


Sığır Mastitislerinden İzole Edilen Stafilokoklarda Metisilin Direnci ve Slaym Pozitifliği ^[1]^[2]

Seyhan KAYNARCA * Süheyla TÜRKYILMAZ ** 

[1] Çalışma ilk isim yazarın aynı isimli Yüksek Lisans Tez'inden özetlenmiştir

[2] Çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (SAE-08017 no'lu proje) tarafından desteklenmiştir

* Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, TR-09010 Aydın - TÜRKİYE

** Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, TR-09010 Aydın - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2009-1142

Özet

Bu çalışmanın amaçları sığır mastitislerine neden olan stafilokok suşlarında metisilin direnci ve slaym oluşumunun incelenmesidir. Materyal olarak, 152 sağmal inekten alınan 339 mastitisli süt örneği kullanılmıştır. İzole edilen mikroorganizmaların cins düzeyinde identifikasyonu standart biyokimyasal yöntemlerle; koagülaz pozitif stafilokok (KPS) ve koagülaz negatif stafilokok (KNS) suşlarının tür düzeyinde identifikasyonları ise sekans analizi ile yapılmıştır. Stafilokok suşlarının metisilin dirençleri sefoksitin diski kullanılarak disk difüzyon yöntemiyle, slaym varlığı ise Kongo Red Agar yöntemine göre belirlenmiştir. Mastitis etkeni olarak ilk sırayı KNS'lar (%24.5) alırken, bunu KPS'lar (%20.9) takip etmiştir. Bunlardan 16 (%10.4) suş metisilin dirençli, 55 (%35.7) suş slaym pozitif olarak saptanırken; KPS ve KNS suşlarında slaym oluşumunun metisilin direncinde artışa yol açmadığı tespit edilmiştir. Metisilin direncinin Aydın yöresinde bir sorun oluşturmaya başladığı, bundan sonraki yıllarda stafilokokal mastitis tedavisinde metisilin direnci ve slaym üretiminin dikkate alınması gerekeceği düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: Mastitis, Metisilin direnci, Slaym, *Staphylococcus spp.*

Methicillin Resistance and Slime Positivity of Staphylococci Isolated from Bovine Mastitis

Summary

The aims of this study were to determine the slime formation and methicillin resistance in isolated staphylococcus species from bovine mastitis. Material of this study was consisted of 339 milk samples with mastitis taken from 152 dairy cattle rearing. Identifications of isolated microorganisms on genus basis were performed with standart biochemical methods while sequence analysis was used for species basis identification of coagulase negative (CNS) and coagulase positive (CPS) staphylococcus strains. Methicillin resistance of staphylococcus strains were performed with disk diffusion method by using cefoxitin disk and slime formation was detected with Congo Red Agar method. CNS were the most common cause (24.5%) of mastitis in cows while CPS (*S. aureus*) were the most second (20.9%). 16 (10.4%) staphylococcus strains were found as methicillin resistance while 55 (35.7%) were slime positive from 154 staphylococcus strains. It was determined that slime formation has no effect on methicillin resistance in CNS and CPS staphylococcus strains. It was thought that methicillin resistance is beginning a problem, methicillin resistance and slime production may be important factors in the treatment of staphylococcal mastitis in the near future in Aydın.

Keywords: Mastitis, Methicillin resistance, Slaym, *Staphylococcus spp.*


GİRİŞ

Metisilin dirençli stafilokoklar, metisilin duyarlı stafilokoklardan farklı olarak *mecA* genine sahiptirler. Bu gen bir penisilin bağlayan protein (PBP2a) sentezlenme-

sinden sorumludur ¹. PBP2a'nın beta laktam antibiyotiklere affinitesi düşüktür. Bu nedenle metisilin dirençli bir stafilokok beta laktam antibiyotiklerle karşılaştığında,

 İletişim (Correspondence)

 +90 256 2470700

 suhturkyilmaz@yahoo.com

PB2a düşük affinite nedeni ile beta laktam antibiyotiği bağlayamaz, hücre duvar sentez fonksiyonunu sürdürür². Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşları morbidite ve mortalitesi yüksek infeksiyonlara yol açmaları ve bu infeksiyonlarda tedavi seçeneklerinin de sınırlı olması nedenleri ile önemlidirler³.

