

Yara Örneklerinden İzole Edilen Metisilin'e Dirençli *Staphylococcus Aureus* Suşlarında Virulans Genlerinin ve Klonal İlişkilerinin Araştırılması

Mert SUDAĞIDAN¹, Samet UÇAK², Orhan YAVUZ³, Mediha Nur Zafer YURT¹, Behiye Büşra TAŞBAŞI¹, Elif Esmâ ACAR¹, Veli Cengiz ÖZALP⁴, Ali AYDIN⁵, Şöhret AYDEMİR⁶

Öz

Amaç: *Staphylococcus aureus* insanlarda deri ve yara enfeksiyonlarına neden olan en önemli patojen bakterilerdendir. Metisilin'e dirençli *S. aureus* (MRSA) suşlarının yaralarda varlığı hastaların tedavisini zorlaştırmaktadır. Çalışmamızda yara sürüntülerinden izole edilen ve MRSA olarak tanımlanan suşların antibiyotik duyarlılıkları, virulans gen içerikleri ve suşlar arasındaki klonal ilişki araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Yara örneklerinden izole edilen suşlar biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle tanımlanmıştır. Suşların 12 antibiyotiğe karşı duyarlılıkları agar disk difüzyon yöntemi uygulanarak, indüklenebilir klindamisin direnci D-testi ile ve virulans gen içerikleri polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile belirlenmiştir. Suşlar arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesinde değişken alanlı jel elektroforezi (pulsed-field gel electrophoresis-PFGE) analizi uygulanmış, *SmaI* enzimi ile elde edilen band profillerinden dendrogram oluşturularak filogenetik analiz yapılmıştır.

Bulgular: Çalışmada 18 MRSA suşu tanımlanmış ve tümünün tetrasiklin, rifampin ve gentamisin'e karşı dirençli oldukları bulunmuştur. Buna karşın tüm suşların linezolid, trimetoprim-sülfametoksazol, kloramfenikol ve quinupristin/dalfopristin'e karşı ise duyarlı oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca 4 MRSA suşu indüklenebilir klindamisin direnci göstermiştir. PZR çalışmalarında tüm suşların *ermA* ve *spc-ermA* genlerini taşıdığı bulunmuştur. Diğer yandan *tetK*, *tetL*, *tetM*, *ermB*, *dfrK*, *vgaC*, *ermT*, *msrA* ve *msrB* genleri suşlarda tespit edilememiştir. *ileS*, *mrm* ve *spc* genleri suşların %94'ünde (17/18) ve *ermC* geni ise suşların %17'sinde (3/18) pozitif bulunmuştur. Sadece MRSA 50B suşu PVL geni taşıdığı tespit edilmiştir. PFGE analizinde izole edilen MRSA suşları arasında %100 ila %69.4 benzerlik olduğu filogenetik analiz ile ortaya konmuştur.

Sonuç: Yara sürüntülerinden izole edilen MRSA suşlarının farklı kökenlerden geldiği ve farklı antibiyotik direnci ve gen içeriklerine sahip olduğu tespit edilmiş ve yara enfeksiyonlarının

¹Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, KİT-ARGEM Araştırma Merkezi, Meram, Konya

²İstanbul Aydın Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

³Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Burdur

⁴Atılım Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

⁵İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul

⁶Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İZMİR

Yazışma adresi: Mert SUDAĞIDAN, Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, KİT-ARGEM Araştırma Merkezi, Melikşah Mah. Beyşehir Cad. No:9 Meram, Konya, Türkiye. Tel: 0332 2235376, e-posta: msudagidan@gmail.com, ORCID ID:0000-0002-3980-8344.

Geliş Tarihi: 21 Ağustos 2020 - Kabul Tarihi: 18 Eylül 2020

DOI: 10.17932/IAU.TFK.2018.008/tfk_v03i3004

tedavisinde suşların virulans özelliklerinin de değerlendirilmesinin son derece önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Yara, Virulans, Metisilin'e direnç, *Staphylococcus aureus*

Determination Virulence Genes and Clonal Relationships of Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* Strains Isolated from Wound Samples

Abstract

Objective: *Staphylococcus aureus* is one of the most important pathogenic bacteria that cause skin and wound infections in humans. The presence of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) strains in wounds makes the treatment of patients difficult. In this study, the antibiotic susceptibilities, virulence gene contents and clonal relationships among MRSA strains isolated from wounds were investigated.

