2010). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Vet. Microbiol.*, **140**, 418-429

Wieler LH, Ewers C, Guenther S, Walther B, Lübke-Becker A (2011). Methicillin-resistant staphylococci (MRS) and extended-spectrum beta-lactamases (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in companion animals: Nosocomial infections as one

reason for the rising prevalence of these potential zoonotic pathogens in clinical samples. *Int. J. Med. Microbiol.*, **301**, 635–641.

Winslow C, Rothbergw EA, Parsonse IM (1920). Notes on the classification of the white and orange staphylococci. *J. of Bacteriol.*, **5**, 145-168.

Worthing KA, Abraham S, Pang S, Coombs GW, Saputra S, Jordan D, Wong HS, Abraham RJ, Trott DJ, Norris JM (2018b). Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from Australian animals and veterinarians. *Microb. Drug Resist.*, **24**, 203–212.

Worthing KA, Brown J, Gerber L, Trott DJ, Abraham S, Norris JM (2018a). Methicillin-resistant staphylococci amongst veterinary personnel, personnel-owned pets, patients and the hospital environment of two small animal veterinary hospitals. *Vet. Microbiol.*, **223**, 79–85.

Worthing KA, Pang S, Trott DJ, Abraham S, Coombs GW, Jordan D, McIntyre L, Davies MR, Norris J (2018). Characterisation of *Staphylococcus felis* isolated from cats using whole genome sequencing. *Vet. Microbiol.*, **222**, 98–104.

Wu S, Piscitelli C, de Lencastre H (1996). Tracking the evolutionary origin of the methicillin resistance gene: cloning and sequencing of a homologue of *mecA* from a methicillin susceptible strain of *Staphylococcus sciuri*. *Microb. Drug Resist.*, **2**, 435–441.

Yarbrough ML, Hamad Y, Burnham CA, George IA (2017). The brief case: bacteremia and vertebral osteomyelitis due to *Staphylococcus schleiferi*. *J. Clin. Microbiol.* **55**, 3157-3161.

Zecconi A, Scali F (2013). *Staphylococcus aureus* virulence factors in evasion from innate immune defenses in human and animal diseases. *Immunol. Lett.*, **150(1–2)**, 12–22.

Zur G, Gurevich B, Elad D (2016). Prior antimicrobial use as a risk factor for resistance in selected *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from the skin and ears of dogs. *Vet. Dermatol.*, **27**, 468-e125.

Zur G, Lifshitz B, Bdolah-Abram T (2011). The association between the signalment, common causes of canine otitis externa and pathogens. *J. Small Anim. Pract.*, **52**, 254–258.