Hayvanlarda ilk MRSA izolatu 1972 yılında mastitisli sığırlardan izole edilirken, bunu 1988 yılında kedi ve 1989 yılında köpek izolatları izlemiştir. Daha sonra dünyanın pek çok yerinde izolat sayısının artması ile MRSA infeksiyonlarının hayvanlarda da problem olmaya başladığı görülmüştür^{3,4}.

16S rRNA gen sekansı 1980'li yıllardan beri bakterilerin sınıflandırılmasında ve genotipik analizleri için beşeri hekimlikte kullanılmaktadır. Artık sekansa dayalı moleküler identifikasyon veteriner klinik sahada karşılaşılan bakterilerin tanınmasında da kullanılmaya başlanmıştır⁵.

Metisilin dirençli suşların doğru bir şekilde belirlenmesi için kullanılan pek çok yöntem bulunmaktadır. Telli ve ark.⁶ sefoksitinle yapılan disk difüzyon testinin MRSA belirleme yeteneği açısından halen kullanılmakta olan diğer yöntemlerle karşılaştırmışlar; sefoksitin disk difüzyon testini metisiline direnci belirlemede güvenilir yöntem olarak bulduklarını belirtmişlerdir.

Slaym üretimi stafilokoklarda önemli bir virulans faktörü olarak kabul edilmektedir⁷. Stafilokoklarda slaym oluşumu, fenotipik ve genotipik olarak çeşitli yöntemlerle belirlenebilmektedir. Araştırmacılar Kongo Red Agar (KRA) yönteminin fenotipik olarak suşların slaym oluşturmalarının belirlenmesinde pratik, ucuz bir yöntem olduğunu, laboratuvarlarda kolaylıkla ve güvenle kullanılabileceğini, ayrıca; genotipik yöntemlerle de uyumlu olduğunu vurgulamışlardır^{8,9}.

MRSA hem insan hem hayvan sağlığı açısından önemlidir^{3,4}. Juhász-Kaszanyitzky ve ark.¹⁰ hem mastitisli sığırlardan hem de onların bakıcılarından MRSA suşu izole ettiklerini MRSA suşlarının insan ve hayvanlar arasında bulaşabildiğini yani zoonotik önemlerinin olduğunu bildirmişlerdir. Hastane kökenli MRSA klonlarının köpeklerde¹¹ ve mastitisli sığır sütlerinde¹² bulunması, MRSA suşlarının insanlardan hayvanlara bulaşabildiğini (humanosis) de düşündürmüştür. MRSA günümüzde en önemli hastane kaynaklı etkenlerden birisi olmakla birlikte⁴; yurdumuzda mastitisli sığır sütlerinde MRSA suşlarının varlığının incelendiği çalışma bulunmaktadır¹²⁻¹⁶. Ancak, yurdumuzda hayvan orijinli stafilokok suşlarında metisilin direnci ve önemli bir virulans faktörü olan slaym üretiminin birlikte incelendiği bir çalışma şu anki bilgilerimize göre bulunmamaktadır. Bu çalışmada, sığır

mastitislerinden izole edilen stafilokok suşlarında metisilin direncinin ve slaym üretiminin incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Bu çalışmada Aydın ili Umurlu ilçesinde, 2008 Ocak-2009 Nisan tarihleri arasında 23 sığır işletmesinden (her sürüden 5-16 örnek) hepsi laktasyon döneminde olan, son üç ayda antibiyotik tedavisi almamış, en az bir doğum yapmış, 3-9 yaşlı, Holstein ırkı, fiziksel muayenede anormallik bulunan (meme loblarında şişkinlik, sıcaklık, ağrı, kızarıklık ya da sulu, kanlı, pıhtılı süt gibi) ve CMT ile pozitif reaksiyon (1+, 2+, 3+) veren 152 sağlam ineekten alınan 339 mastitisli süt örneği kullanılmıştır.