Materials and Methods: The strains isolated from wound samples were identified by biochemical and molecular methods. The susceptibility of the strains against 12 antibiotics was determined using agar disk diffusion method, inducible clindamycin resistance by D-test and virulence gene contents by polymerase chain reaction (PCR). Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) analysis was applied to determine the clonal relationships among the strains, phylogenetic analysis was performed by creating a dendrogram from the band patterns obtained with *SmaI* enzyme.

Results: The results showed that 18 MRSA strains were identified and all strains were found to be resistant to tetracycline, rifampin and gentamicin. On the other hand, all strains were found to be susceptible to linezolid, trimethoprim-sulfamethoxazole, chloramphenicol and quinupristin/dalfopristin. In addition, 4 MRSA strains showed inducible clindamycin resistance. In PCR experiments, it was found that all strains carry *ermA* and *spc-ermA* genes. Whereas, *tetK*, *tetL*, *tetM*, *ermB*, *dfrK*, *vgaC*, *ermT*, *msrA* and *msrB* genes were not detected. *ileS*, *mrm* and *spc* genes were found positive in 94% (17/18) of the strains and the *ermC* gene in 17% (3/18) of the strains. Only MRSA 50B strain was found to carry the PVL gene. Phylogenetic analysis revealed that there was 100% to 69.4% similarity between the MRSA strains in the PFGE analysis.

Conclusion: MRSA strains isolated from wound swabs came from different origins and had different antibiotic resistance and gene contents, and it was concluded that it is extremely important to evaluate the virulence properties of the strains in the treatment of wound infections.

Keywords: Wound, Virulence, Methicillin resistance, *Staphylococcus aureus*

Giriş

Staphylococcus aureus insanların deri ve mukozalarında flora bakterisi olması yanında ciddi enfeksiyonlara yol açabilen en önemli fırsatçı patojen bakterilerdendir (1). 2017 yılında ABD'de 119.247 *S. aureus* kaynaklı kan dolaşımı enfeksiyonu rapor edilirken, 19.832 vaka ölümle sonuçlanmıştır (2). Hastane enfeksiyonlarında özellikle cerrahi yara ve deri üzerinde enfeksiyonlarına yol açan *S. aureus* suşlarının yanı sıra *S. aureus* suşlarının ürettiği eksfoliyatif toksinlerin neden olduğu soyulmuş deri sendromu ve Panton-Valentine Lökosidin

(PVL) toksinlerinden kaynaklı nekrotizan pnömoni hayati risk oluşturabilmektedir (3). Metisilin'e dirençli *S. aureus* (MRSA) suşları toplum kaynaklı ve hastane kaynaklı olarak iki gruba ayrılmaktadır. Toplum kaynaklı MRSA vakaları hastanede tedavi görmemiş kişilerde, gençlerde, kalabalık topluluklar halinde bulunan kişilerde, sporculara ve spor salonlarında görülebilmektedir. Toplum kaynaklı MRSA enfeksiyonları çoğunlukla deri ve yumuşak doku enfeksiyonları olarak karşımıza çıkmakta ve özellikle staphylococcal cassette chromosome (SCC)*mec* tip IV veya

V kaset genlerini içerdikleri ve PVL geni taşıdıkları belirtilmektedir (4). Sağlık bakımı ile ilişkili enfeksiyonların %10'unu deri ve yumuşak doku enfeksiyonları oluşturmaktadır (5). Hastane kaynaklı MRSA enfeksiyonları genellikle çoklu ilaç direnci gösterirken SCCmec tip I, II ve III kasetini içerdikleri görülmüştür (6).

