

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ ve TEKNOLOJİSİ DOKTORA PROGRAMI
VBH-2019-0001

ÇEŞİTLİ KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN
STAPHYLOCOCCUS AUREUS'UN BAZI VİRULENS
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

PELİN KOÇAK KIZANLIK

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ergün Ömer GÖKSOY

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-17033 proje numarası ile desteklenmiştir

AYDIN-2019

KABUL ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Pelin KOÇAK KIZANLIK tarafından hazırlanan “Çeşitli Kaynaklardan İzole Edilen *Staphylococcus aureus*’un Bazı Virulens Özelliklerinin Belirlenmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 03/05/2019

Üye : Prof. Dr. Ergün Ömer GÖKSOY Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
(Tez Danışmanı)

Üye : Prof. Dr. Filiz KÖK Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Şükrü KIRKAN Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Ali AYDIN İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Üye : Prof. Dr. Seran TEMELLİ Bursa Uludağ Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Cavit KUM
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca ve tezimin fikir aşamasından sonuçlanmasına kadar geçen süreçte ilgi, anlayış ve sabrını hiç eksik etmeyen danışmanım Sayın Prof. Dr. Ergün Ömer GÖKSOY'a, çalışmalarımın yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen Anabilim Dalımız öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Filiz KÖK'e, Dr. Öğr. Üyesi Devrim BEYAZ'a, Dr. Öğr. Üyesi Sadık BÜYÜKYÖRÜK'e, destekleriyle her zaman yanımda olan Arş. Gör. Cemil ŞAHİNER'e, tez çalışmamın analizleri boyunca yardımcı olan, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Şükrü KIRKAN'a, Doç. Dr. Uğur PARIN'a, Arş. Gör. Hafize Tuğba YÜKSEL'e, laboratuvar analizlerindeki yardımlarından dolayı Buket ALTIN'a, Gizem KEBABÇI'ya, Mahmut GÜLLÜ'ye ve Mustafa Talha OK'a teşekkürlerimi sunarım. Hayatımın her döneminde hep yanımda olan aileme ve doktora eğitimim süresince özveriyle destek veren eşim Can KIZANLIK'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY.....	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
RESİMLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ	xi
ÖZET.....	xiii
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. <i>S. aureus</i> 'un Tarihçesi.....	5
2.2. <i>S. aureus</i> 'un Klasifikasyonu	6
2.3. <i>S. aureus</i> 'un Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri	6
2.4. <i>S. aureus</i> 'un Gelişimini ve Enterotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler	7
2.4.1. Sıcaklık.....	8
2.4.2. pH Değeri	8
2.4.3. Su Aktivitesi Değeri (a_w).....	9
2.4.4. Atmosfer.....	9
2.5. <i>S. aureus</i> 'un Virulens Faktörleri	10
2.5.1. Kapsül.....	10
2.5.2. Hücre Duvarı	10
2.5.2.1. Peptidoglikan tabaka	10
2.5.2.2. Teikoik asit	11
2.5.3. Yüzey Proteinleri.....	12

2.5.4. Enzimler	12
2.5.4.1. Katalaz.....	13
2.5.4.2. Koagulaz.....	13
2.5.4.3. Hyaluronidaz	13
2.5.4.4. Fosfatidilinozitol-Spesifik Fosfolipaz C	14
2.5.4.5. Deoksiribonükleaz.....	14
2.5.4.6. Termonükleaz.....	14
2.5.4.7. Stafilokinaz.....	14
2.5.4.8. Beta laktamaz (β -laktamaz, Penisilinaz)	14
2.5.5. Toksinler.....	15
2.5.5.1. Sitolitik toksinler	15
2.5.5.1.1. Alfa toksin	15
2.5.5.1.2. Beta toksin (Sfingomyelinaz C)	16
2.5.5.1.3. Gama toksin.....	16
2.5.5.1.4. Delta toksin	17
2.5.5.1.5. Panton-Valentine Lökosidin.....	17
2.5.5.2. Süperantijenler	18
2.5.5.2.1. Toksik şok sendromu toksin-1	19
2.5.5.2.2. Eksfoliyatif toksin	19
2.5.5.2.3. Enterotoksinler	21
2.6. Patogenez	26
2.7. Antibiyotik Direnci	27
2.7.1. <i>S. aureus</i> ve Antibiyotik Direnci.....	29
2.7.1.1. β -laktam direnci.....	30
2.7.1.1.1. Metisilin direnci	31
2.7.1.2. Glikopeptid direnci.....	33
2.7.1.3. Kinolon direnci.....	34

2.7.1.4. Aminoglikozid direnci.....	34
2.7.1.5. Tetrasiklin direnci	35
2.7.1.6. Oksazolidinon direnci	35
2.7.1.7. Makrolid, linkozamid, streptogramin direnci.....	35
2.7.1.8. Sülfametoksazol-trimetoprim direnci.....	36
2.7.1.9. Lipopeptid direnci	36
2.8. Dünya ve Türkiye’de Gıda İlişkili <i>S. aureus</i> Prevalansı.....	36
2.9. Gıdaların Hazırlanmasında Kullanılan Alet-Ekipmanların ve Çalışan Personelin <i>S. aureus</i> Kontaminasyonundaki Rolü	40
2.10. MRSA’nın Gıdalarla Taşınması.....	41
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	43
3.1. Gereç	43
3.2. Yöntem.....	45
3.2.1. <i>S. aureus</i> ’un Standart Bakteriyoloji ile İzolasyonu.....	45
3.2.1. <i>S. aureus</i> ’un İdentifikasyonu.....	46
3.2.1.1. Tryptic Soy Agar’da gelişim	46
3.2.1.2. Gram boyama	47
3.2.1.3. Katalaz testi	48
3.2.1.4. Lam koagulaz testi.....	48
3.2.1.5. Tüp koagulaz testi	49
3.2.1.6. DNaz testi	49
3.2.1.7. Mannitol fermentasyon testi.....	49
3.2.1.7. Lateks aglütinasyon testi	50
3.2.2. <i>S. aureus</i> ’un Genotipik İdentifikasyonu.....	51
3.2.2.1. DNA ekstraksiyonu	51
3.2.2.2. <i>S. aureus</i> ’un PCR ile tanımlanması.....	51
3.2.2.3. <i>S. aureus</i> ’un enterotoksin genlerinin tespiti.....	54

3.2.2.4. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforez ile görüntülenmesi.....	58
3.2.3. <i>S.aureus</i> Suşlarının Antibiyotiklere Karşı Duyarlılığının Tespiti.....	58
3.2.4. <i>mecA</i> Geninin PCR Yöntemiyle Tespiti.....	60
3.2.5. <i>mecC</i> Geninin PCR Yöntemiyle Tespiti	61
3.2.6. Referans Suşlar.....	62
4. BULGULAR	63
4.1. Gıda, Alet-Ekipman ve Personel Örneklerinin <i>S. aureus</i> ile Kontaminasyon Düzeyleri	65
4.2. <i>S. aureus</i> İzolatlarında Enterotoksin Genlerinin Varlığı.....	67
4.3. <i>S. aureus</i> İzolatlarının Antibiyogram Bulguları	71
4.3.1. <i>S. aureus</i> İzolatlarında Örnek Gruplarına Göre Antibiyotik Duyarlılıkları	74
4.3.1.1. Tank sütü örneklerine ait izolatlarda antibiyotik duyarlılıkları.....	74
4.3.1.2. Tulum peyniri örneklerine ait izolatlarda antibiyotik duyarlılıkları.....	74
4.3.1.3. Tavuk eti örneklerine ait izolatlarda antibiyotik duyarlılıkları	75
4.3.1.4. Sığır karkası örneklerine ait izolatlarda antibiyotik duyarlılıkları	76
4.3.1.5. Alet-ekipman ve personel örneklerine ait izolatlarda antibiyotik duyarlılıkları	77
4.4. <i>S. aureus</i> İzolatlarında <i>mecA</i> ve <i>mecC</i> Genlerinin Varlığının Araştırılması.....	77
5. TARTIŞMA	79
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	108
KAYNAKLAR.....	110
ÖZGEÇMİŞ	129

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Santigrat Derece
µl	: Mikrolitre
5-HT	: 5-hidroksitriptamin
AB	: Avrupa Birliği
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
APC	: Antigen Presenting Cell (Antijen Sunan Hücreler)
a_w	: Su Aktivitesi
BHI	: Brain Heart Infusion Broth
bp	: Base Pair (Baz çifti)
CA-MRSA	: Community Associated MRSA (Toplum İlişkili MRSA)
CDC	:The Centers for Disease Control and Prevention (Hastalık Kontrol ve Engelleme Merkezi)
Da	: Dalton
Dsg	: Desmoglein
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DNaz	: Deoksiribonükleaz
ET	: Eksfoliyatif Toksin
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HA-MRSA	: Hospital Associated MRSA (Hastane İlişkili MRSA)
kDa	: Kilodalton
LA-MRSA	: Livestock Associated MRSA (Çiftlik Hayvanları İlişkili MRSA)
MgCl₂	: Magnezyum Klorür
MHC-II	: Major Histokompatibilite Kompleks II
MRSA	:Methicillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>)
MSCRAMM	: Microbial Surface Components Recognising Adherence Matrix Molecules (Adeziv Matriks Moleküllerini Tanıyan Mikrobiyel Yüzey Bileşenleri)
NaCl	: Sodyum Klorür
NAGA	: N-asetil Glukozamin
NAMA	: N-asetil Muramik Asit
PBP	: Penicillin Binding Protein (Penisilin Bağlayan Protein)
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

PI-PLC	: Fosfotidilinozitol-Spesifik Fosfolipaz C
PMNL	: Polimorfnükleer Lökosit
PVL	: Panton Valentine Lökosidin
SCC	: Staphylococcal Cassette Chromosome (Stafilokokal Kaset Kromozom)
SE	: Staphylococcal Enterotoxin (Stafilokokal Enterotoksin)
SEI	: Staphylococcal Enterotoxin Like Toxin (Stafilokokal Enterotoksin Benzeri Toksin)
SERAMs	: Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules (Salgılanabilen Genişletilmiş Adezyon Molekülleri)
SpA	: Staphylococcal Protein A (Stafilokokal Protein A)
SSSS	: Staphylococcal Scalded Skin Syndrome (Stafilokokal Haşlanmış Deri Sendromu)
TCR	: T Cell Receptor (T hücre antijen reseptörleri)
TSA	: Tryptic Soy Agar
TSST-1	: Toxic Shock Syndrome Toxin-1 (Toksik Şok Sendromu Toksin-1)
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor- α (Tümör Nekroz Faktörü- α)
VWF	: Von Willebrand Faktör
WHO	: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
Zn	: Çinko

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Toksin genlerinin sentezinden görevli gen regülatörleri	22
Şekil 2. Mezbaha kesim prosesi ve örnek alma noktaları	44
Şekil 3. Tank sütü örneklerine ait izolatlarda antibiyotik duyarlılıkları	74
Şekil 4. Tulum peyniri örneklerine ait izolatlarda antibiyotik duyarlılıkları	75
Şekil 5. Tavuk eti örneklerine ait izolatlarda antibiyotik duyarlılıkları	76
Şekil 6. Karkas örneklerine ait izolatlarda antibiyotik duyarlılıkları	76

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Baird Parker Agar'da <i>S. aureus</i> kolonilerinin görünümü.....	46
Resim 2. Tryptic Soy Agar'da <i>S. aureus</i> kolonilerinin görünümü	47
Resim 3. Gram boyama yapılan kolonilere ait mikroskop görüntüsü	47
Resim 4. Katalaz testinde pozitif örnek görünümü.....	48
Resim 5. Lam koagulaz testinde pozitif örnek görünümü	48
Resim 6. Tüp koagulaz testi pozitif ve negatif veren örneklerin görünümü.....	49
Resim 7. İncelenen örneklerin DNaz Agar (sol taraf) ve Mannitol Salt Agar'daki (sağ taraf) görünümleri	50
Resim 8. <i>16S rRNA</i> geni ile <i>nuc</i> geni tespit edilen örneklerin elektroforez görüntüsü	63
Resim 9. <i>coa</i> geni pozitif örneklerin elektroforez görüntüsü	64
Resim 10. <i>S. aureus</i> enterotoksin Set I pozitif örneklerin elektroforez görüntüsü.....	68
Resim 11. <i>S. aureus</i> enterotoksin Set II pozitif örneklerin elektroforez görüntüsü.....	69
Resim 12. <i>S. aureus</i> enterotoksin Set III pozitif örneklerin elektroforez görüntüsü	69
Resim 13. <i>mecA</i> geni pozitif örneklerin elektroforez görüntüsü	77

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. <i>S. aureus</i> 'un üreme ve toksin oluşturması için genel koşullar	8
Tablo 2. Etki mekanizmalarına göre antibiyotik grupları.....	28
Tablo 3. Antibiyotik direncinden sorumlu etki mekanizmaları.....	30
Tablo 4. 2012-2015 yılları arasında ABD'de bildirilen Stafilokokal gıda intoksikasyonları..	38
Tablo 5. 2012-2015 yılları arasında AB'de bildirilen Stafilokokal gıda intoksikasyonları	38
Tablo 6. Ülkemizde çeşitli gıdalarda <i>S. aureus</i> üzerine yapılan bazı araştırmalar.....	39
Tablo 7. Dünya'da ve Türkiye'de çeşitli gıdalarda MRSA üzerine yapılan bazı araştırmalar	42
Tablo 8. <i>16S rRNA</i> ve <i>nuc</i> geni için kullanılan primerler	52
Tablo 9. <i>16S rRNA</i> ve <i>nuc</i> genleri için mastermiks hazırlama oranları.....	52
Tablo 10. <i>16S rRNA</i> ve <i>nuc</i> geni PCR işlemlerine ait ısıl döngü ve süre diyagramı	53
Tablo 11. <i>coa</i> geninin belirlenmesinde kullanılan primerler.....	53
Tablo 12. <i>coa</i> geni için mastermiks hazırlama oranları.....	53
Tablo 13. <i>coa</i> geni PCR işlemlerine ait ısıl döngü ve süre diyagramı	54
Tablo 14. <i>S. aureus</i> enterotoksin PCR setleri	54
Tablo 15. <i>S. aureus</i> enterotoksin Set I için kullanılan primerler	55
Tablo 16. <i>S. aureus</i> enterotoksin Set I için mastermiks hazırlama oranları	55
Tablo 17. <i>S. aureus</i> enterotoksin Set I PCR işlemlerine ait ısıl döngü ve süre diyagramı	56
Tablo 18. <i>S. aureus</i> enterotoksin Set II için kullanılan primerler.....	56
Tablo 19. <i>S. aureus</i> enterotoksin Set II için mastermiks hazırlama oranları.....	57
Tablo 20. <i>S. aureus</i> enterotoksin Set II PCR işlemlerine ait ısıl döngü ve süre diyagramı.....	57
Tablo 21. <i>S. aureus</i> enterotoksin Set III için kullanılan primerler	57
Tablo 22. VITEK AST-P640 kartında yer alan antibiyotikler, konsantrasyonları ve raporlanabilir aralıkları.....	59
Tablo 23. <i>mecA</i> geninin belirlenmesinde kullanılan primerler.....	60
Tablo 24. <i>mecA</i> geni için mastermiks hazırlama oranları	60
Tablo 25. <i>mecC</i> geninin belirlenmesinde kullanılan primerler	61

