

İnsanda Saptanan Çiftlik Hayvanları ile İlişkili *Staphylococcus aureus* ST398'in Virülans ve Direnç Genlerinin In Silico Analizi

In Silico Analysis of Virulence and Resistance Genes of Livestock-Associated *Staphylococcus aureus* ST398 Detected in Humans

Mehmet DEMİRCİ¹ , Akın YIĞIN² , Fadile YILDIZ ZEYREK³ 

¹Kırklareli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kırklareli, TÜRKİYE

²Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Şanlıurfa, TÜRKİYE

³Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, TÜRKİYE

Öz.

Amaç: *Staphylococcus aureus* ST398 kökenleri çiftlik hayvanları ile ilişkili tanımlanan ilk klonal kökenlerdir ve bu kökenlerin, tüm dünyada hızla yayılması nedeniyle bu klon özel bir yer edinmiştir. Bizde bu nedenle çalışmamızda, insan enfeksiyonlarında saptanan ve açık veritabanlarında gen dizimimleri bulunan LA-MRSA ST398 ve LA-MSSA ST398 kökenleri, hayvanlardan izole edilen LA-MRSA ST398 ve insan enfeksiyonları ile ilişkili standart MSSA ve MRSA kökenleri ile virülans ve antimikrobiyal direnç gen belirteçleri açısından in silico olarak karşılaştırmayı amaçladık.

Materyal ve Metod: Çalışmamızda incelenen kökenler, insanlarda saptanan ve tüm genom analizleri yapılarak açık veritabanlarına yüklenen gen dizimimleri bulunan 2 LA-MRSA ST398 ve 2 LA-MSSA ST398'dir. Bu kökenleri karşılaştırmak amacıyla, hayvandan izole edilmiş LA-MRSA ST398 ve insan enfeksiyonlarıyla ilişkili MSSA ve MRSA kökenleri incelendi. CSI filogeni, CARD ve VFalyzer online yazılımları sırasıyla evrimsel benzerlik, antimikrobiyal direnç genleri ve virülans faktörlerini karşılaştırmak için kullanıldı.

Bulgular: İnsan kaynaklı LA-MRSA ST398 ve LA-MSSA kökenlerinin filogeni benzerliği sırasıyla %98.1 ve %94.6 tespit edildi. LA-SA-ST398 kökenlerinin tümünde, makrolid-linkozamid-streptogramin ve eritromisin direnç genleri ön planda saptanırken, LA-MRSA ST398 kökenlerinde buna tetM gibi tetrasiklin eklenmiş olarak bulundu. ST398 kökenlerinde bağlanma ve enzim işlevi ile ilişkili bazı virülans faktörlerinin aktif olmadığı tespit edildi.

Sonuç: Sonuç olarak çalışmamızda incelenen insan kaynaklı çiftlik hayvanları ile ilişkili MRSA ve MSSA ST398 kökenlerinde bağışıklıktan kaçış ile ilişkili virülans faktörlerine aktive ettiği, bazı toksin virülans faktörlerini ise kullanmadığı saptandı. Bu kökenlerin geliştirdikleri hastalıkların patogenezlerini anlayabilmek için elde edilen verilerin yeni gelişen moleküler tekniklerle incelenmesinin epidemiyolojik olarak avantaj kazandıracakı kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: *Staphylococcus aureus*, ST398, In silico analiz, Virülans genleri, Direnç genleri

Abstract

Background: *Staphylococcus aureus* ST398 strains are the first clonal strains identified in relation to livestock and this clone has gained a special place due to the rapid spread of these strains all over the world. Therefore, in our study, we aimed to compare in silico the LA-MRSA ST398 and LA-MSSA ST398 strains detected in human infections and with gene sequences in open databases, LA-MRSA ST398 isolated from animals and standard MSSA and MRSA strains associated with human infections in terms of virulence and antimicrobial resistance gene markers.

Materials and Methods: The strains examined in this study were 2 LA-MRSA ST398 and 2 LA-MSSA ST398, which have gene sequences detected in humans and uploaded into open databases by whole genome analysis. To compare these strains, MSSA and MRSA strains associated with human infections and LA-MRSA ST398 isolated from the animal were used. CSI phylogeny, CARD and VFalyzer online software were used to compare evolutionary similarity, antimicrobial resistance genes and virulence factors, respectively.

Results: Evolutionary similarity of human-derived ST398 LA-MRSA and LA-MSSA strains were detected in 98.1% and 94.6%, respectively. Especially macrolide-lincosamide-streptogramin and erythromycin resistance genes were found in all LA-SA-ST398 strains, while tetracycline such as tetM was added to it in LA-MRSA ST398 strains. Some virulence factors associated with binding and enzyme function were found to be inactive in ST398 strains.

Conclusion: As a conclusion, it was determined that human derived LA-MRSA and LA-MSSA ST398 strains activated the virulence factors related with immun evasion, and did not use toxins as a virulence factor. In order to understand the pathogenesis of the diseases developed by these strains, we believe that analyzing the available data with newly developed molecular techniques will provide an epidemiological advantage.