Çalışmamızda yara sürüntü örneklerinden izole edilen stafilokokların 12 antibiyotiğe karşı direnç profilleri, indüklenebilir klindamisin direnci, antibiyotik direnci ve virulanstan sorumlu genlerin varlığı ve izole edilen MRSA suşları arasındaki klonal ilişki PFGE yöntemi ile araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Stafilokokların izolasyonu

Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi hastanesine başvuran hastalardan alınan yara sürüntü örneklerinden izole edilen bakterilerden ve temel biyokimyasal testlerle (Gram boyanma, katalaz ve koagülaz testleri) stafilokok olarak tanımlanan bakteriler alınarak çalışmaya dahil edilmiştir. Bakterilerin tür düzeyinde tanımlanmaları PZR tabanlı yöntemle gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla saflaştırılan ve -80°C'de stoklanan bakterilerden 1 gece 37°C'de 5 mL triptik soy buyyon (TSB, Oxoid) içerisinde üretilen suşlardan genomik DNA izolasyonu Sudagidan ve ark. tarafından önerilen yöntemle gerçekleştirilmiştir (7). Elde edilen genomik DNA örnekleri PZR çalışmalarında kalıp DNA olarak kullanılmış ve *S. aureus* *nuc*, *coa* ve *spa* genlerinin varlığı suşlarda bu genlere özgü primerler kullanılarak taranmıştır (8,9,10). Elde edilen PZR ürünleri %1.5 1×TAE agaroz jelinde yürütülerek görüntülenmiştir. PZR deneylerinde *S. aureus* ATCC 25923 ve MRSA ATCC 43300 suşlarına ait genomik DNA pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Antimikrobiyal duyarlılık testi

İzole edilen *S. aureus* suşlarının antimikrobiyal duyarlılık testleri 2020 yılına ait Clinical

and Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarına göre agar disk difüzyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (11). Çalışma kapsamında penisilin G (10 U), sefoksitin (30 µg), linezolid (30 µg), eritromisin (15 µg), tetrasiklin (30 µg), rifampin (5 µg), gentamisin (10 µg), klindamisin (2 µg), kloramfenikol (30 µg), siprofloksasin (5 µg), trimetoprim-sülfametoksazol (23.75/1.25 µg) ve quinupristin/dalfopristin (15 µg) (Oxoid) antibiyotik diskleri kullanılmıştır. *S. aureus* ATCC 25923 suşu kontrol olarak kullanılmıştır. Mueller-Hinton agar (Oxoid) üzerine inoküle edilen suşlar diskler yerleştirildikten sonra 35°C'de 18-24 saat inkübe edilmiş ve zone çapları ölçülerek direnç profilleri CLSI (2020) standartları ile karşılaştırılarak çıkarılmıştır.

D-test

S. aureus suşlarında indüklenebilir klindamisin direncinin tespitinde D-test yöntemi kullanılmıştır (12). Triptik soy agar üzerinde üretilen suşlardan %0.9 NaCl içeren tüplerde McFarland 0.5 yoğunluğunda bakteri süspansiyonu hazırlanmış ve Mueller-hinton agar yüzeyine eküvyon yardımıyla inoküle edilmiştir. Eritromisin (15 µg) ve klindamisin (2 µg) diskleri birbirinden 17 mm uzaklıkta olacak şekilde yerleştirilmiş ve 35°C'de 18 saat inkübasyon ardından D şeklinde oluşan indüklenebilir klindamisin direnci gözlemlenmiştir.

Virulans genlerinin PZR ile tespiti

S. aureus suşlarında metisilin direncinden sorumlu *mecA* geni (13), Panton Valentine Lökosidin toksini üretiminden sorumlu PVL geni (14), mupirosin direnci ile ilişkili native isoleucyl-tRNA synthetases ile *S* ve *mrm* genleri (15), makrolid, linkozamid ve streptogramin direncinden sorumlu *ermABC*, *msrA* ve *msrB* genleri (16), tetrasiklin direncinden sorumlu *tetK*, *tetL* ve *tetM* genleri (17,18), *spc-ermA*, trimetoprin direncinden sorumlu *dfrK*, makrolid, linkozamid ve streptogramin A direncinden sorumlu *vgaC*, makrolid, linkozamid ve streptogramin B