Tablo 26. <i>mecC</i> geni için mastermiks hazırlama oranları	61
Tablo 27. <i>mecC</i> geni PCR işlemlerine ait ısıl döngü ve süre diyagramı	62
Tablo 28. <i>S. aureus</i> izolatlarının gıda ve mezbaha örneklerine göre dağılımı	65
Tablo 29. Analiz edilen tank sütü, tulum peyniri, tavuk eti ve sığır karkası örneklerinin <i>S. aureus</i> ile kontaminasyon düzeyleri.....	66
Tablo 30. Deri yüzülmesinden sonra (sağ yarım) ve kesim prosesi sonunda (sol yarım) analiz edilen sığır karkas örneklerinin <i>S. aureus</i> ile kontaminasyon düzeyleri (log kob/cm ²).....	66
Tablo 31. Kesim prosesinde kullanılan alet-ekipman (bıçak, masat, önlük) ve proseste çalışan personelin ellerinin <i>S. aureus</i> ile kontaminasyon düzeyleri (log kob/cm ²).....	67
Tablo 32. Enterotoksin geni varlığı yönünden <i>S. aureus</i> izolatlarının dağılımı.....	68
Tablo 33. Analiz edilen örneklere ait <i>S. aureus</i> izolatlarında enterotoksin genlerinin varlığı	70
Tablo 34. CLSI ve EUCAST standart MIC değerleri (µg/ml)	71
Tablo 35. <i>S. aureus</i> izolatlarının genel antibiyotik duyarlılıkları.....	72
Tablo 36. <i>S. aureus</i> izolatlarında örnek gruplarına göre antibiyotik duyarlılık oranları	73
Tablo 37. MRSA izolatlarının sefoksitin ve oksasilin direnci ile örnek gruplarına göre dağılımları	78

ÖZET

ÇEŞİTLİ KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*'UN BAZI VIRULENS ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Kızanlık Koçak P. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Programı Doktora Tezi, Aydın, 2019

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) ülkemizde ve dünyada gıda intoksikasyonlarında ve antibiyotiklere göstermiş olduğu direnç ile halk sağlığını tehdit eden patojenler arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Hayvansal gıdaların *S. aureus* ile kontaminasyonu; doğrudan bulaşmış gıdaların elde edildikleri hayvanlardan kaynaklanabileceği gibi, dolaylı olarak da gıdaların işlenmesi süresince yetersiz hijyen şartlarına bağlı alet-ekipman ve personel kaynaklı şekillenebilmektedir. Metisilin Dirençli *S. aureus* (MRSA) başlangıçta nozokomiyal bir etken olarak bilinirken, daha sonrasında etkenin toplum ilişkili ve son olarak da çiftlik hayvanları ilişkili suşlarının ortaya çıkması halk sağlığı açısından oldukça büyük bir risk olarak değerlendirilmektedir. Bütün bu nedenler göz önünde bulundurularak, çalışmada çeşitli kaynaklardaki *S. aureus* düzeyi, etkenin bazı virulens özellikleri ve antibiyotik direnç profilinin saptanması amaçlanmıştır.

Araştırma kapsamında 2016 ile 2018 yılları arasında Batı Ege Bölgesi illerinde (Aydın, İzmir, Muğla) bulunan çeşitli noktalardan temin edilen gıda (850 adet), mezbahada kullanılan alet-ekipman (150 adet bıçak, 150 adet masat ve 150 adet önlük) ile çalışan personelden (150 adet) olmak üzere toplam 1450 adet örnek incelenmiştir. Örneklerden konvensiyonel olarak tespit edilen 106 izolatin 92'sinin (%86,8) PCR ile doğrulaması yapılmıştır. Tank sütü örneklerinin %10,8'inin ortalama 3,01 log kob/ml, tulum peyniri örneklerinin %17'sinin ortalama 3,08 log kob/g, tavuk eti örneklerinin ise %12'sinin ortalama 2,89 log kob/g ve karkas örneklerinin ise %4'ünün ortalama 1,28 log kob/cm² düzeyinde *S. aureus* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Mezbahada uygulanan kesim proses zamanı göz önünde bulundurularak prosesin başında alet-ekipman ile personelden alınan örneklerin hiçbirinde *S. aureus*'a rastlanılmamıştır. Prosesin ortasında alınan önlük örneklerinden 1'inde (0,58 log kob/cm²), personelin ellerinden alınan örneklerin ise 2'sinde (1,26 log kob/cm²) *S. aureus* saptanmıştır. Prosesin sonunda personelden alınan örneklerde *S. aureus* tespit edilememiş, ancak bıçak (0,81 log kob/cm²), masat (0,63 log kob/cm²) ve önlük (0,58 log kob/cm²)

örneklerinden her birinden 1'er adet olmak üzere kesim prosesinde kullanılan alet-ekipmanlarda farklı düzeylerde *S. aureus* kontaminasyonu belirlenmiştir.

S. aureus izolatlarında enterotoksin oluşturan 10 genin varlığı (*sea-see*, *seg-selj*, *sep*) varlığı araştırılmış ve 39 adet (%42,4) izolatın bir ya da birden fazla enterotoksin geni içerdiği belirlenmiştir. Enterotoksijenik izolatlarda, klasik enterotoksinleri oluşturan genler içerisinde en çok *sed* geni saptanmış, yeni tanımlanan enterotoksin genlerinden en çok *sei* (21 adet), *seg* (19 adet) ve *seh* (20 adet) genleri tespit edilmiş, bununla birlikte izolatların hiçbirinde *selj* geni saptanamamıştır. Ayrıca, *S. aureus* izolatlarının antibiyotiklere karşı duyarlılığı VITEK 2 sistemi ile incelenmiş, 92 adet izolattan 66'sının (%71,7) farklı antibiyotik gruplarına karşı dirençli olduğu belirlenmiştir. İzolatların en çok %65,3 oranında penisiline dirençli olduğu tespit edilmiştir. Bu düzeyi %22,8 ile oksasilin, %18,4 ile klindamisin, %11,9 ile eritromisin, %9,8 ile sefoksitin, siprofloksasin ve fusidik asit, %7,7 ile daptomisin, %6,6 ile tetrasiklin ve fosfomisin dirençliliği izlemiştir. Gentamisine karşı 1 adet (%1), teikoplanin, vankomisin ile trimetoprim/sulfametoksazole karşı 3'er adet (%3,2), linezolid karşı ise 4 adet (%4,3) izolatın dirençli olduğu belirlenmiştir. Ancak tigesikline karşı dirençli *S. aureus* izolatı saptanamamıştır.

Çalışma kapsamında tüm izolatlarda PCR yöntemi ile *mecA* geni varlığı araştırılmış, 13 izolatta (%14,1) *mecA* geni tespit edilmiştir. Ayrıca *mecA* geni taşımayan izolatlar *mecC* geni varlığı yönünden incelenmiş, ancak izolatların hiçbirinde *mecC* geni varlığı belirlenmemiştir.

Sonuç olarak, çeşitli kaynaklardan elde edilen *S. aureus* izolatlarının çoğunun enterotoksijenik genlere sahip olması, *S. aureus* kaynaklı gıda intoksikasyonlarının meydana gelmesinin mümkün olabileceğini, izolatlarda saptanan antibiyotik dirençliliğinin belirli antibiyotikler açısından çok yüksek olmasının ve aralarında MRSA izolatlarının da bulunmasının halk sağlığı açısından sorun yaratabileceği ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Staphylococcus aureus*, virulens özellikleri, antibiyotik dirençliliği, halk sağlığı

ABSTRACT

DETERMINATION OF SOME VIRULENCE FEATURES OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLATED FROM VARIOUS SOURCES

Kızanlık Koçak P. Aydın Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences,
Department of Food Hygiene and Tecnology, Phd Thesis, 2019

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) is one of the most important pathogens which threat public health due to foodborne intoxications and antibiotic resistance in Turkey and all around the world. The contamination of *S. aureus* in food occurs due to the animal as the main sources of animal originated food, lack of hygiene during the processing stages, e.g. contamination of equipment and food-handler. Methicillin Resistant *S. aureus* (MRSA), initialy, was known as a nosocomial agent. Then community-associated MRSA, began to cause infections outside the health-care environment. The last significant emergence of MRSA has been associated with livestock animals. Due to this extended spectra in the dissemination, MRSA has become a great risk for public health. That is because of these reasons, this study was aimed to investigate the level of *S. aureus* in various sources and to determine some virulence features, and antibiotic resistance profile of this agent.

In this study, a total of 1450 samples obtained from food (n:850), equipment (n: 150 knife, n: 150 knife sharpener and n: 150 apron) and workers (n: 150) at the slaughterhouse collected from some provinces (Aydın, İzmir, Muğla) located in Western Aegean Region of Turkey. Ninety-two out of 106 (86.8%) conventionally isolated isolates were confirmed as *S. aureus* by PCR. It was determined that 10.8% of bulk tank milk samples were contaminated with a mean of 3.01 log cfu/ml *S. aureus*. The contamination rates and mean contamination levels for tulum cheese, chicken meat and beef carcasses were 17% and 3.08 log cfu/g, 12% and 2.89 log cfu/g, and 4% and 1.28 log cfu/g, respectively. When the processing period duration considered, none of the samples taken from equipment and personel examined at the beginning of process were found to be contaminated with *S. aureus*. One of the samples taken from butcher aprons (0.58 log cfu/ cm²) and 2 of the hands of butchers (1.26 log cfu/cm²) were found to be contaminated when samples were taken at the middle of the processing period. At the end of the process, none of the samples taken from personel were found to be contaminated with this agent. But, one of the samples (each) taken from knives (0.81 log

cfu/cm²), knife sharpeners (0.63 log cfu/cm²) and aprons (0.58 log cfu/cm²) were found to be contaminated with *S. aureus*.

The presence of 10 genes (*sea-see*, *seg-selj*, *sep*) expressing enterotoxins in *S. aureus* were investigated and 39 of the isolates (42.4%) were found to be consisting one or more enterotoxin genes. In isolates, *sed* was the most often found classical enterotoxin producing gene, and *sei* was the most often found (21 isolates) new enterotoxin gene which was followed by *seg* (19 isolates) and *seh* (20 isolates). No *selj* gene was found in any of the isolates determined. The antibiotic sensitivity of *S. aureus* isolates were investigated by VITEK 2, and 66 out of 92 isolates (71.7%) were found to be resistant to various antibiotics. The isolates were mostly resistant to penicillin (65.3%), which was followed by oxacillin (22.8%), clindamycin (18.4%), erythromycin (11.9%), cefoxitin, ciprofloxacin and fusidic acid (9.8%), daptomycin (7.7%), tetracycline and phosphomycine (6.6%). Beside this, 1 isolate for gentamicin (1%) and 3 isolates for each of teicoplanin, vancomycin, trimethoprim/sulfamethoxazole (3.2%), and 4 isolates for linezolid (4.3%) were found to be resistant. But, no *S. aureus* was found to be resistant to tigecycline.

In this study PCR was carried out for all isolates in order to determine *mecA*, and this gene was found in 13 isolates (14.1%). The isolates considered as not carrying *mecA* were subjected to PCR analysis in order to determine *mecC*. But no *mecC* was determined in any of the isolates analysed.

It was concluded that most of the *S. aureus* isolates isolated from various sources related with food and food processing possessed enterotoxin genes which might have the possibility of causing foodborne intoxications, and high antibiotic resistance profiles of these strains, including MRSA strains, for some antibiotics might also result in public health hazards.

Key Words: *Staphylococcus aureus*, virulence features, antibiotic resistance, public health

1. GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization-WHO) tarafından gıda kaynaklı hastalık; kontamine gıda ve suyun tüketilmesi sonucu oluşabilen enfeksiyöz veya toksik karakterli hastalık olarak tanımlanmaktadır. Günümüzde 250 adede yakın gıda kaynaklı hastalık tanımlanmış, bu hastalıkların da yaklaşık üçte birinin bakteriyel etkenler tarafından meydana getirildiği saptanmıştır. Gıda kaynaklı bakteriyel hastalıklar, etkenlerin özelliklerine bağlı olarak üç farklı şekilde oluşmaktadır. Bunlardan ilki patojen bakterilerin ürettikleri ekzotoksin veya endotoksinlerin alınmasıyla meydana gelen intoksikasyon tipidir. İkincisi bakterilerin vejetatif şekillerinin alınması sonucu enfeksiyon tipi, sonuncusu ise etkenlerin gıda ile alındıktan sonra bağırsaklarda toksin üretmesi sonucu oluşan toksik enfeksiyon tipidir (Bhatia ve Zahoor, 2007; Muratoğlu ve ark, 2015).