Key Words: *Staphylococcus aureus*, ST398, In silico analysis, Virulence genes, Resistance genes

Sorumlu Yazar/Corresponding Author

Dr. Mehmet DEMİRCİ

Kırklareli Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
Kırklareli, TÜRKİYE

E-mail: demircimehmet@hotmail.com

Geliş tarihi / Received: 27.04.2021

Kabul tarihi / Accepted: 17.06.2021

DOI: 10.35440/hutfd.929003

Giriş

Staphylococcus aureus, hem insanların ve hemde birçok hayvan türünün farklı flora alanlarında yaygın olarak bulunabilen kommensal bir bakteridir (1). Kommensal bir bakteri olmasının yanında, *S. aureus*, kan dolaşımına veya dokular gibi önemli alanlara geçiş fırsatı bulursa, hem insanlar ve hemde hayvanlar için fırsatçı bir patojen olabilecek önemli bir tür olarak da kabul edilir (2). *S. aureus* kişiden kişiye temas yoluyla yayılabildiği gibi, çiğ etler dahil olmak üzere hayvanlarla veya hayvansal ürünlerle doğrudan temas yoluyla zoonotik olarak da bulaşabilir (1). Bulaş sonrası, *S. aureus* kökenleri basit enfeksiyonlardan, hayatı tehdit edebilecek ağır enfeksiyonlara kadar farklı şiddette gelişebilecek enfeksiyonlarda etken olarak saptanabilir (2). 1961 yılında metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşlarının tespitinden sonra bu kökenler dünya çapında önemli bir sorun haline gelmiştir ve halen günümüzde de bu suşlar en yaygın nozokomiyal patojenlerden birisi olarak kabul edilmektedir (3). Bazı MRSA kökenleri, çiftlik hayvanlarıyla ilişkili MRSA (LA-MRSA) olarak bilinir ve çeşitli hayvanlarda kolonize olarak, bu hayvanlarda hastalıklara neden olabilir. LA-MRSA kökenleri son on yıllık dönemde insanlarda giderek artan sayıda tanımlanmıştır. Bu kökenleri insanlarda çok ciddi hastalıklar ve hatta ölümlerle ilişkilendirilen çok sayıda yayın bildirilmektedir. MRSA sekans tip (ST)398 veya klonal küme (CC)398, LA-MRSA olarak tanımlanan ilk kökenlerdir (4). *S. aureus*, kökenleri içinde ST398 klonunun, tüm dünyaya hızla yayılması nedeniyle bu bakteri klonu araştırmacılar açısından özel bir yer edinmiştir. Özellikle ST398 klonu varlığı belirlenen çiftlik hayvanları ile ilişkili metisilin dirençli *S. aureus* kökenleri, (LA-MRSA ST398) ve insanlarla ilişkili çiftlik hayvanları ile ilişkili metisiline duyarlı *S. aureus* (LA-MSSA ST398) kökenleri olarak iki gruba ayrılarak ayrıntılı araştırılmaya çalışılmaktadır (5). Ayrıca son yıllarda çiftlik hayvanlarıyla ilişkili olmaksızın insanlarda saptanabilen, insana adapte olma yeteneği olan ST398 MRSA (HO-MRSA ST398) kökenlerinin varlığının ortaya çıkması, bu kökenlere olan ilgiyi arttırmıştır (6). Bu kökenlerin karşılaştırmalı virülans, adaptasyon mekanizmaları ve antibiyotik direnç belirteçleri ile ilgili bilgiler kısıtlıdır (7). Bizde bu nedenle çalışmamızda, insan enfeksiyonlarında saptanan ve açık veritabanlarında gen dizimleri bulunan LA-MRSA ST398 ve LA-MSSA ST398 kökenleri, hayvanlardan izole edilen LA-MRSA ST398 ve insan enfeksiyonları ile ilişkili ST398 olmayan standart MSSA ve MRSA kökenleri ile virülans ve antimikrobiyal direnç gen belirteçleri açısından in silico olarak karşılaştırmayı amaçladık.

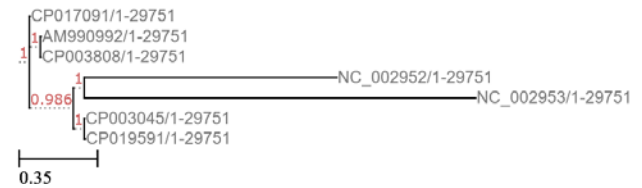
Materyal ve Metod

Çalışmamızda incelenen kökenler insanlarda saptanan ve tüm genom analizleri yapılarak açık veritabanlarına yüklenen gen dizimleri bulunan 2 LA-MRSA ST398 (gen bankası erişim numaraları:AM990992 (8), CP003808 (9)) ve 2 LA-MSSA ST398 (gen bankası erişim numaraları: CP003045 (10), CP019591(11)) kökenleridir. Bu kökenlere