direncinden sorumlu ermT, spektinomisin direncinden sorumlu spc geni (18) PZR yöntemiyle ilgili genlere özgü primerler kullanılarak araştırılmıştır. Elde edilen PZR ürünleri agaroz jel elektroforez yöntemi ile ayrıştırılmış ve amplikon boyutları marker DNA ile karşılaştırılarak istenilen gen bölgesinin çoğaltılıp çoğaltılmadığı tespit edilmiştir. PVL geni bakımından pozitif bulunan suşlarda, lukPV-S ve lukPV-F gen bölgelerinden oluşan PVL geninin tüm dizisi Sanger DNA dizileme ile çıkarılmıştır (19).

Değişken Alanlı Jel Elektroforezi (PFGE)

Çalışma kapsamında izole edilen *S. aureus* suşları arasındaki klonal ilişkilerin belirlenmesinde ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri (CDC) tarafından önerilen altın standart yöntem olan PFGE kullanılmıştır. Bu amaçla *S. aureus* suşları 10 mL TSB içerisinde 37°C'de bir gece inkübe edilmiş ve Durmaz ve ark. önerdiği protokol takip edilerek agaroz kalıpları hazırlanmıştır (20). Restriksiyon enzimi ile kesim öncesi agaroz kalıplarından ¼ oranında küçük parçalara ayrılmış ve 30U *Sma*I (Thermo) ile 1 gece boyunca 30°C'de kesime bırakılmıştır. Elektroforez için 0.5×TBE tamponu içerisinde %1'lik PFGE-grade agaroz (Bio-Rad) jeli hazırlanmış ve kesimden alınan agaroz plakları jele yerleştirilmiştir. PFGE jeli 5-40 saniye vuruş süresi, 6 V/cm akım, 14°C sıcaklık uygulanarak CHEF-DR II (Bio-Rad) sisteminde 22 saat elektroforez edilmiştir. Elektroforez sonrasında PFGE jeli 0.5 µg/mL etidyum bromür içeren 500 mL steril deiyonize su içinde 30 dakika orbital çalkalayıcıda karıştırılarak boyanmış, daha sonra 500 mL steril deiyonize su ile tekrar 2 saat destaining işlemi için orbital çalkalayıcıda yıkanmıştır. DNA band görüntüleri alınmış ve BioNumerics 7.6 (Applied Maths, Belçika) yazılımı kullanılarak dendrogram oluşturulmuştur. Filogenetik analiz için dendrogram çiziminde Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) benzerlik katsayısı ve %1.5 band toleransı, %0.5 optimizasyon ve %80

degeneracy cutoff değerleri kullanılmıştır.