Gıda kaynaklı bakteriyel hastalıklarda kontamine gıdanın tüketiminin ardından patojenin veya toksinlerinin sindirim sisteminin bariyeri olarak kabul edilen epitelyum hücrelerini geçmesi sonucu genelde gıdanın tüketilmesinden belirli bir süre sonra bulantı, kusma, abdominal kramp, ishal gibi semptomlar görülmektedir. Gıda kaynaklı enfeksiyonlardan genellikle hayvansal (et ve et ürünleri, süt ve süt ürünleri vb.) kaynaklı gıdalar sorumlu tutulmakla birlikte, bu hastalıklara bebekler, çocuklar, yaşlılar, hastalar gibi immünsüpresif kişiler predispoze kabul edilmektedir (Normanno ve ark, 2007a; Aydın ve Sudağdan, 2016).

Son dönemlerde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda gıda kaynaklı hastalıkların insidansının arttığı belirlenmiştir. Bu duruma neden olarak da gıda endüstrisinin küreselleşmesi, hızlı nüfus artışı, iklimik değişiklikler, göçlerin artışı, insanların yaşam tarzı ve beslenme alışkanlıklarındaki demografik değişimler, toplumlarda hastalıklara predispoze insan sayısının artması, mikrobiyel adaptasyon ve antimikrobiyel direnç gibi faktörler gösterilmektedir. Bununla birlikte, bakterilerin gelişme ve hayatta kalma regülasyonu ile ilgili mekanizmalar, polimikrobiyal etkileşim ve çevresel faktörlere karşı bakterilerin savunma mekanizmalarındaki değişimler de hastalıkların insidansındaki artışta rol oynamaktadır (Erol, 2016; Xu ve ark, 2016).

Hastalık Kontrol ve Engelleme Merkezi (The Centers for Disease Control and Prevention; CDC) 2015 değerlendirme raporunda Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 902 adet gıda kaynaklı salgınının kayıt altına alındığı, 15 202 kişinin gıda kaynaklı hastalıklardan etkilendiği, bunlardan 950'sinin hastaneye kaldırıldığı ve 15 kişinin de öldüğü bildirilmiştir. ABD'de gıda kaynaklı hastalıkların son 20 yılda önemli ölçüde artmış olduğu ve nüfusun yaklaşık dörtte birinin gıda kaynaklı hastalıklar açısından yüksek risk taşıdığı araştırmacılar

tarafından ortaya konulmuştur. Aynı raporda, bu hastalıklardan sorumlu ilk beş bakterinin sırasıyla *Salmonella* spp, *Clostridium perfringens*, shiga toksin benzeri toksin üretebilen *Escherichia coli*, *Campylobacter* spp. ve enterotoksijenik *S. aureus* olduğu bildirilmiştir (CDC, 2018).

S. aureus gıda kaynaklı bir patojen olmanın yanında sahip olduğu virulens faktörleri nedeniyle insanlarda ve hayvanlarda çok sayıda enfeksiyona neden olabilen, ortam şartlarına oldukça dayanıklı ve çevresel kaynaklarda yaygın olarak bulunan bir mikroorganizmadır. Etken patojen bir tür olmasına karşın insanların deri ve burun mukozalarında da bulunmakta ve bu durum etkenin yayılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bununla birlikte *S. aureus*'a gıdalarda, gıda işletmelerinde ve bu işletmelerde çalışan personellerde sıklıkla rastlanmaktadır. Gıda işletmelerinde asemptomatik personel olası kontaminasyon riskinden dolayı Stafilokok kaynaklı intoksikasyonların önemli kaynağı olarak kabul edilmektedir. Gıda işleme prosesinde hijyen uygulamalarına dikkat edilmediği takdirde personel haricinde gıdaların hazırlanmasında kullanılan alet-ekipmanın da kontaminasyonda önemli bir paya sahip olduğu bilinmektedir (Doyle ve ark, 2012).

Stafilokok kaynaklı intoksikasyonların çok büyük bir bölümü *S. aureus*'un toksijenik suşları tarafından üretilen süperantijenik yapıdaki, ısıya dirençli enterotoksinler ile kontamine olmuş gıdaların alınması sonucu meydana gelmektedir. Stafilokokal intoksikasyonların oluşabilmesi için gıdanın enterotoksijenik *S. aureus* ile kontamine olması ve etken tarafından toksin üretilebilmesi için uygun şartlarda bir süre beklemiş olması gerekmektedir (Normanno ve ark, 2007a; Çakıcı ve ark, 2015). Etkenin yarışmacı özelliği zayıf olması nedeniyle çiğ gıdalardaki mikroflora ile rekabet edemediğinden, kontaminasyon genellikle gıdaların işlenmesi, pişirilmesi, depolanması, taşınması ve tüketime sunulması sırasındaki uygun olmayan şartlar ve yetersiz hijyen uygulamaları sonucu meydana gelmektedir (Argudin ve ark, 2010; Hennekinne, 2018).

S. aureus protein ve karbonhidratlarca zengin, asitliği düşük olan gıdalarda rahatlıkla gelişebildiğinden, intoksikasyonlardan sorumlu gıdaların büyük bir kısmının hayvansal gıdalar olduğu dikkat çekmektedir. Stafilokokal intoksikasyonlar, enterotoksin içeren gıdaların alınmasından 1-6 saat sonra abdominal ağrı, mide bulantısı, kusma ve gastroenterit gibi semptomlar ile açığa çıkmaktadır (Argudin ve ark, 2010; Aydın ve ark, 2011a; Crago ve ark, 2012; Doyle ve ark, 2012).

Stafilokokal enterotoksinler antijenik özelliklerine göre SEA, SEB, SEC, SED ve SEE olmak üzere 5 büyük serotipe ayrılmıştır. Ancak SEH'nin bulunmasıyla birlikte klasik enterotoksinler haricinde de çeşitli Stafilokokal enterotoksinler ve enterotoksin benzeri

toksinlerin varlığı ortaya konulmuştur. İntoksikasyondan sorumlu toksinler hakkında yapılan araştırmaların bazılarında klasik enterotoksinlerden çok, yeni tespit edilen enterotoksinlerin intoksikasyonlarda daha fazla oranda rol oynadıkları bildirilmiştir. *S. aureus*'un neden olduğu patojenitenin en alt seviyeye indirilmesi için çalışılmasına rağmen intoksikasyonlarda beklenen düzeyde azalma görülmemesi, etkenin gıdalarda her geçen gün daha güvenilir yöntemlerle ve doğru olarak belirlenmesini, epidemiyolojisinin ve patogenezinin daha iyi ortaya konulmasını gerektirmektedir. Dolayısıyla son dönemlerde yapılan çalışmalarda yalnız enterotoksinlerin tespiti yerine *S. aureus* izolatlarında enterotoksin oluşumundan sorumlu genlerin varlığı da araştırılmaktadır (Bania ve ark, 2006; Aydın ve ark, 2011a; Xu ve ark, 2016; Fisher ve ark, 2018)

Hem insan hem de hayvanların tedavisinde, aynı zamanda profilaktik amaçlı ve büyümeyi hızlandırmak gibi diğer amaçlarla bilinçsiz antibiyotik kullanımı sonucu antibiyotiklere karşı direnç gelişmekte ve bu direnç bakteriler arasında yayılmaktadır. Son yıllarda antibiyotiklere karşı direncin arttığı, bu artışın da antibiyotik öncesi çağa dönüş ve tedavi edilemeyen hastalıklara yol açabileceği bildirilmektedir. WHO ve çok sayıdaki diğer organizasyonlar, antibiyotik direncini halk sağlığını tehdit eden önemli tehlikelerden biri olarak tanımlamakta, direnç oluşumunun önlenmesinin ve kontrol programlarının geliştirilmesinin hayati önemini vurgulamaktadır (Normanno ve ark, 2007b; Aydın ve ark, 2011b).

Halk sağlığı açısından, *S. aureus*'un intoksikasyon dışında önemli olan bir diğer özelliği ise antibiyotiklere karşı gösterdiği dirençtir. *S. aureus* daha önceki çalışmalarda nozokomiyal enfeksiyonlardan sorumlu tutulsa da, yapılan araştırmalar gıda kaynaklı enfeksiyonlarda *S. aureus* taşıyıcı veya enfekte kişilerin gıdaların kontaminasyonunda ve enfeksiyonun yayılmasında etkin olduğunu göstermiştir. Kontamine gıdanın tüketilmesiyle özellikle immunsupresif insanların bağırsaklarında patojenik ve patojenik olmayan bakteriler arasında direnç genlerinin transferiyle direncin yayıldığı saptanmıştır (Normanno ve ark, 2007a; Pesavento ve ark, 2007; Aydın ve ark, 2011b).

Penisilinin klinik kullanıma sunulmasıyla *S. aureus*'a bağlı enfeksiyonların oranlarında önemli azalmalar görülmüş, ancak hızla penisilinlere ve ardından yarı sentetik türevi olan metisiline karşı direnç gelişmiştir. Bunu takiben tüm dünyada yaygınlaşan Metisilin Dirençli *S. aureus* (Methicillin Resistant *S. aureus*-MRSA) suşları nozokomiyal enfeksiyonların önemli bir etkeni haline gelmiştir. Daha sonrasında toplum ilişkili MRSA enfeksiyonları meydana gelmiş ve yaygın olarak görülmeye başlanmış, ardından da çiftlik

hayvanları kaynaklı MRSA ile farklı bir boyut kazanmıştır (Doyle ve ark, 2012; Sergelidis ve Angelidis, 2017).

Son dönemlerde yaygın bir şekilde kullanılan moleküler yöntemler, gıdalardaki hedef mikroorganizmanın saptanmasında güvenli bir alternatif olarak önem kazanmıştır. Ayrıca, konvansiyonel analiz metodlarında, moleküler yöntemlere göre istatistiksel ve metodolojik hata olasılığının daha yüksek olduğu bilinmekte ve aynı zamanda konvansiyonel analiz metodları ile izolasyon ve identifikasyon için gereken sürenin uzun, laboratuvar yükünün de daha fazla olduğu ifade edilmektedir. Diğer taraftan, gıda mikrobiyolojisinde tür identifikasyonu haricinde şüpheli izolatın patojenite açısından karakterize edilmesinin önem kazanması ve moleküler tekniklerle izole edilen suşların patojenite ve toksijenite özelliklerinin genetik düzeyde tanımlanabilmesi, söz konusu yöntemlerin önemini daha da arttırmaktadır. Ayrıca genotipik yöntemlerin, fenotipik yöntemlere göre tiplendirilebilirlik ve tekrarlanabilirlik bakımından daha da üstün yöntemler olduğu bilinmektedir. Bu nedenle gıda güvenliği ile halk sağlığının kontrolü ve devamlılığın sağlanması amacıyla kullanılan klasik yöntemlerin dışında, hızlı ve hassas sonuç veren moleküler yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Söz konusu moleküler yöntemlerden en çok kullanılanı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction-PCR) olup, bu yöntem mikroorganizmalarda çeşitliliğin saptanmasında, patojenite özelliklerinin ortaya konulmasında büyük kolaylıklar sağlamaktadır (Aydın ve Sudağdan, 2016).

Sonuç olarak, gıda güvenliğinin halk sağlığı ile ilişkili küresel olarak genişleyen bir konu olduğu ve “çiftlikten çatala” bütün boyutları ile değerlendirilmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Ülkemizde ve dünyada gıda zehirlenmelerinde ve antibiyotiklere göstermiş olduğu direnç ile patojenler arasında *S. aureus* ilk sıralarda yer almaktadır. *S. aureus* toksinleri aracılığıyla hastalık oluşturduğundan, kendisinin varlığının yanı sıra toksin oluşturma yeteneğinin olup olmadığı da araştırılmalıdır. Etkenin çoğu hayvansal gıdada, alet-ekipmanda ve personelde bulunması sebep olabileceği intoksikasyon riskinin yanında antibiyotik dirençliliğinin yayılmasında da önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir. Yapılan literatür taramasında, bölgemizde gıda kaynaklı *S. aureus* hakkında yapılan çalışmaların sınırlı sayıda olduğu görülmüştür. Rapor edilen tez çalışmasında çeşitli kaynaklardaki *S.aureus* düzeyinin, etkenin bazı virulens özelliklerinin, antibiyotik duyarlılık profilinin saptanması ve konu ile ilgili çözüm önerilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *S. aureus*'un Tarihçesi

Stafilokoklar ilk kez 1880 yılında İskoçyalı cerrah Sir Alexander Ongston tarafından bir hastanın diz eklemindeki apsede tanımlanmıştır. Bunun ardından Ongston apselerden izole ettiği bakteriler ile sağlıklı kobaylar ve fareler üzerinde deneysel olarak apseleri tekrar oluşturmuş ve etkenin enfeksiyöz özelliğini kanıtlamıştır. Mikroskopik incelemede ise etken üzüm salkımına benzediği için Yunanca staphylo üzüm salkımı, coccus da tane anlamına geldiğinden “*Staphylococcus*” olarak isimlendirilmiştir (Adams ve Moss, 2008; Myles ve Datta, 2012; Henry, 2013).

Alman doktor Friedrich Julius Rosenbach 1884 yılında ilk kez saf kültürünü yaparak Stafilokokların karakteristik özelliklerini incelemiştir. Yaptığı incelemede katı besiyerinde iki farklı renkte koloni tespit etmiştir. Rosenbach, besiyerinde sarı renk veren kolonileri *S. pyogenes aureus*, beyaz renk verenleri ise *S. pyogenes albus* olarak isimlendirmiştir. Yirminci yüzyılın başlarında yapılan çalışmalar Stafilokokların Mikrokoklardan farklı olduğunu gösterse de Winslow 1920’de bakteriyel sınıflandırmada Stafilokokları *Micrococcus* cinsine dahil edilmiştir. Evans 1955’te anaerobik şartlarda glikozdan asit oluşturabildiklerini ortaya koyarak “*Staphylococcus*” ismini ayrı bir cins olarak tanımlamıştır (Baird-Parker, 1965; Bhatia ve Zahoor, 2007; Henry, 2013).