ait genomik veriler NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) veritabanından indirilerek çalışmaya dahil edildi. Bu kökenleri karşılaştırmak amacıyla ayrıca hayvandan izole edilmiş LA-MRSA ST398 (gen bankası erişim numarası: CP017091 (12)), insan enfeksiyonları ile ilişkili ST398 olmayan MSSA (gen bankası erişim numarası:NC_002953 (13)) ve ST398 olmayan MRSA kökenlerine (gen bankası erişim numarası: NC_002952(13)) ait genomik verilerde çalışmamıza katıldı. Kökenlerin birbirleri ile evrimsel benzerlikleri veya yakınlıkları CSI filogeni yazılımı ile (<https://www.genomicepidemiology.org/>) gerçekleştirildi (14). Kökenlerde bulunan antimikrobiyal direnç belirteçlerinin varlığı CARD (<https://card.mcmaster.ca/home>) online yazılımı ile tespit edildi. (15). Virülans genlerinin karşılaştırmalı analizi ise VFanalizer programı (<http://www.mgc.ac.cn/VFs/>) ile gerçekleştirildi (16).

Bulgular

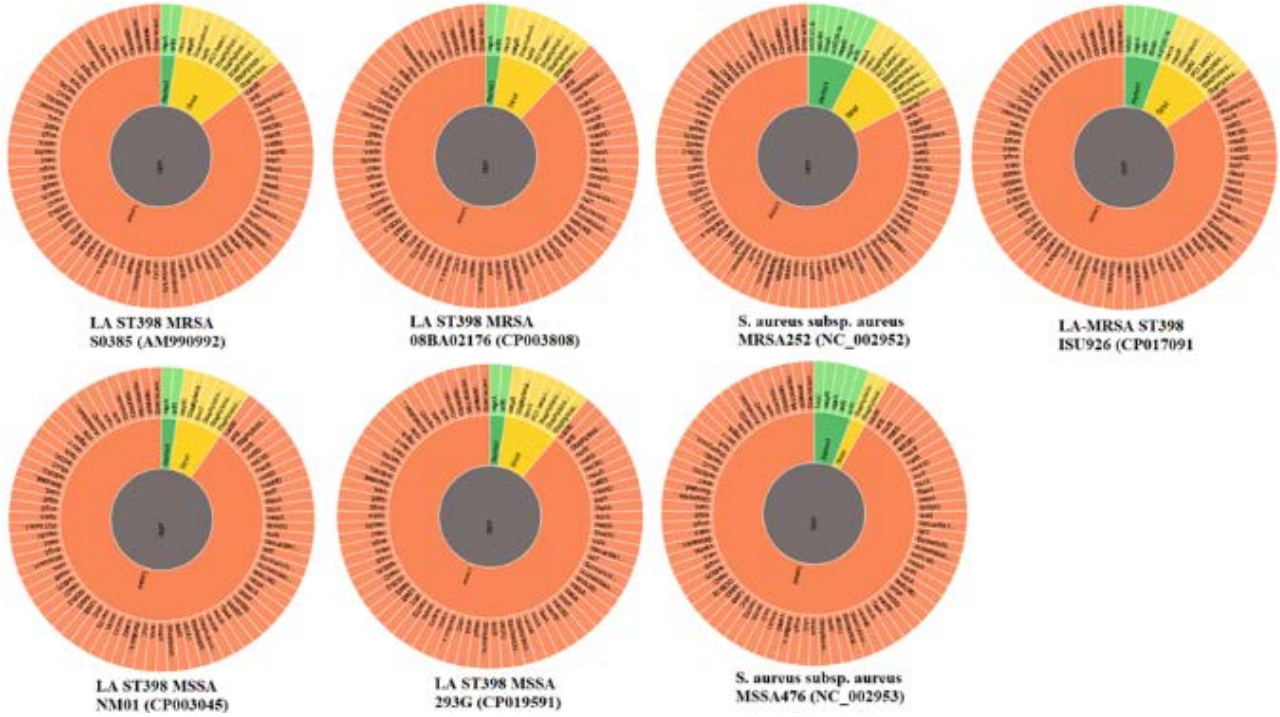
Çalışmamızda incelenen tüm kökenlere ait bilgiler Tablo 1'de verildi. Kökenlerin birbirleri ile evrimsel olarak yakınlıkları filogeni yazılımı ile (<https://www.genomicepidemiology.org/>) gerçekleştirildi (Şekil 1).