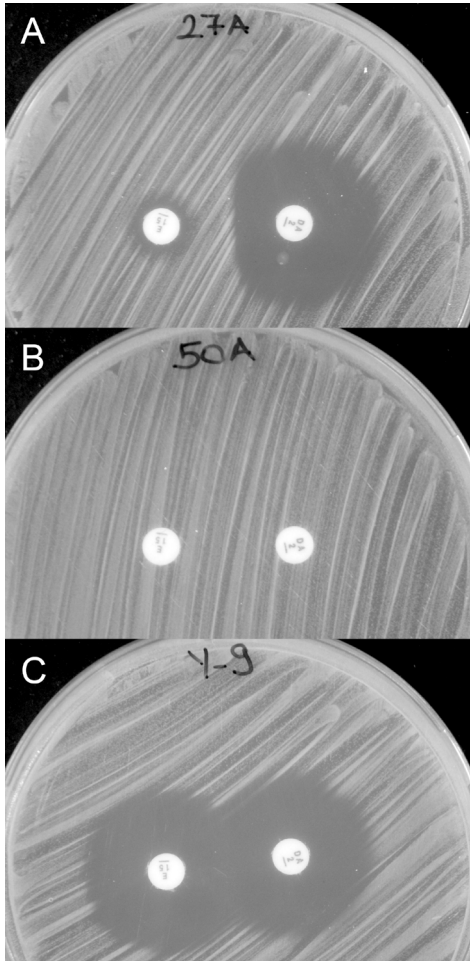
Bulgular

Çalışma kapsamında yara örneklerinden elde edilen bakteriler arasından izole edilen, *nuc*, *coa* ve *spa* genlerini taşıyan 18 *S. aureus* suşu tespit edilmiştir. Tüm suşların sefoksitin'e karşı dirençli ve mecA geni bakımından pozitif bulunmuş ve MRSA olarak tanımlanmıştır. MRSA olarak tanımlanan suşlar penisilin'e doğal dirençlidir. Antibiyotik duyarlılık testlerinde tüm suşların tetrasiklin, rifampin ve gentamisin'e karşı dirençli oldukları bulunmuştur. Buna karşın tüm suşların linezolid, trimetoprim - sülfametoksazol, kloramfenikol ve quinupristin / dalfoipristin'e karşı duyarlı oldukları tespit edilmiştir. *S. aureus* suşlarının %94'ü (17/18) siprofloksasin'e karşı dirençli bulunurken, suşların %39 (7/18) eritromisin, %17'si (3/18) ise klindamisin'e karşı dirençli bulunmuştur. Suşların %22'si (4/18) eritromisin'e karşı ve %11'i (2/18) klindamisin'e karşı orta dirençli (intermediate resistance) olduğu agar disk difüzyon testi sonucunda tespit edilmiştir.

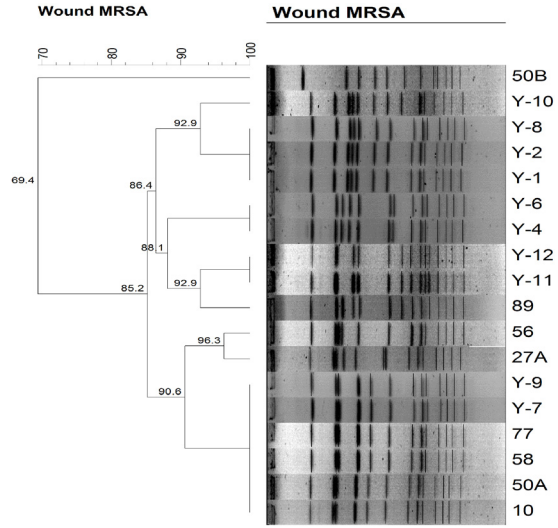
D-test sonucunda 4 suşun (*S. aureus* 56, 89, 27A ve Y-1) indüklenebilir klindamisin direnci gösterdiği tespit edilmiş ve 3 suşun (*S. aureus* 50A, Y-11 ve Y-12) her iki antibiyotiğe karşı dirençli olduğu görülmüştür (Şekil 1).

Antibiyotik direncinden sorumlu genlerin PZR ile araştırılmasında tüm suşların tetM, ermA ve spc-ermA genlerini taşıdığı bulunmuştur. Diğer yandan tetrasiklin direncinden sorumlu tetK ve tetL genleri ile ermB, dfrK, vgaC, ermT, msrA ve msrB genleri suşlarda tespit edilememiştir. ileS, mrm ve spc genleri suşların %94'ünde (17/18) ve ermC geni ise suşların %17'sinde (3/18) pozitif bulunmuştur. Tüm suşlar içerisinde sadece MRSA 50B suşu PVL geni bakımından pozitif bulunmuştur. PVL geninin 1918 bazlık tüm DNA dizisi Sanger DNA dizileme yöntemi ile çıkarılarak GenBank'ta KM588922 accession number ile yayınlanmıştır.

Yara kaynaklı MRSA suşları arasındaki klonal ilişkinin PFGE analizi ile incelenmesinde *S. aureus* 10, 50A, 58, 77, Y-7 ve Y-9 suşlarının, Y-11 ve Y12 suşlarının, Y-4 ve Y-6 suşlarının, Y-1, Y-2 ve Y-8 suşlarının %100 homoloji gösterdiği band profillerinden elde edilen dendrogram incelendiğinde görülmüştür (Şekil 2). PVL pozitif MRSA 50B suşunun ise diğer 17 MRSA suşundan farklı band profiline sahip olduğu ve diğer suşlarla benzerliğinin %69.4 olduğu bulunmuştur. Diğer MRSA suşları arasındaki benzerliğin %96.3 ile %85.2 arasında olduğu PFGE analizi ile tespit edilmiştir (Şekil 2).