İlk kez 1884 yılında Vaughan ve Sternberg tarafından Michiagan’da kontamine peynirlerin tüketimi sonucu şekillenen toksikasyonun Stafilokokal kaynaklı olabileceği belirtilmiştir. Owen 1907’de kuru sığır eti tüketimiyle oluşan salgında Stafilokokal gıda zehirlenmesi ile benzer semptomlara rastladığını bildirmiştir. Barber ise 1914 yılında mastitisli bir hayvandan elde edilen sütü tüketmesi sonucu Stafilokok intoksikasyonunun semptomlarını göstermiş, sonrasında bu süttten Stafilokok izole edip, semptomların toksin kaynaklı olduğunu ilk kez kanıtlamıştır. Stafilokokal intoksikasyonunun etiyojisi hakkında bir sonraki ilerleme 1930’da Dack ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Dack ve arkadaşları 11 kişinin intoksikasyonunun tüketmiş oldukları kek nedeniyle şekillendiğini bulmuş ve bu toksikasyondan enterotoksin üreten sarı renkli hemolitik Stafilokoku sorumlu tutmuştur. Daha sonrasında keklerden izole edilen stafikok kültürlerinden elde edilen süpernatantı bir tavşana intravenöz olarak, 3 gönüllü insana da oral olarak verilmiştir. Tavşan şekillenen ishalin hemen ardından ölürken, insanlarda süpernatant verilmesinden 3 saat sonra mide bulantısı, abdominal kramp, kusma, ishal ve sersemleme şekillenmiş ve gastrointestinal sistem üzerine

etkili olan Stafilokoksik toksin ilk gerçek enterotoksin olarak kabul edilmiştir (Hennekinne ve ark, 2012; Henry, 2013; Seo ve Bohach, 2013).

2.2. *S. aureus*'un Klasifikasyonu

Bergey'in "*Manuel of Systematic Bacteriology*" 1986 basımında, *Staphylococcus* ve *Micrococcus* cinsleri, *Micrococcaceae* ailesinde *Stomatococcus* ve *Planococcus* cinsleri ile birlikte bulunmaktaydı. Ancak yapılan moleküler filogenetik ve kemotaksonomik analizler ile Stafilokokların Mikrokoklarla yakından ilişkili olmadığı ortaya konulmuştur. Bergey'in "*Manuel of Systematic Bacteriology*" son baskısında Stafilokoklar *Firmicutes* şubesi *Bacilli* sınıfı *Bacillales* takımında *Staphylococcaceae* ailesi içinde Genus 1 olarak tanımlanmıştır (Winn ve ark, 2006; Becker ve ark, 2015).

Ocak 2013 itibariyle *Staphylococcus* cinsinin içinde 21 alt tür dahil olmak üzere 45 tür tanımlanmıştır. Stafilokok türlerinin çoğu memelilerin ve kanatlıların deri ile mukozalarında bulunmaktadır. Stafilokoklar arasından *S. aureus* insanlar için en önemli patojen tür olarak kabul edilmekte ve *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus* subsp. *saprophyticus* ve *S. lugdunensis* de insanlarda enfeksiyon oluşturabilmektedir. Ayrıca enfeksiyonlardan nadir olarak *S. auricularis*, *S. capitis* subsp. *capitis*, *S. capitis* subsp. *urealyticus*, *S. caprae*, *S. cohnii* subsp. *cohnii*, *S. cohnii* subsp. *urealyticus*, *S. hominis* subsp. *hominis*, *S. hominis* subsp. *novobiosepticus*, *S. pasteurii*, *S. pettenkoferi*, *S. saccharolyticus*, *S. schleiferi* subsp. *schleiferi*, *S. simiae*, *S. simulans*, *S. warneri* ve *S. xylosus* da sorumlu tutulmaktadır (Becker ve ark, 2015).

2.3. *S. aureus*'un Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri

S. aureus Gram pozitif, yaklaşık 1 µm çapında bir bakteri olup, mikroskopik incelemede tek, çift veya üzüm salkımı formunda kok şeklinde gözlemlenmektedir. Hücre duvarı lizozime dirençli ancak lizostafine duyarlı, hareketsiz, katalaz ve koagülaz pozitif, oksidaz negatif olan *S. aureus*, gıda toksikasyonlarından sorumlu *Clostridium perfringens*, *C. botulinum* ve *Bacillus cereus*'un aksine sporsuz bir bakteridir. *S. aureus* hemoliz yapma yeteneği nedeniyle koyun kanlı agar da sarı renkte koloni pigmentasyonu göstermektedir. Stafilokoklar peptidoglikan tabaka ve teiokik asit içeren tipik bir Gram pozitif bakteri hücre duvarına sahipken, *S. aureus*'un antibakteriyellere direnç geliştirmiş suşlarının hücre duvarlarında farklı yapılar bulunabilmektedir (Le Loir ve ark, 2003; Jay ve ark, 2005; Adams ve Moss, 2008; Bhunia, 2008; Seo ve Bohach, 2013; Becker ve ark, 2015).

S. aureus fakültatif anaerob olmasına rağmen aerob koşullar altında daha fazla üreme göstermekte ve glikoz metabolizmasının son ürünü olan asetoini üretebilmektedir (Seo ve Bohach, 2013). Koagülaz enzimi *S. aureus* suşlarının identifikasyonunda kullanılan önemli bir özellik olmakla birlikte kesin belirleyici bir faktör değildir (Erol, 2007). Etkenin mannitolü fermente edebilmesi ise identifikasyonunda önemli rol oynamaktadır (Winn ve ark, 2006; Seo ve Bohach, 2013).

S. aureus için en başarılı ve yaygın olarak kullanılan besiyeri 1960'lı yıllardan bu yana Baird Parker agardır. Selektif özelliği oldukça iyi olan bu besiyeri içermiş olduğu lityum klorür ve suplement içerisinde bulunan tellürit ile rekabetçi floranın inhibisyonunu sağlarken, yapısındaki piruvat ve glisin ile hazırlandıktan sonra ilave edilen yumurta sarısı hasar gören hücrelerin toparlanmasına yardımcı olmaktadır. Tellüritin *S. aureus* tarafından indirgenmesi sonucu karakteristik parlak siyah koloniler görülmektedir. Kolonilerin etrafında da yumurta sarısındaki lipovitellinin lesitinaz tarafından hidrolizi sonucu şeffaf zon oluşmakta ve böylece *S. aureus* için 2 tipik özellik belirlenebilmektedir. Ancak koagülaz, termonükleaz testleri gibi diğer testlerle de sonuçların doğrulanması gerekmektedir (Adams ve Moss, 2008).

2.4. *S. aureus*'un Gelişimini ve Enterotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Her mikroorganizma gibi *S. aureus* da sıcaklık dereceleri, pH, besin maddeleri gibi iç ve dış faktörlerden etkilenmektedir (Hennekinne ve ark, 2012). *S. aureus* aminoasitleri genel anlamda nitrojen kaynağı olarak kullanmaktadır. Ayrıca etken yaşamsal faaliyetlerini sürdürmek için B grubu vitaminlerden niasin ve tiamine de ihtiyaç duymaktadır. *S. aureus*'un üremesinde aerob ortam optimal olarak kabul edilirken, anaerob ortamda ise etken urasile gereksinim duymaktadır (Le Loir ve ark, 2003; Jay ve ark, 2005).

S. aureus rekabetçi özelliğinin zayıf olması nedeniyle gıdalarda bulunan yarışmacı mikroflora tarafından inhibe edilmektedir. Bu inhibisyon mikroflora kaynaklı pH düşüşü, hidrojen peroksit (H_2O_2) üretimi, bakteriyosinler, uçucu bileşikler gibi nedenlerden kaynaklanmaktadır. İnhibisyon seviyesini etkileyen en önemli faktörler; rekabetçi flora düzeyi ve bu düzeyin *S. aureus* düzeyine oranı ile ortam sıcaklığıdır (Le Loir ve ark, 2003; Paulin ve ark, 2011; Hennekinne ve ark, 2012).

Stafilokokal enterotoksinleri (SE) üreten suşlar ısıtma işlemi ile kolayca yıkımlanabilmesine rağmen enterotoksinler ısıtma işlemine dayanıklıdır. Enterotoksinler aynı zamanda gastrointestinal sistemdeki proteolitik enzimlere karşı da direnç göstermektedir. Ancak glikoz SE üretimini, özellikle de SEB ve SEC üretimini inhibe etmektedir. Bu

inhibisyon glikoz metabolizmasına bağılı pH düşüşünden kaynaklanmaktadır (Le Loir ve ark, 2003; Hennekinne ve ark, 2012; Seo ve Bohach, 2013).

S. aureus'un üremesi ve toksin oluşturabilmesi ile ilgili gerekli koşullar Tablo 1'de verilmiştir (Adams ve Moss, 2008).

Tablo 1. *S. aureus*'un üreme ve toksin oluşturması için genel koşullar

	Üreme		Toksın Oluşturma	
	Optimum	Spektrum	Optimum	Spektrum
Sıcaklık (°C)	35-37	7-48	35-40	10-45
pH değeri	6,0-7,0	4-9,8	6,0-7,0	4,8-9,0
a_w değeri	0,98->0,99	0,83->0,99	0,98	0,86->0,99
% NaCl	0,5-4	0-20	0,5	0-10
Atmosfer	Aerob	Aerob–Anaerob	Aerob (%5-20 DO ₂)	Aerob-Anaerob

2.4.1. Sıcaklık

S. aureus 7-48°C'ler arasında üreyebilen tipik bir mezofilik bakteri olmakla birlikte optimum üreme sıcaklığı 37°C'dir. Toksin oluşumu için sıcaklık değerleri 10 ile 46°C'ler arasında gösterilmekle beraber, optimum sıcaklık 35 ile 40°C'ler arasında kabul edilmektedir. Ancak yapılan çalışmalarda etkenin 10°C'de de enterotoksin oluşturabildiği bildirilmiştir. *S. aureus*'un sütteki logaritmik fazından elde edilen kültürlerinde D₆₂'nin 20-65 sn, D₇₂'nin 4,1 sn olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte *S. aureus*'un diğer süt ürünlerinde su aktivitesi değerinin (a_w) 0,70-0,80'lere düşene kadar ısıya dirençli olduğu, daha düşük değerlerde ise bu direncin azaldığı rapor edilmiştir. Yapılan çalışmalarda ısı direncinin değişken olduğu ve sabit fazdaki kültürlerin daha dirençli olduğu tespit edilmiştir (Adams ve Moss, 2008; Hennekinne ve ark, 2012).

2.4.2. pH Değeri

pH 4,0 ile 10,0 arasında oldukça geniş bir spektrumda üreyebilen *S. aureus* için optimal üreme ve enterotoksin üretim pH düzeyi 6,0 ile 7,0 arasında bulunmaktadır. *S.*

aureus'un gelişmesini etkileyen diğer parametrelerde olduğu gibi minimum üreme pH'sı da diğer tüm parametrelerin optimal seviyede olma derecesine bağlıdır. Örneğin pH 5,1'de aerob şartlarda enterotoksin üretimi belirlenirken, anaerobik şartlarda pH 5,7'de enterotoksin üretimi belirlenememiştir. Aynı zamanda pH'nın alkali olmasının da enterotoksin üretimini olumsuz etkilediği bildirilmiştir (Le Loir ve ark, 2003; Jay ve ark, 2005; Paulin ve ark. 2011; Hennekinne ve ark, 2012).

2.4.3. Su Aktivitesi Değeri (a_w)

Gıda ile ilişkili diğer patojenlere kıyasla *S. aureus* a_w değeri açısından çok daha geniş aralıkta üreyip, enterotoksin oluşturabilmektedir. *S. aureus* genellikle %7-10 düzeyinde NaCl içeren ortamlarda üreyebilirken, bu değer pH, a_w , sıcaklık gibi faktörlere bağlı olmakla birlikte bazı suşları için %20'ye kadar çıkmaktadır. Toksin oluşturmak için ortamdaki maksimum NaCl miktarının %10'a kadar düştüğü belirtilmektedir. *S. aureus*'un gelişebildiği ve toksin oluşturabildiği minimum a_w değerleri sırasıyla 0,83 ve 0,86 olarak bildirilmektedir (Adams ve Moss 2008).

Genel olarak, ortamdaki tuz konsantrasyonu arttığında, etkenin gelişmesi için gerekli olan minimum pH değerinin yükseldiği, ayrıca yüksek NaCl konsantrasyonunun pH'dan bağımsız olarak da enterotoksin üretimini olumsuz yönde etkilediği belirtilmektedir (Le Loir ve ark, 2003).

S. aureus'un osmotolerant özelliği üzerine yapılan araştırmalarda, etkenin düşük a_w değerlerinde, ortama tepki olarak glisin, betain, karnitin, prolin gibi düşük molekül ağırlıklı bileşikler ürettiği saptanmış, bu maddelerin sadece üremeyi değil aynı zaman da toksin sentezini de uyardığı tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada düşük a_w değerine sahip bir ortamda prolin varlığında SEB üretiminin belirgin bir şekilde uyarıldığı bildirilmiştir (Qi ve Miller, 2000; Hennekinne ve ark, 2012).

2.4.4. Atmosfer

S. aureus fakültatif anaerob bir bakteri olmasına rağmen aerob şartlarda daha iyi üreyebilmekte ve toksin oluşturabilmektedir. Anaerob şartlardaki üreme oldukça yavaş olmakla birlikte inkübasyon süresi uzatılsa dahi aerob şartlar altında ulaşılan değerlere ulaşamadığı yapılan araştırmalarla da kanıtlanmıştır (Hennekinne ve ark, 2012).

Belay ve Rasooly (2002) tarafından yapılan araştırmada, 37°C'de inkübe edilen kültürlerin üreme süresinin (generation time) aerob şartlarda 35 dakika, anaerob şartlarda ise 80 dakika olduğu tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada SEA'nın anaerob şartlarda aerob

şartlara göre nispeten daha az olmakla birlikte her iki durumda da 120 dakika inkübasyonun ardından üretildiği bildirilmiştir.

2.5. *S. aureus*'un Virulens Faktörleri

S. aureus hem insan hem de memeli hayvanların deri ve mukozal yüzeylerinin normal florasında bulunabilen bir bakteri olmakla birlikte, sahip olduğu virulens faktörleri nedeniyle çeşitli enfeksiyon ve intoksikasyonlara da neden olabilmektedir (Bhatia ve Zahoor, 2007; Zecconi ve Scali, 2013). Konakçı ilişkili faktörlere karşı etkenin sahip olduğu toksinlerin, hücre duvarı ile ilişkili adezinlerin ve ekzoproteinlerinin patojenite de önemli rollere sahip olduğu bilinmektedir (Peacock ve ark, 2002).