Şekil 1. Çalışmaya dahil edilen kökenlere ait genomik verilerin filogeni analizi

*insan kaynaklı LA-MRSA ST398 AM990992 ve CP003808, domuz kaynaklı LA-MRSA ST398 CP017091 kökenine sırasıyla %98.69 ve %97.42 oranında benzerken, LA-MSSA ST398 CP003045 ve CP019591 ise sırasıyla %94.74 ve %94.51 oranında benzer saptandılar. ST398 olmayan insan kaynaklı MSSA ve MRSA kökenleri ise LA-MRSA ST398 CP017091 kökenine sırasıyla %90.79 ve %92.43 benzerlikle en düşük benzerlikte oldukları saptandı

LA-MRSA ST398 kökenleri olan endokarditli bir hastadan izole edilmiş olan AM990992 ve postoperatif bir hastadan izole edilen CP003808, domuzdan elde edilmiş olan CP017091 kökenine sırasıyla %98.69 ve %97.42 oranında benzerdi. LA-MSSA ST398 kökenleri CP003045 ve CP019591 ise sırasıyla %94.74 ve %94.51 oranında benzer saptandı. ST398 olmayan insanlardan elde edilmiş MSSA ve MRSA kökenlerinin ise LA-MRSA ST398 ISU92 kökenine sırasıyla %90.79 ve %92.43 benzerlikle en düşük benzerlikte oldukları saptandı. Çalışmamızda incelenen genomik verilerinin antibiyotik direnç belirteçlerinin analizi Tablo 2'de ve Şekil 2'de verildi. LA-MRSA ST398 kökenlerinde, LA-MSSA ST398 kökenlerine göre tetM geninde ve tetrasiklin direnç genlerinde değişim olduğu görüldü. ST398 kökenlerde ve MRSA kökenlerde penam grubu antibiyotiklere dirençle ilişkili olan *blaZ* geninin bulunduğu tespit



Şekil 2. Çalışmamızda incelenen kökenlerin direnç gen belirteçlerinin dağılımı.

*Yeşil: #Mükemmel Dizi Eşleşmesi, Kırmızı: #Güçlü Dizi Eşleşmesi ve Sarı: #Zayıf Dizi Eşleşmesi

edildi. İnsanlardan elde edilen LA-MRSA ST398 kökenlerinde, *tetK* geni belirteci saptanmazken, domuzdan elde edilen LA-MRSA ST398 kökeninde *tetK* geni varlığı görüldü. İnsan kaynaklı MRSA kökenlerinde *ANT(9)-la* gibi aminoglikozid direnç gen belirteci bulunurken, LA-MRSA ST398 kökenlerinde bu gen tespit edilmedi. İnsan kaynaklı LA-SA-ST398 kökenlerinin tümünde, makrolid-linkozamid-streptogramin ve eritromisin direnç genleri ön planda saptanırken, LA-MRSA ST398 kökenlerinde buna *tetM* gibi tetrasiklin eklenmiş olarak bulundu.

Çalışmamıza dahil edilen kökenlerin genomik verilerinde bulunan bağlanma, bağışıklıktan kaçış, salgı sistemi ve enzimsel virülans faktörlerinin dağılımı incelendiğinde, ST398 kökenlerinde bağlanma işlevi ile ilişkili *clfB* geninin

yönettiği virülans faktörü topaklanma faktörü B'nin (clumping factor B), enzim işlevi ile ilişkili stafilokinaz ve serin proteaz genlerinin ve ilişkili virülans faktörlerinin olmadığı tespit edildi. Ayrıca MSSA ST398 ve MRSA ST398 kökenleri arasında kemotaksis inhibe edici proteinlerin (CHIPs) farklılığı görüldü. MSSA ST398 kökenlerinde bu genler aktifken, MRSA ST398 kökenlerinde bu genler inaktif saptandı (Tablo 3). ST398 kökenlerinde toksin işlevleri ile ilişkili insanlardaki MRSA kökenlerinden fazla ekzotoksini olduğu ama MSSA kökenlerine göre ise bu sayının daha az olduğu bunun dışında bu işlev ile ilgili farklı bir virülans faktörü üretimi olmadığı görüldü. Tablo 4' de toksin işlevi ile ilişkili virülans faktörlerinin dağılımı gösterildi.

Tablo 1. Çalışmada incelenen tüm kökenlere ait bilgiler

Gen bankası erişim numarası	Köken ismi	Kökenin kaynağı	Köken üretim tarihi ve yeri
NC_002953	<i>S. aureus subsp. aureus</i> MSSA476	Osteomyelit hastaları	USA, 1997
NC_002952	<i>S. aureus subsp. aureus</i> MRSA252	Postoperative hasta	USA, 1998
AM990992	LA ST398 MRSA S0385	Endokarditli hasta	Hollanda, 2006
CP003808	LA ST398 MRSA 08BA02176	Cerrahi alan enfeksiyonlu postoperatif hasta	Kanada, 2008
CP003045	LA ST398 MSSA NM01	Sağlıklı birey burun sürüntüsü	USA, 2012
CP019591	LA ST398 MSSA 293G	Cinsel yolla bulaşan enfeksiyona sahip hasta	Kanada, 2014
CP017091	LA-MRSA ST398 ISU926	Sağlıklı bir domuzun burun sürüntüsü	USA, 2010

*LA: Hayvancılıkla ilişkili, MRSA: Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*, MSSA: metisilin duyarlı *Staphylococcus aureus*