Metot

Usulüne uygun olarak alınan süt örnekleri¹⁷ laboratuvara getirildikten sonra besi yerlerine (%7 koyun kanlı agar, mannitol salt agar ve MacConkey agar) ekilip 37°C'de 24-48 saat inkube edilmiştir. Daha sonra üreyen mikroorganizmaların makroskobik olarak koloni morfolojileri, pigment ve hemoliz özellikleri; mikroskobik olarak Gram boyanma özellikleri incelenmiştir. İzole edilen Gram pozitif ve Gram negatif mikroorganizmaların cins düzeyinde identifikasyonları klasik biyokimyasal yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir¹⁸. Stafilokok suşlarına tüp koagulaz testi yapıldıktan sonra suşlar koagulaz pozitif (KPS) ve koagulaz negatif (KNS) stafilokok olarak gruplandırılmış, izolatlar moleküler çalışmalar için -20°C'de saklanmıştır.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu: İzole edilen KPS ve KNS suşlarının tür düzeyinde identifikasyonları sekans analizi ile gerçekleştirilmiştir. Bunun için öncelikle izole edilen suşlardan kromozomal DNA ekstraksiyonu daha önce bildirildiği şekilde (<http://saureus.mlst.net/misc/info.asp>) yapılmıştır. Stafilokok suşlarında 16S rRNA geni universal primerler S16S20 (5' AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG 3') ve 16S1390 (5' GAC GGG CGG TGT GTA CAA) kullanılarak^{19,20} polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılmıştır. Çalışmada kullanılan PZR işlemine ait ısıl döngü ve süre diyagramı **Tablo 1**'de verilmiş ve ürünler %1'lik jelde görüntülenmiştir. Tüm bakterilerden 16S rRNA fragmanını çoğaltmaya

Tablo 1. PZR işlemine ait ısıl döngü ve süre diyagramı

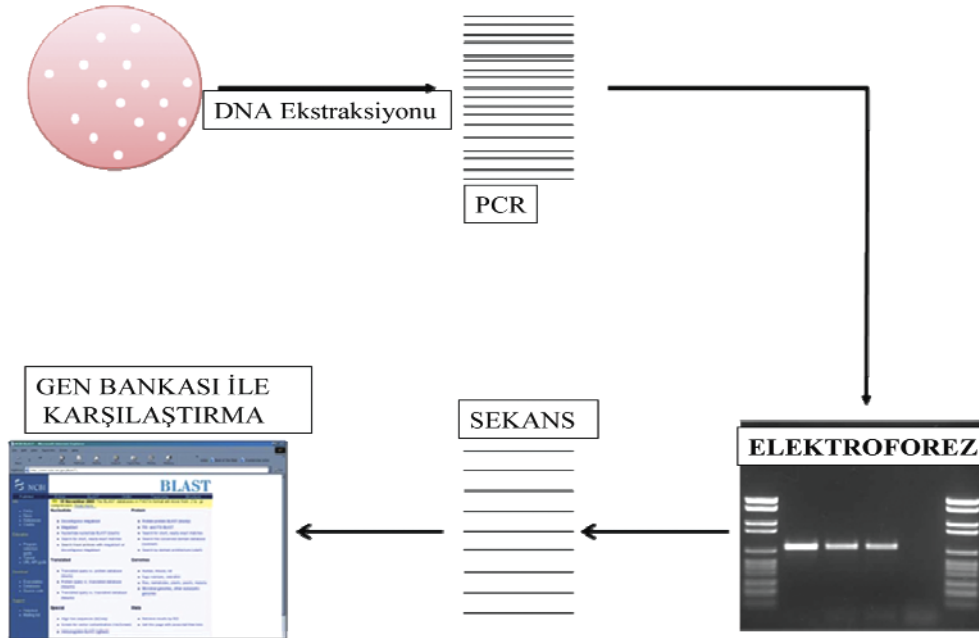
Table 1. PCR thermal cycle temperature and time diagram

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süre
Başlangıç Denatürasyon	1	94°C	10 dak.
Denatürasyon	35	94°C	1 dak.
Bağlanma	35	50°C	1 dak.
Uzama	35	72°C	1 dak.
Son Uzama	1	72°C	5 dak.

yarayan bu primerlerle elde edilen ampliconlar tür tayini yapılabilmesi için sekans analizine tabi tutulmuşlardır.

Sekans Analizi: Elde edilen ampliconlar sekans analizleri için 96 kuyucuklu pleyt içerisinde MacroGen (MacroGen Inc., 1001 World Meridian Venture Center, #60-24, Gasan-dong, Geumchun-gu, Seoul, 153-781, Korea) firmasına gönderilmiştir. Firma saflaştırmayı takiben ABI Primse cihazı ile sekans analizini gerçekleştirmiştir. Elde edilen 16S rRNA sekansları tür tayininin yapılabilmesi için gen bankası ile karşılaştırılmıştır. Bu amaçla National Center of Biotechnology Information'ın web sayfasındaki (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) Nucleotide-Nucleotide BLAST programı kullanılmıştır. Bakterilerin 16S rRNA sekansına dayalı moleküler identifikasyonunun yapılışı **Şekil 1**'de gösterilmiştir.