2.5.1. Kapsül

S. aureus'un genellikle mukoid türlerinde polisakkarit yapıda kapsül bulunabilmektedir. Bu kapsül etkeni fagositozdan koruyarak virulensini arttırmaktadır. *S. aureus*'a ait her biri heksoz-amin-üronik asit içeren polisakkarit yapıda 11 tip kapsül tanımlanmış ve kapsüllerden 4'ünün (tip 1, 2, 5 ve 8) biyokimyasal karakterizasyonu yapılmıştır. Klinik izolatlarının %70-80'inde tip 5 ve 8 kapsül serotiplerinin varlığı bildirilmiştir. Ayrıca bu iki kapsül serotipinin diğer virulens faktörleriyle ilişkili olduğu, oksasilin dirençli *S. aureus* suşlarının büyük çoğunluğunda tip 5 kapsül, toksik şok sendromu toksini üreten suşlarının çoğunda da tip 8 kapsül bulunduğu araştırmacılar tarafından tespit edilmiştir (O'Riordan ve Lee, 2004; Winn ve ark, 2006).

2.5.2. Hücre Duvarı

2.5.2.1. Peptidoglikan tabaka

S. aureus'taki peptidoglikan tabaka; N-asetilmuramik asit (NAMA) ve N-asetilglukozamin (NAGA) rezidülerinden oluşan, tipik olarak 20-30 nm kalınlığında, koruyucu bir bariyer olmanın yanı sıra hücre morfogenezi, hücre bölünmesi ile patogenez için gerekli yüzey proteinleri ve hücre dışı matriksin adezyonunda görevli bir yapıdır (Sharif ve ark, 2009).

Hücre duvarı sentezi enzimatik adımlardan oluşmaktadır. Transglikozilaz disakkarid pentapeptidlerin birbirlerine bağlanmalarına, transpeptidaz pentapeptid köprüler oluşturarak peptidoglikan yapının retiküler bir yapı kazanmasına ve D-karboksi peptidaz ise pentapeptid yapı içindeki son D-alaninin zincirden ayrılmasına neden olmaktadır (Cottagnoud, 2002).

Transpeptidaz sitoplazmik membrana gömülü, karboksipeptidaz ise periplazmik aralığa uzanan iki kısımdan oluşmaktadır. Transpeptidazın aktif bölgesi periplazmik kısımda yer almaktadır. Penisilin ve diğer beta-laktamlar bu enzimlerin substrat analogları olduğu ve NAMA-pentapeptid ünitesinin son kısmında yer alan D-alanin-D-alanin dipeptidine benzediklerinden dolayı Penisilin Bağlayan Proteinler (Penicillin Binding Proteins-PBP) olarak da isimlendirilmektedirler. Beta laktam antibiyotikler, transpeptidazlara geri dönüşümsüz olarak bağlanıp, enzimin aktif bölgesini etkileyerek stabil ve işlevsiz bir enzim kompleksi oluşturmaktadır (Moreillon ve ark, 2005). PBP'lerin inhibisyonu bakterinin ölümüne neden olurken, PBP'lerin beta-laktam antibiyotiklere olan afinitesindeki azalma ise antibiyotik direncine neden olmaktadır (Cottagnoud, 2002). Bunlara ek olarak MRSA'lar farklı bir PBP olan PBP2a'ya sahiptirler. PBP2a metisilin ile diğer beta-laktam ilaçların çoğuna afinitesi düşük olan, hücre membranına bağlı ve transpeptidasyon reaksiyonunu katalizleyen bir enzimdir. Böylece diğer PBP'ler beta laktam grubu antibiyotiklerle inhibe olsalar da, hücre duvarı sentezi PBP2a'nın transpeptidaz aktivitesi aracılığıyla devam etmektedir (Ünal, 2009).

2.5.2.2. Teikoik asit

Teikoik asit, sadece Gram pozitif bakterilerin hücre duvarında bulunan, 5-karbonlu ribitol ya da 3-karbonlu gliserol birimlerinden meydana gelmiş bir polimerdir. Hücre duvarının yaklaşık %30-50'sini oluşturmakta ve kalınlığının yaklaşık 10-12 nm arasında olduğu belirtilmektedir. Bu polimer, ribitol veya gliserol moleküllerinin fosfodiester bağları ile bağlanarak ribitol teikoik asiti ya da gliserol teikoik asiti oluşturur. Ribitol teikoik asit hücre duvarına bağlanırken, gliserol teikoik asit hücre membranına bağlanmaktadır. (Swoboda ve ark, 2010).

Teikoik asit yapısı, hücre yüzeyine negatif yük vererek çeşitli metal iyonlarının, katyonların lokalizasyonunda ve otolitik enzimlerin aktivasyonunda rol oynamaktadır (Winn ve ark, 2006). *S. aureus*'ta bulunan ribitol teikoik asit mukozalarda bulunan özgül reseptörleri (fibronektin, fibrinojen, elastin, sialoprotein ve kollojen) ile birleşerek etkenin konağa tutulumunu (adherens) sağlamaktadır. Ayrıca hücre duvarının sertliğini ve esnekliğini de desteklemektedir (Neuhaus ve Baddiley, 2003; Weidenmaier ve ark, 2005; Winn ve ark, 2006).

2.5.3. Yüzey Proteinleri

S. aureus'un konakçının ekstrasellüler matriks ve plazma proteinlerine adezyonu etkenin kolonizasyonu ve yayılımında oldukça önemli bir faktördür. Ekstrasellüler matrikse bağlanma “Adeziv Matriks Moleküllerini Tanıyan Mikrobiyel Yüzey Bileşenleri” (Microbial Surface Components Recognising Adherence Matrix Molecules-MSCRAMM) ve “Salgılanabilen Genişletilmiş Adezyon Molekülleri” (Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules-SERAMs) olarak bilinen bakteri yüzey proteinlerinin aracılık ettiği enfeksiyon sürecinin ilk adımıdır. Yüzey proteinlerinin çoğu sortaz enzimi aracılığı ile konakçı hücrelerine kovalent olarak bağlanabilmektedir. Bu proteinler ekstrasellüler matrikse bağlanmanın yanı sıra konakçının immun cevabı üzerine etkili olup, etkenin internalizasyonunda da görev almaktadır (Clarke ve Foster, 2006; Chavakis ve ark, 2007).

Yüzey proteinlerinden Stafilokokal Protein A (SpA) konakçı hücre duvarına bağlanma ile ilgili çoğu araştırmada model olarak kullanıldığından ayrı bir öneme sahiptir (Clarke ve Foster, 2006). Molekül ağırlığı 42 kDa olan SpA, IgG'nin Fc (fragment crystallizable–kristalize olabilen fragment) kısmına bağlanıp, Fc ile reseptör ilişkili fagositozu bloke etmekte, ayrıca kompleman aktivasyonunun başlatılmasını da engelleyebilmektedir. SpA, spesifik olarak Tümör Nekroz Faktörü- α 'nın (Tumor Necrosis Factor- α ; TNF- α) reseptörü Tümör Nekroz Faktör Reseptör 1'e (Tumor Necrosis Factor Receptor 1; TNFR 1) bağlanarak yangısal uyarılmayı azaltır (Palmqvist ve ark, 2002; Chavakis ve ark, 2007; Zecconi ve Scali, 2013). Ayrıca SpA insanlarda bulunan “Von Willebrand Faktörü” (VWF)'nü de bağlama yeteneğine sahiptir. Trombositler normal şartlar altında endotele veya birbirlerine yapışmazken, endotel bütünlüğünün bozulduğu durumlarda açığa çıkan subendotelyal kollojene yapışmaktadır. Bu durumda endotel hücreler tarafından üretilen VWF, trombosit ile subendotelyumu birleştiren bir köprü görevindedir. Ancak *S. aureus* enfeksiyonlarında SpA VWF'e bağlandığından doku hasarının onarılamamasına ve vaskulit tablosuna neden olmaktadır (O'Seaghdha ve ark, 2006).

2.5.4. Enzimler

S. aureus konakçıda yaşamını devam ettirebilmek ve konakçı immun yanıtına karşı kendini korumak amacıyla birçok enzim üretmektedir. Bunlardan bazıları; katalaz, koagulaz, hyaluronidaz, fosfotidilinozitol-spesifik fosfolipaz C, deoksiribonükleaz, termonükleaz, stafilokinaz ve betalaktamazdır (Dinges ve ark, 2000; Sandel ve McKillip, 2004).

2.5.4.1. Katalaz

S. aureus, monosit, makrofaj ve polimorf nükleer lökositler içerisinde de yaşayabilmekte, ancak bu durumda konakçı immun sistemin yanıtı olan reaktif oksijen türlerine (Reactive Oxygen Species-ROS) maruz kalmaktadır. Etken serbest radikallere karşı etkili olan katalaz enzimi sayesinde makrofajlar tarafından üretilen hidrojen peroksiti (H_2O_2) metabolize etmektedir. Dolayısıyla fagositoz sırasında kendini konakçının immun yanıtına karşı korumaktadır. Katalazın spesifik aktivitesi etkenin logaritmik fazının başında düşüken, durağan fazda maksimum seviyeye ulaşmaktadır (Sandel ve McKillip, 2004; Das ve ark, 2008).

2.5.4.2. Koagulaz

S. aureus'un ekzoenzimlerinden olan koagulaz, etkenin tanımlanmasında kullanılan başlıca virulens faktörü olarak kabul edilmektedir. *S. aureus* suşları bağlı ve serbest olmak üzere 2 tip koagulaz enzimi üretmektedir. Hücre duvarında bulunan bağlı koagulaz, doğrudan fibrinojeni çözünemez fibrin haline getirerek etkenin kümelenmesine neden olmaktadır. Serbest koagulaz ise Koagulaz Reaksiyon Faktörü (Coagulase Reacting Factor-CRF) ile reaksiyona girerek trombin benzeri faktör olan stafilotrombin oluşturmaktadır. Oluşan stafilotrombin fibrinojenin fibrine dönüşümünü katalizleyerek bakterilerin kümeleşmesini sağlamaktadır. Laboratuvar şartlarında bağlı koagulaz lam testinde etkenin aglütinasyonu şeklinde, serbest koagulaz ise tüp testinde pıhtı oluşumu şeklinde tespit edilmektedir. Uygulanabilirliği kolay olması nedeniyle lam testinin kullanımı daha yaygındır. Ancak lam testinin negatif sonuç verdiği durumlarda doğrulama için tüp testine başvurulması gerekmektedir. Koagulaz, etkenin üzerini fibrin ile kaplayarak fagositozu ve granülosit aktivasyonunu inhibe etmekte, böylece konakçı immun sisteminin savunma mekanizmalarından etkeni koruyabilmektedir (Haghkhah, 2003; Sandel ve McKillip, 2004; Winn ve ark, 2006; Peetermans ve ark, 2015; UMS, 2015).

2.5.4.3. Hyaluronidaz

S. aureus suşlarının %90'ından fazlası tarafından üretilen hyaluronidaz enzimi, özellikle bağ dokuda bulunan hücreleri bir arada tutan asidik mukopolisakaritlerden hyaluronik asidi hidrolize ederek etkenin doku içerisinde yayılımını sağlamaktadır. Ayrıca bu enzim bakterinin doku içerisindeki yayılımını sağladığı için "yayılma faktörü" olarak da adlandırılmaktadır (Sandel ve McKillip, 2004; Winn ve ark, 2006; Hart ve ark, 2009).

2.5.4.4. Fosfatidilinozitol-Spesifik Fosfolipaz C

S. aureus fosfatidilinozitol-spesifik fosfolipaz C (PI-PLC) sayesinde ökaryotik hücre membranlarındaki fosfolipitleri hidrolize ederek, hücresel sinyal prosesini bozmakla birlikte etkenin kutanöz ve subkutanöz dokulara yayılımını sağlamaktadır. Bununla birlikte PI-PLC tarafından etkilenen dokular, kompleman aktivasyonu sırasında biyoaktif tamamlayıcı bileşen ve ürünler tarafından hasara ve tahrip olmaya daha duyarlı hale gelmektedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda özellikle akut respiratör distres sendromu (ARDS) ve dissemine intravasküler koagülati (DIC) hastalardan izole edilen suşlarda PI-PLC enziminin varlığının dikkat çekici olduğu bildirilmiştir (Daugherty ve Low, 1993; Sandel ve McKillip, 2004; Winn ve ark, 2006).

2.5.4.5. Deoksiribonükleaz

Isıya dirençli olan Deoksiribonükleaz (DNaz) enzimi nükleik asitleri 3'-fosfomononükleotidlere parçalayan bir fosfodiesteraz olup, patojenik Stafilocok ve patojenik olmayan yerleşik flora arasındaki farkı belirlemede koagülaz enziminden sonra en önemli özellik olarak kabul edilmektedir (Gündoğan ve ark, 2006).

2.5.4.6. Termonükleaz

Ekzo ve endonükleaz aktiviteye sahip Termonükleaz (TNaz) enzimi, DNA ve RNA'yı yapılarında bulunan fosfodiester bağlarını hidrolize ederek nükleotidlere parçalamaktadır. TNaz ısıya oldukça dirençli olup, 100°C'de 1 saat kaynatıldığında dahi enzimatik aktivitesini koruyabilmektedir (Brakstad ve ark, 1992; Sandel ve McKillip, 2004; Winn ve ark, 2006; Tang ve ark, 2011).

2.5.4.7. Stafilokinaz

Genellikle insan kaynaklı Stafilocoklar tarafından üretilen Stafilokinaz enzimi konak proteinlerinden olan α -defensin ve plazminojen ile kompleks oluşturarak etkeni hem fagositozdan korumakta hem de çevresel dokulara invazyonunu kolaylaştırmaktadır (Bokarewa ve ark, 2006).

2.5.4.8. Beta laktamaz (β -laktamaz, Penisilinaz)

β -laktamaz, penisilinden ve diğer β -laktam halkası bulunan bileşiklerden inaktif penisiloinik asit oluşturarak penisilin direncine neden olan bir enzimdir. *S. aureus*'un penisilin direnci ilk kez 1941'de tespit edilmiş, her geçen yıl direnç oranı artış göstermiştir. Penisilin

direnci plazmid kökenli olduğundan, çok hızlı bir şekilde yayılmış ve dirençli suşların rastlanma sıklığı 1980'lerin sonunda %90'lara ulaşmıştır (Pesavento ve ark, 2007; Ünal, 2009).