Tablo 2. Çalışmamızda incelenen kökenlerin direnç gen belirteçlerinin dağılımı

Gen bankası erişim numarası	Köken ismi	Saptanan Direnç genleri	Mükemmel Dizi Eşleşmesi	Güçlü Dizi Eşleşmesi	Zayıf Dizi Eşleşmesi
NC_002953	<i>S. aureus subsp. aureus</i> MSSA476	fusC, mepR, mgrA, arlS, arlR, norA, LmrS	5	2	149
NC_002952	<i>S. aureus subsp. aureus</i> MRSA252	mecR1, ErmA, ANT(9)-Ia, mepR, mgrA, arlR, ErmA, mecA, mecl, norA, blaZ, FosB, gyrA (S84L), GlpT (A100V, V213I), parC (S80F), murA (D278E, E291D)	9	9	153
AM990992	LA ST398 MRSA S0385	mgrA, arlR, mecA, mepR, norA, tetM, blaZ, LmrS, gyrA (S84L), GlpT (F3I, A100V), parC (S80F), murA (D278E, E291D)	2	10	141
CP003808	LA ST398 MRSA 08BA02176	mepR, arlR, mecA, mepR, norA, tetM, blaZ, LmrS, GlpT (F3I, A100V), murA (D278E, E291D)	2	8	144
CP003045	LA ST398 MSSA NM01	mgrA, arlR, mepR, norA, ErmT, LmrS, GlpT (F3I, A100V), murA (D278E, E291D)	2	6	141
CP019591	LA ST398 MSSA 293G	mgrA, arlR, mepR, norA, ErmT, blaZ, LmrS, GlpT (F3I, A100V), murA (D278E, E291D)	2	7	143
CP017091	LA-MRSA ST398 ISU926	tet(K), mgrA, arlR, ErmA, ANT(9)-Ia, mecA, mepR, norA, tetM, blaZ, LmrS, GlpT (F3I, A100V), murA (D278E, E291D)	5	8	143

*LA: Hayvancılıkla ilişkili, MRSA: Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*, MSSA: metisilin duyarlı *Staphylococcus aureus*

Tartışma

Staphylococcus aureus türleri arasında özellikle metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) kökenleri hem insan, hemde hayvanlarda bulunan çoklu ilaç direncine sahip önemli bakterilerden birisidir ve basit enfeksiyonlardan ağır sistemik enfeksiyonlara kadar pekçok enfeksiyonla bu canlılarda karşımıza çıkabilmektedir. Moleküler metotlardan birisi olan çoklu lokus dizilim analizi (MLST) moleküler epidemiyolojik araç olarak kullanılmakta ve bu kökenleri farklı tiplere ayırarak, farklı enfeksiyonlarda karşımızda hangi sekans veya klonal tiplerinin olduğunu anlamamızı sağlamaktadır (2,17). ST398 çiftlik hayvanları ile ilişkili ilk klondur (4) ve son yıllarda çiftlik hayvanları ile ilişkili olmaksızın insanlarda saptanması bunlara olan ilgiyi arttırmıştır (6).

Pirolu ve ark 2019 yılında yaptıkları çalışmada domuzlardan elde ettikleri MRSA kökenlerinin filogeni açısından %94.1 oranında insanlarda üretilen kökenlere benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir (18). Biz çalışmamızda incelediğimiz kökenlerde bu benzerliğin MRSA kökenlerinde %98 oranında, MSSA kökenlerinde ise %94 oranında olduğunu gördük. Aradaki farkın nedenini, incelediğimiz köken sayısı kaynaklı olabileceğini düşündük.

Direnç genleri açısından ST398 kökenleri ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde; Chueahiran ve ark, 2021 yılında Tayland'da köpek ve kedilerde inceledikleri ST398 MRSA kökenlerinde *mecA*, *blaZ*, *tet(M)*, *aac(6')-Ie-aph(2')-Ia*, ve *dfr* geni saptadıklarını bildirmişlerdir (17). Huang ve Chen yaptıkları çalışmada, *mecA*, *blaZ*, *aac(6')*, *erm* ve *dha* gibi direnç genlerini saptadıklarını fakat tetrasiklin direncinden sorumlu genler tespit etmelerine rağmen kökenlerinde *tetM* direnç geni eksikliği olduğunu bildirmişlerdir

(4). Zarfel ve ark, Avustralya'da yaptıkları çalışmada, insanlarda saptanan MRSA ST398 kökenlerinde, tetrasiklin ve eritromisin-linkozamide direnç gösteren genlerin yaygın olduğunu bildirmişlerdir. *tetM*, *tetK* ve *ermC* gibi genlerin tespit edildiğini raporlamışlardır (19). Bizim çalışmamızda da ST398 kökenlerinde bu genlerin varlığının benzer olduğu tespit edildi. Argudín ve ark, Almanya'da yaptıkları çalışmada, insan dışı kaynaklardan elde ettikleri ST398 *S. aureus* kökenlerinde, makrolid-linkozamid-streptogramin direncine neden olan *erm* ve tetrasiklin direncine neden olan *tet* genlerinin sıklıkla saptandığını bildirmişlerdir (20). Bizim çalışmamızdaki bulgularda MRSA kökenlerimiz insan kaynaklı olmasına karşın benzer direnç profili göstermekteydi ve bu genleri LA-MRSA ST398 klonunun direnç mekanizmaları gelişiminde ilk seçenek olarak kullandığını bize düşündürmüştür.