Slaym Faktör: Kongo kırmızılı agar (KKA) yöntemi ile



Şekil 1. Bakterilerin 16S rRNA sekansına dayalı moleküler identifikasyonu

Fig 1. Molecular identification of bacteria based on 16S rRNA sequencing

incelenmiş ve değerlendirme “Kongo Red Fenomenine” göre yapılmıştır ²¹.

Antibiyoqram: İzole edilen stafilokok suşlarının antibiyotik dirençlerinin belirlenmesinde Oxoid marka ampicilin (AMP; 10 µg), amoksisilin klavulanik asit (AMC; 30 µg), neomisin (N; 30 µg), penisilin (P; 10 IU), gentamisin (GN; 10 µg), enrofloksasin (ENR; 5 µg), sefoperazon (CFP; 30 µg), tetrasiklin (TET; 30 µg), vankomisin (VAN; 30 µg), sefoksitin (FOX; 30 µg) disklerden yararlanılmış ve Kirby Bauer disk diffüzyon yöntemi kullanılmıştır ²². Test yapıldıktan sonra 37°C’de 18 saat inkübe edilen suşların inhibisyon zon çapları ölçülerek; sonuçlar Comité de l’antibiogramme de la Societe francaise de microbiologie: Communiqué (CASFM) ve Clinical and Laboratory Standards Institute Performance Standards for Anti-

microbial Susceptibility Testing (CLSI) standartlarına göre yorumlanmıştır ^{23,24}.

Tüm testlerde kontrol suşları olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 kullanılmıştır.

İstatistik: KPS ve KNS suşlarında slaym oluşumunun metisilin direncinde artışa yol açıp açmadığının belirlenmesinde istatistiksel analiz olarak X² testi kullanılmıştır ²⁵.

BULGULAR

İzolasyon: İncelenen 339 süt örneğinden izole edilen tüm mikroorganizmalar **Tablo 2**’de gösterilmiştir. **Tablo 2**’de görüldüğü gibi özellikle *Staphylococcus spp.* yörede sığır mastitislerine neden olan en önemli etken (%45.4) olarak tespit edilmiştir.

Tablo 2. Mastitisli sütlerden izole edilen mikroorganizmalar

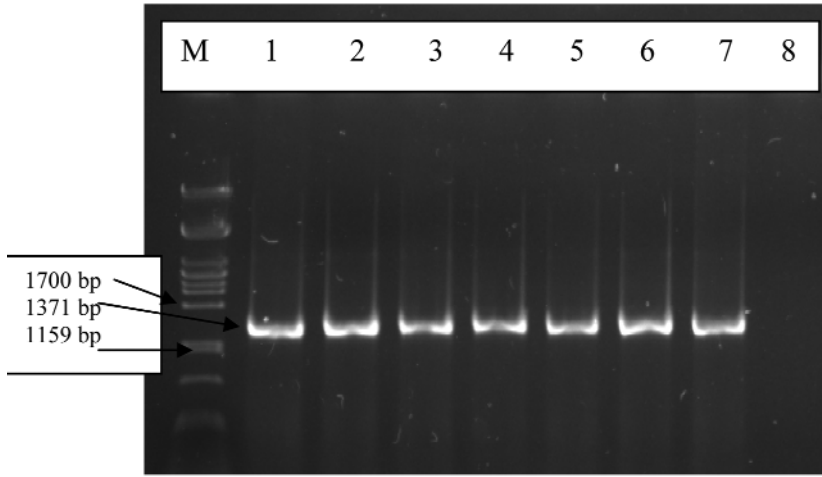
Table 2. Microorganisms isolated from milk with mastitis

Etiyolojik Etken	Sayı	%
Koagülaz negatif stafilokok	83	24.5
Koagülaz pozitif stafilokok	71	20.9
Maya (<i>Candida spp.</i>)	41	12.1
<i>Escherichia coli</i>	33	9.8
<i>Streptococcus spp.</i>	21	6.2
<i>Bacillus spp.</i>	19	5.6
<i>Shigella spp.</i>	12	3.5
<i>Pseudomonas spp.</i>	9	2.6
*Diğer mikroorganizmalar	8	2.4
Üreme yok	42	12.4
Toplam	339	100.0

* Diğer mikroorganizmalar: *Enterobacter spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Citrobacter spp.*, *Hafnia spp.*

PZR Ürünlerinin Elektroforez ile Ayırımı: Ünlversal primerler kullanılarak yapılan PZR'da 1371 bp uzunluğunda bant elde edilmiştir. Böylece 16S rRNA için kodlayan yaklaşık 1600 bazlık genin büyük kısmı çoğaltılmış ve sekans analizine tabi tutularak tür ayırımının yapılabilmesi sağlanmıştır.