2.5.5. Toksinler

S. aureus, konakçının immun sistemini etkileyip immun yanıtın oluşmasını engelleyen birçok toksin sentezleyebilmektedir. Bu toksinler esas olarak enfeksiyonun yakın çevresindeki hücreleri etkileyerek, etken için besin maddesi sağlamanın yanı sıra kolonizasyon ve enfeksiyon alanının genişletilmesinde de rol oynamaktadır. *S. aureus*'un bazı suşları hemolizin olarak tanımlanan sitolitik toksinlerin, Panton Valentine Lökosidin'in (PVL), stafilokokal enterotoksinlerin (SE), Toksik Şok Sendromu Toksin-1'in ve eksofoliyatif toksinlerin aynı anda birini veya daha fazlasını üretebilmektedir (Dinges ve ark, 2000; Huseby ve ark, 2007).

Toksinlerin üretiminde başta *agr* (accessory gene regulator) lokusu olmak üzere, çeşitli düzenleyicilerinin rolü bulunmaktadır. Bu düzenleyicilerin yanı sıra toksinlerin sentezlenme zamanı ve çevresel etkenlere göre toksin sentezlenmesi ise sigma (σ) faktörler tarafından düzenlenmektedir. Yüzey proteinleri genellikle hücrenin logaritmik fazında sentezlenirken, toksinler de dahil olmak üzere ekzoproteinlerin çoğu ise logaritmik fazın sonlarına doğru veya erken durgunluk fazında üretilmektedir. Enfeksiyonun başlangıcında yüzey proteinleri ekstraselüler matriks proteinlerine bağlanarak etkenin konak dokularına kolonizasyonunu sağlarken, ekzoproteinler etkenin komşu dokulara yayılmasına yardımcı olmaktadır (Seo ve Bohach, 2013).

2.5.5.1. Sitolitik toksinler

S. aureus tarafından üretilen sitolitik toksinler litik fonksiyonlarına göre isimlendirilmektedir. Kırmızı kan hücrelerini lize edenlere hemolizin, beyaz kan hücrelerini lize edenlere ise lökotoksin adı verilmektedir (Otto, 2014).

2.5.5.1.1. Alfa toksin

S. aureus'un birçok suşu tarafından sentezlenebilen alfa toksin (α -toksin), 33 kDa ağırlığında bir polipeptit olup, memeli hücrelerinin çoğu için oldukça toksiktir. Eritrosit ve bazı lökosit tipleri üzerine hemolitik etkiye sahip olmasına rağmen nötrofillere karşı etkisizdir. Özellikle tavşan eritrositlerine karşı hemolitik aktivitesi yüksek olan α -toksin, aynı zamanda nörotoksik ve dermonekrotik etkiye de sahiptir. Tavşan eritrositlerinin α -toksine

diğer memeli eritrositlerine göre en az 100 kat, insan eritrositlerine göre ise 1000 kat fazla duyarlı olduğu bildirilmiştir (Dinges ve ark, 2000; Huseby ve ark, 2007; Otto, 2014).

α -toksin monomerleri bir araya gelerek silindirik heptamerleri oluşturmakta ve hücre membranına bağlanarak membranda 1-2 nm'lik porlar meydana getirmektedir. Hücre membranına bağlanma sürecinde α -toksin düşük konsantrasyonlarda spesifik reseptörlere ihtiyaç duyarken, yüksek konsantrasyonlarda reseptör ayırt etmeksizin membrana bağlanabilmekte ve düzensiz porlar oluşturmaktadır. Membranda düzensiz bir şekilde porların oluşmasıyla birlikte, potasyum iyonları ile diğer küçük moleküller hücre dışına çıkarken, kalsiyum, sodyum ve düşük moleküler ağırlığa sahip moleküller hücre içine girmektedir. Bu durum hücrede osmotik değişikliğe neden olmakta ve hücrenin lizisiyle sonuçlanmaktadır (Dinges ve ark, 2000; Otto, 2014).

2.5.5.1.2. Beta toksin (Sfingomyelinaz C)

Beta toksin (β -toksin) 35 kDa ağırlığında, sfingomyelinaz fonksiyonuna sahip bir polipeptittir. Hücre yüzeyindeki sfingomyelin konsantrasyonu ile orantılı olarak membranlarda fosfolipidlerin hidrolizini katalizlemektedir. β -toksin lenfositler ve nötrofiller üzerine etkili de olsa, asıl etkisini eritrositler üzerine göstermektedir. En iyi koyun, daha az olarak da insan ve tavşan eritrositleri üzerinde etkilidir. Bu durum türlere göre eritrositlerin değişen düzeylerde sfingomyelin içermelerinden kaynaklanmaktadır (Dinges ve ark, 2000; Huseby ve ark, 2007).

β -toksin, koyun kanlı agarda 37°C'de eritrositler ile etkileşime girmekte, ancak onları tam olarak lize edememektedir. Agarlar takiben 4°C'de inkübe edildiğinde ise hemolitik aktivite arttığından lizis tamamlanmaktadır. Bu nedenle β -toksin "sıcak-soğuk toksin" olarak da adlandırılmaktadır. Aynı zamanda β -toksin tanısal mikrobiyolojide bazı bakterilerin hemolitik aktivitelerinin belirlendiği CAMP testinde de kullanılmaktadır (Dinges ve ark, 2000; Huseby ve ark, 2007).

2.5.5.1.3. Gama toksin

Gama toksin (γ -toksin) çoğu *S. aureus* suşu tarafından sentezlenebilen, 32 kDa molekül ağırlığına sahip bir polipeptittir. Toksin hem hemolitik hem de lökotosik aktivite gösterebilmekte; nötrofil ve makrofajları etkilemenin yanı sıra birçok memeli eritrositlerini de hemolize etmektedir. Bununla birlikte, agarın toksin aktivitesi üzerindeki inhibisyon etkisinden dolayı, kanlı agarda hemoliz tanımlanamamaktadır (Dinges ve ark, 2000; Huseby ve ark, 2007).

2.5.5.1.4. Delta toksin

Delta toksin (δ -toksin), 3 kDa molekül ağırlığında, hücre membranında porlar oluşturabilen bir polipeptittir. Birçok *S. aureus* suşu tarafından sentezlenebilen bu toksin geniş bir sitolitik aktivite spektrumuna sahip olmasına rağmen diğer sitolitik toksinler kadar etkin değildir. δ -toksin eritrositler ve diğer memeli hücreleri ile birlikte membrana bağlı organeller, sferoplast ve protoplast gibi subselüler yapıları da lize edebilmektedir (Dinges ve ark, 2000). Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalarda δ -toksinin mast hücre degranülasyonunu indükleyerek atopik dermatite neden olduğu bildirilmiştir (Otto, 2014).

2.5.5.1.5. Panton-Valentine Lökosidin

Panton Valentine Lökosidin (PVL), *S. aureus* tarafından üretilen γ -toksin homologlarından biridir. γ -toksin birçok *S. aureus* suşu tarafından üretilirken, PVL üreten suşların yüzdesi oldukça düşüktür. Yapısal olarak α -toksine benzemekle birlikte patojenitede önemli role sahip olan PVL ilk olarak toplum ilişkili MRSA suşlarında tespit edilmiştir (Dinges ve ark, 2000; Boyle-Vavra ve Daum, 2007; Otto, 2014).

PVL sinerjik olarak çalışan F (hızlı) ve S (yavaş) olmak üzere iki protein komponentinden oluşmaktadır. Gama toksin ve PVL'i sentezleyebilen suşlar 3 S (yavaş) bileşeni (*HlgA*, *HlgC* ve *LukS-PV*) ve 2 F (hızlı) bileşeni (*HlgB* ve *LukF-PV*) kodlayan gen bölgelerine sahip olup, 6 farklı kombinasyon şeklinde bulunabilmektedir. Bu komponentler tek tek hareket ettiklerinde toksik olmalarına rağmen hemolitik ve lökotosik etkileri yoktur (Dinges ve ark, 2000; Kaneko ve Kamiro, 2004).

PVL sitotosik etkiye sahip olmasına rağmen, diğer toksinlerin aksine non hemolitiklidir. Ayrıca PVL polimorf nükleer lökosit (PMNL) ve makrofajları üzerine sitolitik etki gösterirken, diğer hücre tiplerine etki etmemektedir (Dinges ve ark, 2000). Toksinin S ve F komponenti birlikte çalıştığında hücre membranında porlar oluşturarak degranülasyona neden olmaktadır (Holzinger ve ark, 2012). Başlangıçta *lukS-PV* bileşeni PMNL üzerindeki reseptöre bağlanmakta, bunu *lukF-PV* bileşeninin S komponenti üzerine bağlanarak dimer yapının oluşumu izlemektedir. Sırasıyla *lukS-PV* ve *lukF-PV* bileşenleri birbirleri üzerine bağlanarak PMNL lizisine neden olan heptamer halka yapısını oluşturmaktadır. *lukS-PV* bileşeni PMNL üzerine bağlandığında protein kinaz tarafından fosforile edilmekte ve Ca^{+2} kanalları aktive olmaktadır. Bu durum interlökin ve diğer inflamatuvar mediatörlerin üretimi ve salınımı için sinyal oluşturmaktadır. Ortamda bulunan PVL konsantrasyonu fazla ise, hücre membranında porlar oluşarak PMNL'ler lize olmaktadır. Ancak PVL konsantrasyonu az ise, mitokondri membranında por oluşturularak sitokrom C salınmakta ve kaspaz enzimleri indüklenmektedir. Kaspaz

enzimlerinin aktivasyonu ile da hücre apoptozise uğramaktadır (Boyle-Vavra ve Daum, 2007).

Araştırmalarda PVL'nin frunküloz, primer cilt apseleri ve ciddi deri nekrozlarıyla seyreden enfeksiyonlar ve özellikle çocuklarda ve genç erişkinlerde görülen nekrotizan pnömoni gibi hastalıklarla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Nekrotizan pnömonilerle ilişkili PVL pozitif *S. aureus* enfeksiyonlarında sepsis, yüksek ateş, lökopeni, pleural efüzyon ve ölüm daha sık görülmektedir. Bu tip *S. aureus* pnömonisi hızla ilerleyebilme yeteneğine ve yüksek mortalite oranına sahiptir. Akciğerin inflamatuvar ve nekrotik histopatolojik görünümü nedeniyle de bu tip pnömonilere "*S.aureus* hemorajik nekrotizan pnömoni" adı verilmektedir. Ayrıca PVL üreten epidemik toplum ilişkili MRSA suşlarının da üretmeyenlere oranla daha ciddi seyreden enfeksiyonlara neden olduğu tespit edilmiştir (Kaneko ve Kamio, 2004; Boyle-Vavra ve Daum, 2007; Holzinger ve ark, 2012).

2.5.5.2. Süperantijenler

Hücre içi immün yanıt hücre membranına bağlı α ve β ya da γ ve δ zincirlerinden oluşan T hücre antijen reseptörleri (TCR-T cell receptor) tarafından antijenin tanınmasıyla şekillenmektedir. Antijen sunan hücrelerin (APC-Antigen presenting cell) üzerinde membrana bağlı proteinlerden major histokompatibilite kompleks II (MHC-II) molekülleri yer almaktadır. Süperantijenler konvensiyonel antijenlerin aksine TCR'nin β zincirinin değişken bölgesine ($V\beta$) direkt olarak bağlanmakta ve bu reseptörleri APC'deki MHC-II molekülleri ile köprü oluşturarak non-spesifik olarak birleştirmektedir. Bununla birlikte bazı enterotoksinlerin MHC-II moleküllerine yüksek düzeyde bağlanması Zn^{+2} iyonlarının varlığında gerçekleşmektedir. Konvensiyonel antijenler ise APC'nin işleyişini takiben MHC-II molekülünün antijen bağlayıcı peptid oluşu ile bağlantılı olarak spesifik T hücreleri ile etkileşime girmektedir. Sonuç olarak süperantijenler antijen bağlayıcı peptid yolağı dışında MHC-II ile etkileşime girip ve T hücrelerine bağlandığından, konvensiyonel antijenler tarafından aktive edilebilenlerden daha yüksek bir T hücresi yüzdesini etkinleştirebilmekte ve daha fazla sitokin salınımına neden olmaktadır (Le Loir ve ark, 2003; Baker ve Acharya, 2004; Erol ve İşeri, 2004; Seo ve Bohach, 2013; Aman, 2017).

S. aureus tarafından sentezlenen TSST-1, ekfoliyatif toksin, enterotoksinler ve enterotoksin benzeri toksinler süperantijen olarak fonksiyon göstermektedirler. *S. aureus*'un diğer toksinleri gibi süperantijenler de geç logaritmik fazda veya erken durgunluk fazında en yüksek düzeyde sentezlenmektedir (Seo ve Bohach, 2013).

2.5.5.2.1. Toksik şok sendromu toksin-1

Toksik Şok Sendromu Toksin-1 (TSST-1) ilk kez 1978'de toksik şok sendromu gözlenen hastalardan izole edilen Stafilokoklarda bildirilmiştir. İlk olarak 1981 yılında yapılan deneylerde maymunlarda emetik aktivite görüldüğünden dolayı toksine Stafilokokal Enterotoksin F ismi verilmiştir. Ayrıca 1983 yılında tavşanlarda yapılan deneylerde de pirojenik aktivite gözlemlendiğinden toksin aynı zamanda pirojenik ekzotoksin C olarak da adlandırılmıştır. Ancak 1984'teki doğrulama çalışmalarında toksinin emetik aktivite için önemli olan sistein döngü yapısına sahip olmaması nedeniyle emetik aktivitesinin bulunmadığı, ilk yapılan araştırmada da emetik aktivitenin SEA'dan kaynaklandığı ortaya konulmuştur. Bu çalışma ile birlikte toksin tekrar isimlendirilerek TSST-1 adını almıştır (Bergdoll ve ark, 1981; Dinges ve ark, 2000; Spaulding ve ark, 2013).