Virülans genleri ve virülans faktörleri açısından ST398 kökenleri ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde; Lu ve ark, 2021 yılında, ST398 kökenlerinin gama hemolizini kodlayan toksin üretimi ile ilişkili genlerinin, bağışıklıktan kaçmak için stafilokokkal kompleman inhibitörü genlerinin (*scn*), bakterilerin yayılmasına yardımcı olan lizin, stafilokinaz ve ekzoenzim genlerinin aktif olduğunu bildirmişlerdir (6). Biz yaptığımız in silico analizlerde sadece stafilokinaz genlerinin bizim incelediğimiz kökenlerde aktif olmadığını ama diğer belirtilen genlerin bizim çalışmamızda da benzer şekilde aktif olduğunu gördük. Stafilokinaz geni ilişkili olan veri farkı, durumun incelenen köken sayısı ile ilişkili olabileceğini bize düşündürmüştür. Huang ve Chen 2020 yılında yaptıkları çalışmada, bağışıklık sisteminden kaçışla ilgili virülans genlerinin aktif olduğunu bildirmişlerdir (2).

Tablo 3. Çalışmamızda incelenen kökenlerin genomik verilerine göre bağlanma, bağışıklıktan kaçınma, enzimsel ve salgı sistemi işlevleri ile ilişkili virülans faktörlerinin dağılımı

	ilişkili gen sayısı	MSSA 476	MRSA 252	AM990992	CP003808	CP003045	CP019591	CP017091
Bağlanma								
Autolysin	1	+	+	+	+	+	+	+
Cell wall associated fibronectin binding protein	1	-	+	+	+	+	+	+
Clumping factor A	1	+	+	+	+	+	+	+
Clumping factor B	1	+	+	-	-	-	-	-
Collagen adhesion	1	+	+	+	+	+	+	+
Elastin binding protein	1	-	+	+	+	+	+	+
Extracellular adherence protein/MHC analogous protein	1	-	+	+	+	+	+	+
Fibrinogen binding protein	1	+	+	+	+	+	+	+
Fibronectin binding proteins	2	+	1	+	+	+	+	+
Intercellular adhesin	5	+	+	4	4	4	4	4
Ser-Asp rich fibrinogen-binding proteins	6	3	2	2	3	3	3	3
Staphylococcal protein A	1	+	+	+	+	+	+	+
Enzim								
Staphylocoagulase	1	+	+	+	+	+	+	+
Cysteine protease	2	+	+	+	+	+	+	+
Hyaluronate lyase	1	+	+	+	+	+	+	+
Lipase	2	+	+	+	+	+	+	+
Serine protease	6	4	3/1	-	-	-	-	-
Serine V8 protease	1	+	+	+	+	+	+	+
Staphylokinase	1	+	+	-	-	-	-	-
Thermonuclease	1	+	+	+	+	+	+	+
Bağışıklıktan kaçınma								
AdsA	1	+	+	+	+	+	+	+
Kapsül	1	+	+	+	+	+	+	+
CHIPS	1	-	+	-	-	+	+	-
Sbi	1	+	+	+	+	+	+	+
SCIN	1	+	+	+	+	+	+	-
Salgı sistemi								
Tip VII sekresyon sistemi	12	+	7	7	7	7	7	7

*AdsA: Adenozin sentetaz A, CHIPS: *S. aureus* kemotaksis inhibitör protein (*Chemotaxis inhibitory protein of Staphylococcus aureus*), sbi: ikincil immunoglobulin bağlayıcı protein (*second immunoglobulin-binding protein*), SCIN: Stafillokokkal kompleman inhibitör (*Staphylococcal complement inhibitor*)

Tablo 4. Çalışmamıza dahil edilen kökenlerin genomik verilerine göre toksin üretimi işlevleri ile ilişkili virülans faktörlerinin dağılımı