İzole Edilen Stafilkok Türlerinin Dağılımı: İncelenen



Şekil 2. 16S universal primerleri kullanılarak gerçekleştirilen M: Marker (PstI enzimi ile kesilmiş lambda faj DNA'sı). PZR. 1-6: *Staphylococcus* izolatları, 7: Pozitif Kontrol (*S. aureus* ATCC 29213), 8: Negatif Kontrol (DNA'sız master miks)

Fig 2. PCR performed by using 16S rRNA universal primers. M: Marker (Lambda phage DNA restricted with PstI enzyme) 1-6: PCR performed by using isolated microorganism's DNA. 7: Positive control (*S. aureus* ATCC 29213), 8: Negative control (without DNA master mix)

339 süt örneğinden toplam 154 stafilkok suşu izolasyonu yapılmış; on iki farklı stafilkok türü sekans analizi ile tanımlanmıştır. Stafilkok suşlarının tür düzeyinde dağılımları **Tablo 3**'te verilmiştir.

Tablo 3. *Staphylococcus spp.*'nin dağılımı

Table 3. The distribution of *Staphylococcus spp.*

Tür	Sayı	%
<i>S. aureus</i>	71	46.1
<i>S. chromogenes</i>	23	14.9
<i>S. haemolyticus</i>	17	11.0
<i>S. pseudointermedius</i>	10	6.5
<i>S. simulans</i>	9	5.8
<i>S. epidermidis</i>	8	5.3
<i>S. pasteurii</i>	6	3.9
<i>S. sciuri</i>	3	1.9
<i>S. vitulis</i>	2	1.3
<i>S. equorum</i>	2	1.3
<i>S. xylosus</i>	2	1.3
<i>S. warneri</i>	1	0.7
Toplam	154	100.0

Metisilin Direnci: Tanımlanmış 154 suşun 16 (%10.4)'sü metisilin dirençli, 138 (%89.6)'i metisilin duyarlı olarak belirlenmiştir.

Slaym Pozitifliği: Tanımlanmış 154 suşun 55 (%35.7)'i slaym pozitif, 99 (%64.3)'ü ise slaym negatif olarak belirlenmiştir.

Metisilin dirençli 16 suşun 6 (%37.5)'sinin slaym faktör oluşturduğu gözlemlenmiş, ayrıca hem MRSA olup hem de slaym faktör oluşturan toplam dört suş tespit edilirken; iki KNS suşu (1 *S. haemolyticus*, 1 *S. pasteurii*) hem metisilin dirençli hem de slaym faktör oluşturduğu belirlenmiştir. Slaym oluşturan ve oluşturmayan stafilkok türlerinde metisilin duyarlılık ve direnç durumu **Tablo 4**'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Slaym oluşturan ve oluşturmayan stafilkoklarda metisilin duyarlılık ve direnç durumu

Table 4. Methicillin susceptibility and resistance in staphylococci slime positive and negative

SLIME	Metisilin	<i>Staphylococcus spp.</i>		Toplam	
		KNS	KPS		
Pozitif	Duyarlı	26 (53.0)	23 (47.0)	49	55
	Dirençli	2 (33.3)	4 (66.7)	6	
Negatif	Duyarlı	47 (52.8)	42 (47.2)	89	99
	Dirençli	8 (80.0)	2 (20.0)	10	
Toplam		83	71	154	154

Antibiyotik Dirençleri: MRSA suşlarının antibiyotik dirençliliklerinin dağılımı **Tablo 5**'te verilmiştir. İzole ve tanımlanmış toplam 154 stafilkok suşundan 16 (%10.4)'sü metisilin dirençli, 138'i metisilin duyarlı stafilkok suşu (%89.6) olarak belirlenmiştir. Metisilin dirençli suşların hepsinde aynı zamanda çoklu antibiyotik direnci (1'inde iki, 1'inde üç, 1'inde dört, 2'inde beş, 4'ide altı, 3'ünde yedi, 4'ünde sekizli) belirlenmiştir.