TSST-1, 22 000 Da molekül ağırlığına sahip, tek polipeptid zincirinden oluşan, ısı ve proteolize dirençli, süperantijen aktivitesine sahip kromozomal kökenli bir ekzotoksindir. Toksin yüksek oranda hidrofobik karakterde aminoasitler içermesine rağmen sudaki çözünürlüğü yüksektir (Dinges ve ark, 2000).

TSST-1'in neden olduğu Toksik Şok Sendromu (TSS) yüksek ateş, diffuz eritematöz döküntü, hipotansiyon ve çoklu organ yetmezliği ile karakterize akut bir hastalıktır. TSS'nin çeşitli yaralar, enfekte yanıklar dahil olmak üzere yumuşak doku enfeksiyonları, postpartum enfeksiyonları ve pnömonilerle de ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Silversides ve ark, 2010).

TSST-1 T hücreleri ve makrofajları aktive ederek interlökin-2 (IL-2), TNF- α ve IL-6 salınımını uyarır. Bu sitokinlerin salınımına bağlı olarak da hipotalmik ateş meydana gelmektedir. Aynı zamanda toksin düşük konsantrasyonlarda endotelial hücre geçirgenliğini sağlarken, yüksek konsantrasyonlarda da sitotoksik etki göstermektedir. TSST-1 TNF- α ve TNF- β gibi vazoaktif medyatörlerin sistemik salınımını indüklemekte ve lipopolisakkarit yapıdaki moleküllerle sinerjistik etki göstererek vasküler endotelial hücre hasarına yol açmaktadır. Endotelial hücrelerdeki hasar nedeniyle de hipotansiyon ve şok tablosu şekillenebilmektedir. TSS'de ölüm ise hipovolemik şokun neden olduğu çoklu organ yetmezliği sonucu meydana gelmektedir (Dinges ve ark, 2000; Silverside ve ark, 2010; Spaulding ve ark, 2013).

2.5.5.2.2. Eksfoliyatif toksin

Epidermolitik toksin, epidermolizin veya eksfoliyatin olarak da isimlendirilen eksfoliyatif toksin, lokalize kabarcıklardan generalize eksfoliasyonlara kadar uzanan hastalık spektrumundan sorumludur. Ciltte yaygın büller ve cildin soyulmasıyla karakterize

Stafilokokal Haşlanmış Deri Sendromu (Staphylococcal Scalded Skin Syndrome-SSSS) toksinin neden olduğu en yaygın hastalık olarak bilinmektedir (Ladhani, 2003).

SSSS ilk kez 1878'de Baron Gottfried Rotter Von Rittershain tarafından yenidoğanlarda epidermal ekfoliyasyon lezyonlarından tanımlanmıştır. Toksin kan dolaşımı yoluyla enfeksiyon bölgelerine geldiğinden uzun bir süre ekfoliyasyonun *S. aureus* ilişkili olduğu tespit edilememiştir. Bununla birlikte 1967 yılında Lyell bu klinik tablonun toksin kaynaklı olabileceğini öne sürmüştü, 1972'de Melish ve arkadaşları ise yapmış oldukları araştırmalar sonucu toksinin *S. aureus* ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (Bukowski ve ark, 2010).

S. aureus tarafından sentezlenen ekfoliyatif toksinin antijenik ve yapısal özelliklerine göre 4 serotipi bulunmakla beraber, bunlardan ekfoliyatif toksin A (ETA), ETB ve ETD insanlarda görülen enfeksiyonlarda tespit edilmiştir (Mariutti ve ark, 2017). SSSS olgularından sorumlu olan ETA ve ETB serotipleridir. ETA 26 950 Da molekül ağırlığında, ısıya dirençli olup, yapısında 242 aminoasit bulundurmakta ve kromozomal olarak kodlanmaktadır. ETB ise 27 274 Da molekül ağırlığında, ısıya duyarlı olup, 246 aminoasitten oluşmakta ve plazmidal olarak kodlanmaktadır. İnsanlardaki enfeksiyonlarla ilişkili olmayan ETC ise ilk kez bir attaki deri enfeksiyonundan izole edilmiştir. ETC 27 kDa molekül ağırlığında, ısıya duyarlı bir toksin olup, yapılan araştırmalarda toksinin bu serotipinin yenidoğan farelerde ve civcivlerde intraepidermal çatlaklar ve ekfoliyasyon alanları oluşturabildiği gözlemlenmiştir. ETD de 27 kDa molekül ağırlığında olup, ETA ile %40, ETB ile %59 ve ETC ile %13 oranında genetik benzerlik göstermektedir. Bununla birlikte ETD ile SSSS arasında bir ilişki olmadığı, ETD'nin epitelyal bariyerin bütünlüğünü bozarak, *S. aureus*'un dokulara invazyonunu kolaylaştırdığı bilinmektedir (Ladhani, 2003; Müştak ve Esendal, 2008; Bukowski ve ark, 2010; Mariutti ve ark, 2017).

SSSS genel ve lokal olmak üzere 2 form olarak gözlemlenmektedir. Ritter hastalığı olarak da adlandırılan generalize form genellikle bebeklerde ve çocuklarda görülmektedir. Hastalık ateş ve eritem ile başlamakta, takibinde iştahsızlık, halsizlik, vücudun çeşitli bölgelerinde kolay parçalanan büyük yüzeysel kabarcıklar gözlemlenmektedir. Tedavinin gerçekleşmediği durumlarda derinin epidermis katmanı soyulduğundan dolayı hassasiyet ve ağrı artmaktadır. Bullous impetigo olarak bilinen lokalize form ise her yaşta bireyi etkileyebilmektedir. Bu formda genellikle içi seröz karakterden purulent karaktere kadar değişen sıvı ile dolu yüzeysel kabarcıklar görülmekle birlikte sistemik bulgulara rastlanılmamaktadır. Lezyonlar yenidoğanlarda perineum bölgesinde, daha büyük çocuklarda ise ekstremitelerde yaygın olarak görülmektedir (Ladhani, 2003; Koosha ve ark, 2014).

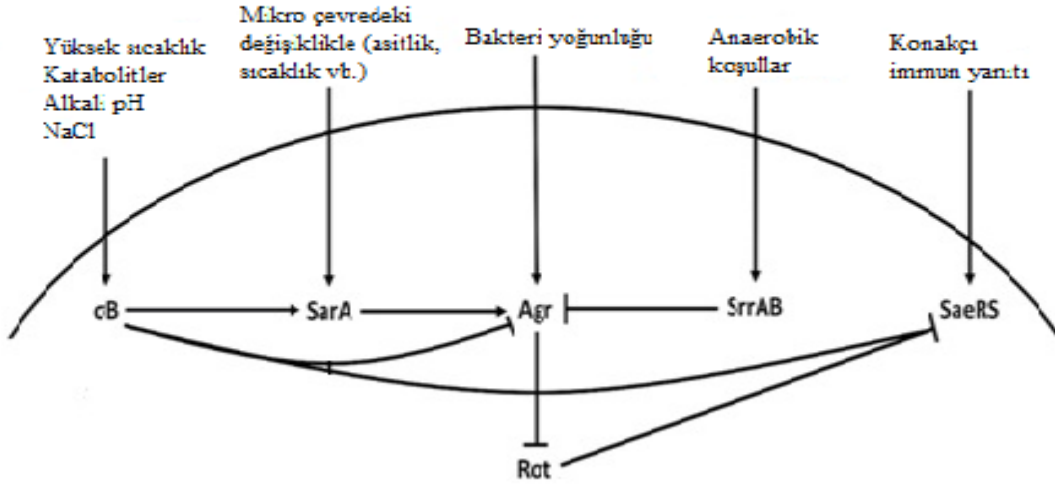
ETA, ETB ve ETD derinin sadece epidermidis tabakasında etki gösterirken, diğer tabakalarında herhangi bir değişikliğe neden olmamaktadır. Bu durumun nedeni de toksinlerin desmozomal kaderin olan Desmoglein-1'i (Dsg-1) hidrolize etmesidir. Lezyonların sadece stratum granulosumda görülmesi ise toksinlerin Dsg-1'e affinitesi olup, Dsg-3'e etki etmemesinden kaynaklanmaktadır. Dsg-1 derinin tüm katmanlarında bulunurken, Dsg-3 ise sadece derinin derin katmanlarında bulunmaktadır. Toksinlerin oluşturduğu hasarlar stratum granulosum tabakası haricinde Dsg-3 tarafından düzeltilirken, stratum granulosumda Dsg-3 olmadığından lezyonlar meydana gelmektedir (Bukowski ve ark, 2010).

2.5.5.2.3. Enterotoksinler

Stafilokoklar tarafından oluşturulan bu toksinler başta *S. aureus* olmak üzere *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. xylosus* ve *S. epidermidis* gibi bu grupta yer alan diğer türler tarafından da üretilmektedir. Stafilocokal enterotoksinler (SE) ve Stafilocokal enterotoksin benzeri toksinler (staphylococcal enterotoxin like toxin-SEL) özellikle gıda güvenliği açısından *S. aureus*'un başlıca virulens faktörleri olarak kabul edilmektedir. Hem enterotoksinler hem de enterotoksin benzeri toksinler glikolizasyon özelliği olmayan, suda çözünebilir, düşük molekül ağırlıklı (19-29 kDa), 168-261 aminoasit içeren tek zincirli globuler yapıda proteinlerdir. Enterotoksinler bütün üreme fazları boyunca üretilmektedir ancak temel olarak logaritmik fazın ortasında veya sonunda üretim oranı artmaktadır (Balaban ve Rasooly, 2000; Bhatia ve Zahoor, 2007; Argudin ve ark, 2010; Hu ve Nakane, 2017; Fisher ve ark, 2018; Hu ve ark, 2018).

Toksinlerin üretiminde *agr* (accessory gene regulator), *sar* (staphylococcal accessory regulator), *srrAB* (staphylococcal respiratory response), *saeRS* (*S. aureus* exoprotein ekspresyon sistemi), σB (sigma) ve *rot* (repressor of toxins) gen regülatörlerinin rolü bulunmaktadır. Her regülatör, belirli gen kümelerinin transkripsiyonunu doğrudan veya dolaylı olarak kontrol edebilmektedir. Bununla birlikte, bir genin transkripsiyonu, birden fazla regülatör tarafından kontrol edilmektedir. Regülatörlerin tamamı çeşitli çevresel streslere ve uyarılara cevap vermektedir. *agr* çevresel algılama sistemi (Quorum Sensing) ile birlikte çalışmakta ve bakteri yoğunluğunun arttığı durumlarda aktive olup, toksinlerin oluşumunu indüklerken, yüzey proteinlerinin oluşumunu baskılamaktadır. *sarA* *agr* sistemini uyarırken aynı zamanda asitlik, sıcaklık gibi mikro çevredeki değişikliklere yanıt oluşturmakta ve bazı ekzoproteinlerin sentezini de düzenlemektedir. *srrAB* sistemi anaerobik koşullar altında bakteriyel büyümeyi etkilerken, *saeRS* sistemi de konakçı savunma sistemi tarafından oluşturulan antimikrobiyal maddelere yanıt oluşturmaktadır. σB sistemi yüksek sıcaklığa,

katabolitlere, alkali pH'a, yüksek konsantrasyondaki tuz oranına karşı cevap verirken, *rot* sistemi ise transkripsiyonel özelliğe sahip olduğundan *agr* sistemini etkileyerek bazı toksinlerin sentezlenmesini kontrol etmektedir. Toksin genlerinin sentezinden görevli gen regülatörleri Şekil 1'de verilmiştir (Le Loir ve ark, 2003; Seo ve Bohach, 2013; Fisher ve ark, 2018).



Şekil 1. Toksin genlerinin sentezinden görevli gen regülatörleri

Gıda zehirlenmelerinden 1990'lardan önce emetik aktivitelerinden dolayı toplam 7 tip klasik enterotoksin (SEA, SEB, SEC1, SEC2, SEC3, SED VE SEE) sorumlu tutulmaktaydı. Ancak 1994 yılında SEH'nin bulunmasıyla birlikte, klasik SE'ler ile genetik homolojiye dayalı olarak çok çeşitli SE veya SEI'ler rapor edilmiştir (Xu ve ark, 2016)

Günümüze kadar 24 farklı SE ve SEI tanımlanmıştır. Toksinlerin tanımlanmasında primatlarda emetik aktivite gösterebilme, süperantijenite, sindirim enzimlerine ve sıcağa dirençli olma ile yapısal benzerlik kriterleri göz önünde bulundurulmakta olsa da asıl olarak emetik aktivite dikkate alınmaktadır. Bir toksinin SE olarak isimlendirilmesi için bir primat modele (maymun, sivri burunlu fare vb.) oral veya intraperitoneal uygulama yoluyla verilmesi ve emetik aktivitesinin kanıtlanması zorunludur. Emetik aktivite deneylerinde negatif sonuç alınması veya henüz deneylerin yapılmaması halinde yapısal benzerlik gösterdiğinden bu toksinler SEI olarak adlandırılmaktadır (Hennekinne ve ark, 2010; Hu ve Nakane, 2014; Benkerroum, 2017; Fisher ve ark, 2018).

Genel olarak SE ve SEI'lerden sorumlu genler plazmidler, profajlar, transpozonlar, *S. aureus* patojenite adaları (SaPI), enterotoksin gen kompleksi (enterotoxin gene cluster-*egc*)

gibi mobil genetik elemanlar (MGE) üzerinde taşınmaktadır. Bu durum sayesinde suşlar arasında horizontal gen transferi sağlanabilmektedir (Benkerroum, 2017).