Şekil 1. MRSA suşlarında indüklenebilir klindamisin direncinin D-test yöntemi ile belirlenmesi. A: D-test pozitif suş *S. aureus* 27A, B: klindamisin ve eritromisin'e dirençli suş *S. aureus* 50A, C: klindamisin ve eritromisin'e duyarlı suş *S. aureus* Y-9.



Şekil 2. PFGE analizi ile MRSA suşları arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesi. Filogenetik analiz sonucunda elde edilen dendrogram MRSA suşları arasındaki yüzde homolojileri göstermektedir.

Tartışma ve Sonuç

Dünya genelinde *S. aureus* deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında en sık görülen bakteridir ve bunu β -hemolitik streptokoklar, *E. coli* ve *P. aeruginosa* izlemektedir (21). *S. aureus* veya *P. aeruginosa* orjinli deri enfeksiyonları invaziv enfeksiyonlara neden olarak sepsise de yol açabilmektedirler (22,23). Hastane ve toplum kaynaklı MRSA suşlarının hızla artışı hastanede kalış sürelerinin uzamasına ve ekonomik kayıplara neden olması yanında ciddi sayıda can kaybının nedeni olabilmektedir. Kontamine yüzeyler ve araç gereç de nozokomiyal enfeksiyonların yayılımında büyük rol oynamaktadır (24). Özellikle kontamine veya iyi sterilize edilmemiş dövme ekipmanlarının da deride MRSA yaralarına neden olduğu bildirilmiştir (25). Udobi ve ark. yaptıkları çalışmada hastanede yatan hastalardan ve yara örneklerinde izole ettikleri *S. aureus* suşlarını incelediklerinde, yara kaynaklı suşların %75'i, deri kaynaklı suşların %51.4'ü ve hasta yataklarından elde edilen suşların %73.85'i MRSA olarak tanımlanmıştır (26). Lai ve ark. 2004-2016 yılları arasında 6 Afrika ülkesinde antibiyotiklere dirençli yara enfeksiyonları üzerine yaptıkları çalışmada en yüksek

MRSA oranını (%34.6) Benin ve (%31.9) Kongo'da tespit ederken, en düşük MRSA oranları ise (%14.5) Madagaskar ve (%14.3) Togo'da elde edilmiştir (27). Acquisto ve ark. yaptıkları çalışmada yara sürüntüleri ile burun boşluğundan alınan sürüntü örneklerindeki MRSA varlığını karşılaştırmışlardır. Çalışmada yara örneklerinden %59.5 oranında *S. aureus* izole edilirken bunların %75.4'ü MRSA olarak belirlenmiştir. Burun boşluğu örnekleme yapılan 30 hastadan %25.9'u MRSA pozitif bulunmuştur (28). Viquez-Molina ve ark. diyabetik ayak enfeksiyonu geçiren hastalar (n: 379) üzerinde yaptıkları çalışmada 101 yara örneğinde *S. aureus* tespit etmişler ve bunların 35 adedi mecA geni ve 4 adedi PVL geni bakımından pozitif olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar MRSA yara enfeksiyonuna sahip diyabetik ayak hastalarının iyileşme sürelerinin daha uzun olduğunu belirtmişlerdir (29). Diğer bir çalışmada ise Pardos de la Gandara ve ark. deri ve yumuşak doku enfeksiyonuna sahip 129 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada 63'ü *S. aureus* pozitif ve 39'u MRSA olarak tespit edilmiştir. 46/63 *S. aureus* suşu ise PVL geni taşıdığı belirlenmiştir (30).