İstatistiksel Analiz: KPS ve KNS suşlarında slaym oluşumunun metisilin direncinde artışa yol açmadığı belirlenmiştir (KNS için $X^2=0.99$; $P=0.33$, KPS için $X^2=2.25$; $P=0.13$).

Tablo 5. MRSA suşlarının antibiyotik dirençliliklerinin dağılımı
Table 5. The distribution of antibiotic resistance in MRSA strains

Tür (İzolat Sayısı)	AMP R	AMC R	N R	P R	GN R	ENR R	CFP R	TET R	VAN R	FOX R
<i>S. aureus</i> (6)	5	5	2	4	6	4	6	6	0	6
<i>S. haemolyticus</i> (3)	2	1	1	3	2	1	1	1	0	3
<i>S. chromogenes</i> (2)	2	1	0	2	1	2	2	2	0	2
<i>S. pseudointermedius</i> (2)	2	2	0	2	1	0	0	1	0	2
<i>S. simulans</i> (2)	0	1	1	1	1	1	1	0	0	2
<i>S. pasteurii</i> (1)	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1

R: Dirençli suş sayısı

AMP: Ampisilin, **AMC:** Amoksisilin Klavulanik asit, **N:** Neomisin, **P:** Penisilin, **GN:** Gentamisin, **ENR:** Enrofloksasin, **CFP:** Sefoperazon, **TET:** Tetrasiklin, **VAN:** Vankomisin **FOX:** Sefoksitin

TARTIŞMA ve SONUÇ

Mastitis, süt ineklerinin yaygın olarak görülen ve mali külfeti yüksek olan hastalıklarından birisidir. Sığır mastitislerinden 150 civarında mikroorganizma izole edildiği bildirilmesine karşın ²⁶, en sık izole edilen bakteriyel etkenler bu çalışmada olduğu gibi *Staphylococcus spp.* ve *E. coli*'dir.

Türkiye'de değişik yıllarda yapılan çalışmalarda mastitislerden *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *Actinomyces pyogenes*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium bovis*, *Pasteurella multocida*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus* ve *Micrococcus spp.* en sık izole edilen bakteriyel etkenler olmuştur ^{13,27-29}. Bu çalışmada, incelenen 339 süt örneğinden KNS (%24.5), KPS (%20.9), mayalar (%12.1), *E. coli* (%9.3), *Streptococcus spp.* (%6.2), *Bacillus spp.* (%5.6), *Shigella spp.* (%3.5), *Pseudomonas spp.* (%2.6) ve diğer mikroorganizmalar (%2.4) identifiye edilmiştir. Mastitise neden olan mikroorganizmalar yöresel veya bölgesel farklılıklar gösterebildiğinden bakteri izolasyon oranları diğer araştırmacıların izolasyon oranları ile karşılaştırılmamıştır.

Koagülaz negatif stafilokokların eskiden derinin normal florasında bulunan zararsız etkenler olduğu düşünülürdü ancak günümüzde mastitise neden olan önemli fırsatçı patojenler oldukları bilinmektedir ³⁰. Bu çalışmada KNS'lar en sık izole edilen etkenler olmuştur. Özellikle KNS suşlarının tür düzeyinde doğru bir şekilde identifikasyonlarının yapılmasında sekans yönteminin faydalı ve pratik olduğu düşünülmektedir.

Türkiye'de mastitisli süt örneklerinde metisilin direncinin incelendiği farklı yıllarda yapılan çalışmalar bulunmaktadır ve bu çalışmalar arasında MRSA bulunmasında oransal açıdan farklılıklar bulunmaktadır. Ak ve ark. ¹³ İstanbul'da ve Güler ve ark. ¹⁴ Konya'da izole ettikleri mastitis orjinli stafilokok suşlarında oksasillin direnci

bulunmadığını bildirirlerken; Kireççi ve Çolak ¹⁶ Erzurum yöresinde metisilin dirençli 5 (%5.8) suş bildirmişlerdir. Metisilin direnci açısından en yüksek oranlar Aydın ilinde bildirilmiştir. Kırkan ve ark. ¹⁵ Aydın yöresinde yaptıkları çalışmada inceledikleri *S. aureus* suşlarında oksasillin direncinin %60; Türkyılmaz ve ark. ¹² ise yine aynı yörede yaptıkları çalışmada *S. aureus* suşlarında sefoksitin direncinin %17.2 olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise toplam 154 *Staphylococcus spp.* 6 KPS ve 10 KNS olmak üzere toplam 16 (%10.4) suş metisilin dirençli olarak belirlenmiştir.