Toksin üretimi ile ilişkili virülans faktörleri	ilişkili gen sayısı	MSSA476	MRSA252	AM990992	CP003808	CP003045	CP019591	CP017091
Alpha hemolysin	1	+	-	+	+	+	+	+
Beta hemolysin	1	-	-	-	-	-	-	-
Delta hemolysin	1	+	+	+	+	+	+	+
Enterotoxin A	1	+	+	-	-	-	-	-
Enterotoxin B	1	-	-	-	-	-	-	-
Enterotoxin C	1	-	-	-	-	-	-	-
Enterotoxin D	1	-	-	-	-	-	-	-
Enterotoxin E	1	-	-	-	-	-	-	-
Enterotoxin G	1	-	+	-	-	-	-	-
Enterotoxin H	1	+	-	-	-	-	-	-
Enterotoxin I	1	-	+	-	-	-	-	-
Enterotoxin J	1	-	-	-	-	-	-	-
Enterotoxin Yent1	1	-	-	-	-	-	-	-
Enterotoxin Yent2	1	-	-	-	-	-	-	-
Enterotoxin-like K	1	+	-	-	-	-	-	-
Enterotoxin-like L	1	-	-	-	-	-	-	-
Enterotoxin-like M	1	-	+	-	-	-	-	-
Enterotoxin-like N	1	-	+	-	-	-	-	-
Enterotoxin-like O	1	-	+	-	-	-	-	-
Enterotoxin-like P	1	-	-	-	-	-	-	-
Enterotoxin-like Q	1	+	-	-	-	-	-	-
Enterotoxin-like R	1	-	-	-	-	-	-	-
Enterotoxin-like U	1	-	+	-	-	-	-	-
Exfoliative toxin type A	1	+	+	+	+	+	+	+
Exfoliative toxin type B	1	-	-	-	-	-	-	-
Exfoliative toxin type C	1	-	-	-	-	-	-	-
Exfoliative toxin type D	1	-	-	-	-	-	-	-
Exotoxin	37	11	5	8	8	8	8	8
Gamma hemolysin	3	+	+	+	+	+	+	+
Leukocidin M	2	-	-	-	-	-	-	-
Leukotoxin D	1	-	+	-	-	-	-	-
Leukotoxin E	1	-	+	-	-	-	-	-
Panton-Valentine leukocidin	2	-	-	-	-	-	-	-
Toxic shock syndrome toxin	1	-	-	-	-	-	-	-

Biz de incelediğimiz kökenlerde benzer durumu gözlemledik. Pirolo ve ark 2019 yılında yaptıkları çalışmada ST398 kökenlerinin panton-valentine leukocidin ve enterotoxin geni taşımadığını belirtmişlerdir (18). Benzer şekilde, Zarfel ve ark, yaptıkları çalışmada panton-valentine lökositidin, enterotoksinler veya toksik şok sendromu toksini tespit edilmediğini bildirmişlerdir (19). Bizde çalışmamızda incelediğimiz kökenlerde bu genlerin aktif olmadığını gördük. Bu genlerin bu kökenlerin hastalıklarında sürece dahil olmadığını bize düşündürmüştür. Argudín ve ark, insan dışı kaynaklardan elde ettikleri *S. aureus* ST398 kökenlerine ilişkin çalışmalarında, gama hemolizini kodlayan toksin üretimi ile ilişkili genlerin aktif olduğunu sadece 2 kökende ise enterotoksin b ile ilişkili genin olduğunu bildirmişlerdir (20). Sonuç olarak çalışmamızda incelenen insan kaynaklı çiftlik hayvanları ile ilişkili MRSA ve MSSA ST398 kökenlerine ait genomik verilerde özellikle kaynak fark etmeksizin benzer direnç profili gösterdiği anlaşılmıştır. Ayrıca bu kökenlerin enterotoksin, Panton-Valentine lökositidin toksin ve toksik şok sendromu toksini gibi toksin üretimi ile ilişkili genleri kullanmadığı buna karşın bağışıklıktan kaçmak için ve salgı sistemlerini aktive edebilmek için belli virülans faktörlerini harekete geçirdiği görülmektedir. Bu kökenlerin geliştirdikleri hastalıkların patogenezi anlaşılabilmek için elde edilen verilerin yeni gelişen moleküler tekniklerle incelenmesinin epidemiyolojik olarak avantaj kazandıracığı kanaatindeyiz.

Etik onam: *İn silico veri analizi yapılan bu çalışmada herhangi bir insan veya hayvan materyali kullanılmamış ve etik onam gerektirmemektedir.*

Yazar Katkıları:

Konsept: M.D.; A.Y.; F.Y.Z.

Literatür Tarama: M.D.; A.Y.; F.Y.Z.

Tasarım: M.D.; A.Y.; F.Y.Z.

Veri toplama: M.D.; A.Y.

Analiz ve yorum: M.D.; A.Y.; F.Y.Z.

Makale yazımı: M.D.; A.Y.; F.Y.Z.

Eleştirel incelenmesi: M.D.; A.Y.; F.Y.Z.

Çıkar Çatışması: Herhangi bir çıkar çatışmamız bulunmamaktadır.

Finansal Destek: Araştırma kapsamında herhangi bir kurum ya da kuruluşun finansal destek sağlanmamıştır.