Çalışmamızda antibiyotik duyarlılık testleri ile gen içerikleri arasında uyum olduğu görülmüştür. Sefoksitin dirençli tüm suşların mecA genini ve tetrasiklin dirençli tüm suşların tetM genini taşıdıkları diğer yandan tetrasiklin direncinden sorumlu tetK ve tetL genlerini içermedikleri belirlenmiştir.

İnsanların derilerinde ve özellikle ellerinde bulunan yaraların gıda işleme işlemleri sırasında gıdalara bulaştırılması ve gıdalar aracılığı ile diğer insanlara bulaştırılması toplum sağlığı açısından da büyük önem arz etmektedir. Daha önceki yapılan çalışmada gıda kaynaklı *S. aureus* suşlarında PVL geni varlığı saptanmış (19) ve bu suşların tavşan deneylerinde nekrotize pnömoni yaptığı ortaya çıkarılmıştır (31). Toksin genlerini taşıyan ve toksin üreten özellikle çoklu direnç gösteren *S. aureus* suşlarının yaralardan yüzeylere, gıdalara

ve direkt temas ile diğer insanlar arasında bulaşması dirençli MRSA suşlarının hızla yayılmasına neden olabilmektedir. Özellikle el hijyeninin önemi ve kontamine ekipmanların doğru ve yeterli süre ile dezenfekte edilmesi MRSA gibi dirençli bakterilerin yayılmasının azaltılmasında önem arz etmektedir.

*Çalışmamızın çıkar çatışması ve maddi desteği yoktur.

*Çalışmamızın sadece antibiyotik duyarlılık kısmı IUMS-2008 (İstanbul) kongresinde poster bildirisi olarak sunulmuştur.

KAYNAKLAR

1. Tong SYC, Davis JS, Eichenberger E, et al. *Staphylococcus aureus* infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical Microbiology Reviews* 2015; 28(3): 603-61.
2. Kourtis AP ve ark. Vital Signs: Epidemiology and Recent Trends in Methicillin-Resistant and in Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Blood stream Infections-United States. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 2019; 68(9): 214-9.
3. Labandeira-Rey M, Couzon F, Boisset S, et al. *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidincauses necrotizing pneumonia. *Science* 2007; 315: 1130-3.
4. Otter JA, French GL. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: The case for a genotypic definition. *Journal of Hospital Infection* 2012; 81: 143-8.
5. Reducing Healthcare Associated Infection in Hospitals in England. 12 June 2009. National Audit Office. <https://www.nao.org.uk/report/reducing-healthcare-associated-infections-in-hospitals-in-england/>
6. Palavecino EL. Clinical, Epidemiologic, and Laboratory Aspectsof Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections.