Metisilin dirençli ve slaym oluşturan stafilokok suşlarının en önemli özellikleri çoklu antibiyotik dirençli olmalarıdır ^{3,4,7}. Bu aynı zamanda, MRSA infeksiyonlarındaki yüksek mortalitenin de nedenlerinden birisi olarak düşünülmektedir. Bu çalışmada metisilin dirençli 16 suşun hepsinde çoklu antibiyotik direncinin bulunduğu belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada metisilin direncinin slaym faktör yapan suşlarda daha fazla olduğu gözlenmiş ³¹; bazı çalışmalarda ^{32,33} ise bu çalışmada olduğu gibi metisilin direnci ve slaym oluşumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Bununla birlikte, Türkiye'de 2009 yılında yapılan bir çalışmada sağlıklı köpeklerde de MRSA kolonizasyon oranının yüksek olduğunu ve insan sağlığı için risk teşkil edebileceği bildirilmiştir ³⁴.

Sonuç olarak Aydın yöresinde sütçü ineklerde metisilin dirençli suşların görülmeye başlandığı, bu suşların bir kısmının slaym pozitif olduğu; bununla birlikte KPS ve KNS suşlarında slaym oluşumunun metisilin direncinde artışa yol açmadığı belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Hartman BJ, Tomas A: Low-affinity penicillin-binding protein associated with-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, 158, 513-516, 1984.