Kaynaklar

1. Heaton CJ, Gerbig GR, Sensus LD, Patel V, Smith TC. Staphylococcus aureus Epidemiology in Wildlife: A Systematic Review. *Antibiotics (Basel)*. 2020;9(2):89. doi:10.3390/antibiotics9020089
2. Gurung RR, Maharjan P, Chhetri GG. Antibiotic resistance pattern of Staphylococcus aureus with reference to MRSA isolates from pediatric patients. *Future Sci OA*. 2020;6(4):FSO464. doi:10.2144/fsoa-2019-0122
3. Gittens-St Hilaire MV, Chase E, Alleyne D. Prevalence, molecular characteristics and antimicrobial susceptibility patterns of MRSA in hospitalized and nonhospitalized patients in Barbados. *New Microbes New Infect*. 2020;35:100659. doi:10.1016/j.nmni.2020.100659
4. Huang YC, Chen CJ. Detection and phylogeny of Staphylococcus aureus sequence type 398 in Taiwan. *J Biomed Sci*. 2020;27(1):15. doi:10.1186/s12929-019-0608-8
5. Bouillier K, Bertrand X, Hocquet D, Chirouze C. Human Infection of Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus CC398: A Review. *Microorganisms*. 2020;8(11):1737. doi:10.3390/microorganisms8111737
6. Lu H, Zhao L, Si Y, Jian Y, Wang Y, Li T, et al. The Surge of Hypervirulent ST398 MRSA Lineage With Higher Biofilm-Forming Ability Is a Critical Threat to Clinics. *Front Microbiol*. 2021;12:636788. doi:10.3389/fmicb.2021.636788
7. Ballhausen B, Jung P, Kriegeskorte A, Makgotlho PE, Ruffing U, von Müller L, et al. LA-MRSA CC398 differ from classical community acquired-MRSA and hospital acquired-MRSA lineages: functional analysis of infection and colonization processes. *Int J Med Microbiol*. 2014;304(7):777-86. doi:10.1016/j.ijmm.2014.06.006
8. Schijffelen MJ, Boel CH, van Strijp JA, Fluit AC. Whole genome analysis of a livestock-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus ST398 isolate from a case of human endocarditis. *BMC Genomics*. 2010;11:376. doi:10.1186/1471-2164-11-376
9. Golding GR, Bryden L, Levett PN, McDonald RR, Wong A, Graham MR, et al. whole-genome sequence of livestock-associated st398 methicillin-resistant staphylococcus aureus Isolated from Humans in Canada. *J Bacteriol*. 2012;194(23):6627-6628. doi:10.1128/JB.01680-12
10. Uhlemann AC, Porcella SF, Trivedi S, Sullivan SB, Hafer C, Kennedy AD, et al. Identification of a highly transmissible animal-independent Staphylococcus aureus ST398 clone with distinct genomic and cell adhesion properties. *mBio*. 2012;3(2):e00027-12. Published 2012 Feb 28. doi:10.1128/mBio.00027-12
11. Kashif A, McClure JA, Lakhundi S, Pham M, Chen S, Conly JM, et al. Staphylococcus aureus ST398 Virulence Is Associated With Factors Carried on Prophage φSa3. *Front Microbiol*. 2019;10:2219. doi:10.3389/fmicb.2019.02219
12. Hau SJ, Bayles DO, Alt DP, Frana TS, Nicholson TL. Complete Genome Sequence of Livestock-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Sequence Type 398 Isolated from Swine in the United States. *Genome Announc*. 2017;5(32):e00790-17. doi:10.1128/genomeA.00790-17
13. Holden MT, Feil EJ, Lindsay JA, Peacock SJ, Day NP, Enright MC, et al. Complete genomes of two clinical Staphylococcus aureus strains: evidence for the rapid evolution of virulence and drug resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Jun 29;101(26):9786-91. doi:10.1073/pnas.0402521101
14. Kaas RS, Leekitcharoenphon P, Aarestrup FM, Lund O. Solving the problem of comparing whole bacterial genomes across different sequencing platforms. *PLoS One*. 2014;9(8):e104984. doi:10.1371/journal.pone.0104984
15. Alcock BP, Raphenya AR, Lau TTY, Tsang KK, Bouchard M, Edalatmand A, et al. CARD 2020: antibiotic resistance surveillance with the comprehensive antibiotic resistance database. *Nucleic Acids Res*. 2020;48(D1):D517-D525. doi:10.1093/nar/gkz935
16. Liu B, Zheng D, Jin Q, Chen L, Yang J. VFDB 2019: a comparative pathogenomic platform with an interactive web interface. *Nucleic Acids Res*. 2019;47(D1):D687-D692. doi:10.1093/nar/gky1080
17. Chueahiran S, Yindee J, Boonkham P, Suanpairintr N, Chanchaithong P. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Clonal Complex 398 as a Major MRSA Lineage in Dogs and Cats in Thailand. *Antibiotics (Basel)*. 2021;10(3):243.

doi:10.3390/antibiotics10030243

18. Pirolo M, Visaggio D, Gioffrè A, Artuso I, Gherardi M, Pavia G, et al. Unidirectional animal-to-human transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in pig farming; evidence from a surveillance study in southern Italy. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2019;8:187. doi:10.1186/s13756-019-0650-z
19. Zarfel G, Krziwanek K, Jöhler S, Hoenigl M, Leitner E, Kittinger C, et al. Virulence and antimicrobial resistance genes in human MRSA ST398 isolates in Austria. *Epidemiol Infect*. 2013;141(4):888-892. doi:10.1017/S0950268812001343
20. Argudín MA, Tenhagen BA, Fetsch A, Sachsenröder J, Käsbohrer A, Schroeter A, et al. Virulence and resistance determinants of German *Staphylococcus aureus* ST398 isolates from nonhuman sources. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(9):3052-3060. doi:10.1128/AEM.02260-10