- Yinduo Ji (ed.), Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Protocols, Methods in Molecular Biology 2014; 1085:1-24.
7. Sudagidan M, Çavuşoğlu C, Bacakoğlu F. Investigation of the virulence genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from biomaterial surfaces. Mikrobiyoloji Bülteni 2008; 42: 29-39.
 8. Sudagidan M, Aydın A. Screening virulence properties of staphylococci isolated from meat and meat products. Veterinay Medicine Austria/Wiener Tierärztliche Monatsschrift 2009; 96: 128-34.
 9. Hookey JV, Richardson JF, Cookson BD. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on PCR restriction fragment length polymorphism and DNA sequence analysis of the coagulase gene. Journal of Clinical Microbiology 1998; 36: 1083-9.
 10. Aires-de-Sousa M, Boye K, de Lencastre H, et al. High inter laboratory reproducibility of DNA sequence-based typing of bacteria in a multicenter study. Journal of Clinical Microbiology 2006; 44: 619-21.
 11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 2020; 30th International Ed. document M100, Pennsylvania, USA.
 12. Levin TP, Suh B, Axelrod P, et al. Potential clindamycin resistance in clindamycin-susceptible, erythromycin-resistant *Staphylococcus aureus*: Report of a clinical failure. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2005 ;49(3): 1222-4.
 13. Lem P, Spiegelman J, Toyne B, Ramotar K. Direct detection of mecA, nuc and 16S rRNA genes in BacT/Alert blood culture bottles. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2001; 41(3): 165-8.
 14. Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. Clinical Infectious Diseases 1999; 29: 1128-32.
 15. Seah C, Alexander DC, Louie L, et al. MupB, a New High-Level Mupirocin Resistance Mechanism in *Staphylococcus aureus*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2012; 56(4): 1916-20.
 16. Lina G, Quaglia A, Reverdy M-E, et al. Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides and streptogramins among staphylococci. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1999; 43(5): 1062-6.
 17. Weigel LM, Donlan RM, Shin DH, et al. High-Level Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates Associated with a Polymicrobial Biofilm. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2007; 51(1): 231-8.
 18. Feßler A, Scott C, Kadlec K, et al. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from cases of bovine mastitis. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2010; 65: 619-25.
 19. Sudagidan M, Aydın A. Virulence properties of methicillin-susceptible *S. aureus* food isolates encoding Panton-Valentine Leukocidin gene. International Journal of Food Microbiology 2010; 138: 287-91.
 20. Durmaz R, Otlu B, Çalışkan A, Gürsoy N. *Acinetobacter baumannii*, *Escherichiacoli* ve *Klebsiella* türlerinin moleküler tiplendirmesinde kullanılacak kısa süreli “pulsed-field gel” elektroforez (PFGE) protokolü. ANKEM Dergisi 2007; 21: 113-7.
 21. Pfalzgraff A, Brandenburg K, Weindl G. Antimicrobial peptides and their therapeutic potential for bacterial skin infections and wounds. Frontiers in Pharmacology 2018; 9: 281.
 22. Thangamani S, Nepal M, Chmielewski

- J, Seleem MN. Antibacterial activity and therapeutic efficacy of F1-P(R)P(R)P(L)-5, a cationic amphiphilic polyproline helix, in a mouse model of staphylococcal skin infection. *Drug Design, Development and Therapy* 2015; 9: 5749-54.
23. Guillamet CV, Kollef MH. How to stratify patients at risk for resistant bugs in skin and soft tissue infections? *Current Opinion in Infectious Diseases* 2016; 29: 116-23.
24. Russotto V, Cortegiani AC, Fasciana T, et al. What healthcare workers should know about environmental bacterial contamination in the intensive care unit. *BioMed Research International* 2017; 6905450.
25. Long T ve ark. Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* Skin Infections Among Tattoo Recipients-Ohio, Kentucky, and Vermont, 2004-2005. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)* 2006; 55(24): 677-9.
26. Udobi CE, Obajuluwa AF, Onaolapo JA. Prevalence and antibiotic resistance pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from an orthopaedic hospital in Nigeria. *BioMed Research International* 2013; 860467.
27. Lai PS, Bebell LM, Meney C, et al. Epidemiology of antibiotic-resistant wound infections from six countries in Africa. *BMJ Global Health* 2018; 2: e000475.
28. Acquisto NM, Bodkin RP, Brown JE, et al. MRSA nares swab is a more accurate predictor of MRSA wound infection compared with clinical risk factors in emergency department patients with skin and soft tissue infections. *Emergency Medicine Journal* 2018; 35(6): 357-60.
29. Viquez-Molina G, Aragón-Sánchez J, Pérez-Corrales C, et al. Virulence factor genes in *Staphylococcus aureus* isolated from diabetic foot soft tissue and bone infections. *The International Journal of Lower Extremity Wounds* 2018; 17(1): 36-41.
30. Pardos de la Gandara M, Raygoza Garay JA, Mwangi M, et al. Molecular types of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-sensitive *S. aureus* strains causing skin and soft tissue infections and nasal colonization, identified in community health centers in New York City. *Journal of Clinical Microbiology* 2015; 53: 2648-58.
31. Yildirim F, Aydın A, Akyazi İ, et al. Expression of IL-6, IL-8, IL-10 ve TNF- α in a pneumonia model induced by foodborne *Staphylococcus aureus* producing Pantovallentine leukocidin toxin. 9. Uluslararası Katılımlı Veteriner Patoloji Kongresi, 25-28 Ekim 2018, sayfa 29-30.