2. **Chambers HF:** Methicillin resistance in staphylococci: Molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*, 10, 781-791, 1997.
3. **Leonard FC, Markey BK:** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals: A Review. *Vet J*, 175, 27-36, 2008.
4. **Morgan M:** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and animals: zoonosis or humanosis. *J Antimicrob Chemoth*, doi: 10.1093/jac/dkn405, 2008.
5. **Chai H, Archambault M, Prescott JF:** 16S ribosomal RNA sequence-based identification of veterinary clinical bacteria. *J Vet Diagn Invest*, 15, 465-469, 2003.
6. **Telli M, Sümerkan B, Eşel D:** *Staphylococcus aureus*'ta metisilin direncinin belirlenmesinde sefoksitin disk, oksasilin disk, oksasilin agar tarama ve PB2a lateks testlerinin karşılaştırılması. *İnfek Derg*, 20, 93-96, 2006.
7. **Cengiz AS, Us E, Cengiz AT:** The clinical importance of slime production. *İnönü Univ Tıp Fak Derg*, 13, 193-197, 2006.
8. **Arciola CRA, Campoccia D, Baldassarri L, Donati ME, Pirini V, Gamberini S, Montanaro L:** Detection of biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* from implant infections. Comparison of a PCR-method that recognizes the presence of ica genes with two classic phenotypic methods. *J Biomed Mater Res A*, 76, 425-430, 2006.
9. **Grinholc M, Wegrzyn G, Kurlenda J:** Evaluation of biofilm production and prevalence of the icaD gene in methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients with nosocomial infections and carriers. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 50, 375-379, 2007.
10. **Juhász-Kaszanyitzky É, Jánosi S, Somogyi P, Dán Á, Bloois L G, Duijkeren E, Wagenaar JA:** MRSA transmission between cows and humans. *Emerg Infect Dis*, 13, 630-632, 2007.
11. **Rich M, Roberts L, Kearns AM:** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from companion animals. *Vet Microbiol*, 105, 313-314, 2005.
12. **Türkyılmaz S, Tekbiyık S, Oryasin E, Bozdoğan B:** Molecular epidemiology and antimicrobial resistance mechanisms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bovine milk. *Zoonoses Public Health*, 57, 197-203, 2010.
13. **Ak S, Horoz H, Ilgaz A:** Trakya bölgesinde sığır mastitislerinden sorumlu bulaşıcı ve çevresel bakteriyel etkenler ve antibiyotik duyarlılıkları. *Istanbul Univ Vet Fak Derg*, 26, 353-365, 2000.
14. **Güler L, Ok Ü, Gündüz K, Gülcü Y, Hadimli HH:** Antimicrobial susceptibility and coagulase gene typing of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine clinical mastitis cases in Turkey. *J Dairy Sci*, 88, 3149-3154, 2005.
15. **Kırkan Ş, Göksoy EÖ, Kaya O:** Identification and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci from bovine mastitis in the Aydın region of Turkey. *Türk J Vet Anim Sci*, 29, 791-796, 2005.
16. **Kireççi E, Çolak A:** Kuru dönem başlangıcında subklinik mastitisli ineklerden izole edilen stafilocok şuşlarında metisilin direnci. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 8, 98-100, 2002.
17. **Baştan A:** İneklerde Meme Hastalıkları. s. 25-78. Hatipoğlu Basım ve Yayım San. Tic. Ltd. Şti., Ankara, 2002.
18. **Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC:** Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. The Gram-positive cocci: Part-1: Staphylococci and related organisms. pp. 539-576. Lippincott, New York, USA, 1997.
19. **Sghir A, Antonopoulos D, Mackie RI:** Design and evaluation of a lactobacillus group-specific ribosomal RNA-targeted hybridization probe and its application to the study of intestinal microecology in pigs. *Syst Appl Microbiol*, 21, 291-296, 1998.
20. **Suau A, Bonnet R, Sutren M, Godon JJ, Gibson G, Collins MD, Dore J:** Direct rDNA community analysis reveals a myriad of novel bacterial lineages within the human gut. *Appl Environ Microbiol*, 65, 4799-4807, 1999.
21. **Freeman DJ, Falkiner FR, Keane CT:** New method for detecting slime producing by coagulase negative staphylococci. *J Clin Pathol*, 42, 872-874, 1989.
22. **Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M:** Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*, 45, 493, 1966.
23. **Anonim:** CASFM: Comite de l'antibiogramme de la Societe francaise de microbiologie: Communiqué, <http://www.sfm.asso.fr/nouv/general.php?pa=2>, Accessed: 16.06.2009.
24. **Anonim:** CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 15th informational supplement. Approved Standard M7-A9. Wayne, PA, USA, 2006.
25. **Sümbüloğlu V, Sümbüloğlu K:** Biyoistatistik. s. 156-174. Özdemir Yayıncılık, Ankara, 1993.
26. **Bradley AJ:** Bovine mastitis: An evolving disease. *Vet J*, 164, 116-128, 2002.
27. **Bayar S:** Süt örneklerinden staphylococcus ve streptococcus türlerinin izolasyonu, identifikasyonu ve antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv Fen Bil Enst Biyoloji AD, Kahramanmaraş, 2007.
28. **Gülcü HB, Ertaş HB:** Bacteriological investigation of udder lobes of cows with mastitis slaughtered in the Elazığ region. *Tr J Vet Anim Sci*, 28, 91-94, 2002.
29. **Tel OY, Keskin O, Zonturlu KA, Kaya NBA:** Şanlıurfa yöresinde subklinik mastitislerin görülme oranı, aerobik bakteri izolasyonu ve duyarlı antibiyotiklerin belirlenmesi. *Firat Üniv Sağ Bil Vet Derg*, 23, 101-106, 2009.
30. **Taponen S, Pyörala S:** Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis-not so different from *Staphylococcus aureus*? *Vet Microbiol*, 134, 29-36, 2009.
31. **Elçi S, Gül K, Özel F, Suay A, Mete Ö:** Koagülaz negatif stafilocoklarda makro ve mikro yöntemle "slaym" oluşumunun saptanması ve antibiyotik direncinin araştırılması. *İnfek Derg*, 10, 203-206, 1996.
32. **Çelik İ, Cihangiroğlu M, Çabalak M, Sevim E, Akbulut A, Kılış SS:** Hastane kaynaklı koagülaz negatif stafilocoklarda fosfamisin duyarlılığı ile metisilin direnci ve slaym yapımı arasında ilişki. *Ankem Derg*, 19, 139-143, 2005.
33. **Çelik İ, Cihangiroğlu M, Sevim E, Çabalak M, Akbulut A:** Sağlık çalışanlarının burunlarından izole edilen koagülaz pozitif ve koagülaz negatif stafilocoklarda metisilin direnci ve slaym pozitifliği. *Firat Tıp Derg*, 10, 123-126, 2005.
34. **Fındık A, Akan N, Onuk EE, Çakıroğlu D, Çiftçi A:** Methicillin resistance profile and molecular typing of *Staphylococcus aureus* strains isolated from noses of the healthy dogs. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15, 925-930, 2009.