SE ve SEI'ler; yapılarında bulunan nükleotit ve aminoasit sekanslarının karşılaştırılmasına dayanarak SEA grubu (SEA, SED, SEE, SEI/J, SEH, SEN, SEO, SEP, SES), SEB grubu (SEB, SEC, SEG, SER, SE/U, SE/W), SEI grubu (SEI, SEK, SEL, SEQ, SEM, SE/V), SE/X grubu (TSST-1, SET, SE/X, SE/Y, Stafilokokal süperantijen benzeri toksinler) ve streptokoklar tarafından üretilen ancak Stafilokoklar tarafından üretilmeyen yapısal olarak Stafilokokal süperantijenik toksinlere benzeyen toksin grubu olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır (Ono ve ark, 2015; Fisher ve ark, 2018; Hu ve ark, 2018). Spesifik 2 yapısal özelliğin varlığı ya da yokluğu süperantijen ve enterotoksijenik özellikleri tanımlamakta ve gruplar arası farklılıkları ortaya koymaktadır. Bunların ilki MHC-II molekülüne bağlanma alanlarıdır. SE/X ve SEB gruplarındaki toksinler MHC-II moleküllerinin α -zinciri ile etkileşime giren düşük afiniteli MHC-II bağlanma bölgesi içerirken, SEA ve SEI gruplarındaki toksinler ise α -zinciri ile etkileşime giren düşük afiniteli MHC-II bağlanma bölgesine sahip olmasının yanı sıra MHC-II moleküllerinin β -zinciri ile etkileşime giren yüksek affiniteli MHC-II bağlanma bölgesine de sahiptir. Bundan dolayı süperantijen aktivitesi artmakta, T hücreleri ve APC'lerden sitokin salınımı normalden fazla olmaktadır. Gruplar arası farklılığa neden olan ikinci yapısal özellik ise 9-19 aminoasit içeren sistein döngülerinin oluşturduğu disülfid köprüleri olup, bu yapının aynı zamanda emetik aktiviteyi de indüklediği rapor edilmiştir. Ancak yapılan çalışmalarla emetik aktivitenin indüklenmesinde sistein döngülerinden ziyade disülfid köprülerinin daha etkili olduğu ortaya konulmuştur. SEA ve SEB gruplarında sistein döngüsü bulunmakta, SEA grubundaki sistein döngüsü 10-19 aminoasit içerirken, SEB grubundaki döngü sadece 9 aminoasitten oluşmaktadır. SEI ve SE/X gruplarının yapısında ise sistein döngüsü bulunmamaktadır. Bir *S. aureus* izolatu bu enterotoksinlerin bir ya da birkaçını üretebilmektedir (Bania ve ark, 2006; Fisher ve ark, 2018; Hu ve ark, 2018). Son yıllarda yapılan araştırmalarda klasik enterotoksinlerin haricinde SEG, SEH, SEI, SEI/J ile SEP'ye de sıklıkla rastlanıldığı belirtilmiştir. Çalışmamızda klasik enterotoksinlerden sorumlu genlerle beraber SEG, SEH, SEI, SEI/J ile SEP enterotoksinlerinin sentezinden sorumlu genlerin de varlığı araştırılmıştır. Aşağıda çalışmamızın konularından bir tanesi olan söz konusu enterotoksinlerle ilgili literatür bilgisi verilmiştir.

Stafilokokal enterotoksin A: SEA ilk kez 1959 yılında tanımlanmış, sonrasında insanlar için toksik dozu 20-100 ng arasında değişen ve gıda zehirlenmeleri ile ilişkili en sık karşılaşılan enterotoksin olarak bildirilmiştir. SEA'yı 771 baz çiftinden oluşan *sea* geni kodlamaktadır.

sea geninin bir bakteriyofaj tarafından taşınmakta olduğu ve karşılıklı gen aktarımının ise kromozom içerisinde tamamlandığı tespit edilmiştir. Moleküler ağırlığı 27 kDa olan SEA diğer enterotoksinlerin aksine logaritmik fazın ilk dönemlerinde de sentezlenebilmekte ve pH, tuz konsantrasyonu gibi çevresel şartlar uygun olmasa dahi intoksikasyon yapacak düzeye ulaşabilmektedir. Bundan dolayı gıda intoksikasyonlarından en çok sorumlu tutulan toksin olarak kabul edilmektedir (Erol ve İşeri, 2004; Seo ve Bohach, 2013; Xu ve ark, 2016).

Stafilokokal enterotoksin B: Enterotoksinler arasında en güçlü toksik etkiye sahip olan SEB, düşük konsantrasyonlarda dahi gıda intoksikasyonları dışında atopik dermatite, solunum hastalıklarına (astım ve nazal polipler), çoklu organ yetmezliğine ve ölümlere neden olabilmektedir. SEB sentezinden sorumlu *seb* geni 705 bp uzunluğundadır. Gıda intoksikasyonlarından sorumlu olan izolatlarda *seb* geninin kromozal yapıda olduğu, diğer bakteri suşlarında ise genin bir plazmid tarafından taşındığı tespit edilmiştir. SEB üretimi genellikle logaritmik fazın sonlarına doğru gerçekleşmektedir. SEB ısıya dayanıklı bir enterotoksin olup, pH değişikliklerine toleranslı ve proteolitik enzimlere karşı da dirençlidir. Ancak sıcaklığın azalışı, tuz konsantrasyonunun artışı ve katabolitlerin varlığı SEB sentezlenmesini baskılamaktadır (Balaban ve Rasooly, 2000; Müştak ve Esendal, 2008; Xu ve ark, 2016).

Stafilokokal enterotoksin C: SEC hakkında yapılan çalışmalarla antijenik olarak SEC1, SEC2 ve SEC3 olmak üzere üç farklı alt tipinin olduğu bildirilmiştir. SEC1'in SEC2 ile arasında %97, SEC3 ile arasında da %97,9 oranında, diğer taraftan SEC3 ile SEC2 arasında ise %98 oranında benzerlik olduğu tespit edilmiştir. Bu alt tiplerin yanı sıra toksinin >%95 aminoasit homolojisine sahip ek varyantları (SEC-bovine, SEC-ovine gibi) da bulunmaktadır. SEC'lerin sentezinden sorumlu genler 801 bp uzunluğunda olup, kromozomlardaki patojenite adaları tarafından taşınmaktadır. SEC üretimi de genellikle geç logaritmik fazda gerçekleşmektedir. *S. aureus*'un SEC üreten suşlarının genellikle süt ve süt ürünleri ile ilişkili olduğu, ancak peynirde SEC oranının diğer enterotoksinlere oranla daha az olduğu bildirilmiştir (Balaban ve Rasooly, 2000; Erol ve İşeri, 2004; Seo ve Bohach, 2013; Xu ve ark, 2016). Diğer taraftan Valihrach ve ark (2014) bir araştırmada sağlıklı hayvandan elde edilen sütün Stafilokokal gelişme üzerine etkili olmasa da enterotoksin ekspresyonunu baskıladığı, özellikle SEC üretiminde bu durumun sütteki protein seviyesinden kaynaklanabileceği rapor edilmiştir.

Stafilokokal enterotoksin D: Gıda zehirlenmelerinde SEA'dan sonra en sık izole edilen enterotoksin SED'dir. SED sentezinden sorumlu *sed* geni penisilinaz plazmidini pIB485 tarafından taşınmakta ve SED, SEA gibi logaritmik fazda da sentezlenebilmekte ancak

logaritmik fazdan durağan faza geçiş sırasında maksimum seviyeye ulaşmaktadır. Ayrıca yapılan araştırmalarda SED sentezinde NaCl konsantrasyonunun inhibe edici etkisinin olabileceği bildirilmiştir (Balaban ve Rasooly, 2000; Seo ve Bohach, 2013; Xu ve ark, 2016).

Stafilokokal enterotoksin E: SEE sentezinden sorumlu *see* geni 771 bp uzunluğunda olup, bir bakteriyofaj tarafından taşınmaktadır. Yapılan sekans çalışmalarında SEA, SED ve SEE'nin birbirleriyle yakın ilişkili olduğu tespit edilmiştir. SEE'nin karşılaştığı aşırı asidik (pH 2) ve aşırı bazik (pH 12) koşullar dışında, ısı işleme maruz kaldığında da toksisite ile antijenite özelliklerinin azaldığı, bu durumun da yapısal değişiklikten kaynaklanabileceği rapor edilmiştir. SEE'nin gıda intoksikasyonlarında diğer klasik enterotoksinlere nazaran daha az sıklıkta tespit edildiği bildirilmiştir (Erol ve İşeri, 2004; Xu ve ark, 2016; Fisher ve ark, 2018).

Stafilokokal enterotoksin G: SEG 27 kDa moleküler ağırlığında olup, *egc1*, *egc2*, *egc3*, *egc4* üzerinde bulunan *seg* geni tarafından kodlanmaktadır. SEG üretimi logaritmik fazın erken dönemlerinde maksimum seviyededir. Ayrıca yapılan çalışmalarda SEG ile SEB, SEC arasında benzerlik olduğu belirlenmiştir (Erol ve İşeri, 2004; Fisher ve ark, 2018; Hu ve ark, 2018)

Stafilokokal enterotoksin H: SEH 27 300 Da molekül ağırlığına sahiptir. SEH sentezinden sorumlu *seh* geni transpozonlar tarafından taşınmaktadır. SEH SEA grubunda yer almakta, bununla birlikte SEA kadar potansiyele sahip olmamasına rağmen insan MHC-II molekülüne bağlanma afinitesi yüksek olup, insan T hücreleri üzerine mitojenik aktivite göstermektedir. Böylece çok daha fazla miktarda T hücresi aktive olmaktadır. SEH üretimi diğer enterotoksinlerde de olduğu gibi çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Aerob şartlarda veya pH seviyesi 7 olduğunda SEH üretimi artış gösterirken, anaerob şartlarda veya hafif bir pH değişiminde toksinin üretiminde azalma meydana gelmektedir (Balaban ve Rasooly, 2000; Pettersson ve Forsberg, 2002; Xu ve ark, 2016).

Stafilokokal enterotoksin I: SEI SEG ile aynı zamanda birlikte tanımlanmıştır. SEI 24 928 Da molekül ağırlığında olup, *egc1*, *egc2*, *egc3* üzerinde bulunan *sei* geni tarafından kodlanmaktadır. Çevresel faktörlere bağlı olmakla birlikte *egc* üzerinde taşınan genler tarafından sentezlenen diğer enterotoksinler gibi SEI da logaritmik fazın erken dönemlerinde yüksek seviyede sentezlenebilmektedir (Xu ve ark, 2016; Fisher ve ark, 2018).

Stafilokokal enterotoksin benzeri toksin J: SEIJ'nin emetik aktivitesi tespit edilememiştir. SEIJ'yi sentezinden sorumlu *selj* geni aynı zamanda *sed* genini de taşıyan plazmid pIB485 üzerinde bulunmaktadır. SEIJ; yapısında 269 aminoasit bulundurmakta, SEA, SED ve SEE'ye

%64-66 oranında dizilim benzerliği göstermektedir (Balaban ve Rasooly, 2000; Erol ve İşeri, 2004).

Stafilokokal enterotoksin P: SEP yapısında 230 aminoasitten oluşan, molekül ağırlığı 26 351 Da olan ve sentezinden sorumlu *sep* geni profajlar tarafından taşınan bir enterotoksindir. Yapılan araştırmalarda *sep* geni taşıyan MRSA suşlarında bakteriyemi riskinin fazla olduğu, dolayısıyla da *sep* geni varlığının invaziv hastalıklar için prediktif virulans faktörü olduğu bildirilmiştir (Omoe ve ark, 2005; Xu ve ark, 2016).

2.6. Patogenez

SE kaynaklı gıda intoksikasyonları bir ya da daha fazla enterotoksinin alınması sonucu oluşmaktadır. SE üretimi; gıdanın bileşimi, sıcaklık, antimikrobiyel inhibitörler gibi faktörler ile gıdalarda bulunan suşların SE üretme yeteneğine bağlı olduğundan gıda zehirlenmesi için gerekli olan *S. aureus* düzeyi net olarak belirlenmemektedir. Ancak yapılan çalışmalar gıdalarda *S. aureus*'un 10^5 - 10^8 kob/g düzeyinde bulunmasının gıda zehirlenmesine neden olabilecek toksik doz miktarının üretilmesi için yeterli olduğunu göstermiştir. İntoksikasyon semptomlarının indüklenmesi için gerekli SE miktarı, intoksikasyondan sorumlu SE tipine/tiplerine, intoksikasyona maruz kalan tüketici grubuna bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Bununla birlikte genel olarak 70 kg ağırlığındaki bir insan için toksik dozun 20-100 ng arasında değiştiği kabul edilmektedir (Bhunia, 2008; Seo ve Bohach, 2013, Benkerroum, 2017).

Stafilokokal kaynaklı gıda intoksikasyonlarında kontamine gıdanın tüketiminden kısa bir süre sonra semptomlar açığa çıkmaktadır. Semptomlar; mide bulantısı, kusma, ishal, abdominal kramp ve prostrasyon olarak sıralanabilir. Bazı hastalarda ateş, baş dönmesi, titreme, terleme, düşük nabız ve anafatik şok semptomları da görülebilmektedir. Semptomlar genellikle gıda tüketiminden sonra ortalama 6 saat içerisinde görülmekte ve 1-2 gün içerisinde kaybolmaktadır. Bu tip intoksikasyonlarda mortalite oranı genellikle oldukça düşük olmasına rağmen, bebekler, hamileler, hastalar ve yaşlılar gibi riskli gruplarda mortalite oranı artabilmektedir (Adams ve Moss, 2008; Bhunia, 2008; Seo ve Bohach, 2013).

SE'ler ile kontamine gıdaların tüketiminden sonra toksinler gastrointestinal sistemde absorbe edilmekte, tipik kusma ve ishal tablosu meydana gelmektedir. Diğer birçok bakteriyel enterotoksinin aksine SE'lerin gastrointestinal sistemde spesifik bir reseptörü yoktur. Enterotoksinler gastrointestinal sisteme alındıktan sonra bağırsak epitelyumunda goblet hücreleri ve epitelyum hücrelerinden geçerek lamina propriyaya ulaşırlar. Burada enterotoksinler mast hücrelerine bağlanmakta ve mast hücrelerinden 5-hidroksitriptamin

(serotonin: 5 HT) salgılanmasına neden olmaktadır. Bu mediatör de vagal afferent sinir üzerinde 5-hidroksitriptamin 3 (5-HT₃) reseptörlerine bağlanmaktadır. 5-HT'nin oluşturduğu depolarizasyon sonucunda medulla oblongatada bulunan emetik merkez uyarılmakta ve kusma tablosu şekillenmektedir. Ayrıca yapılan araştırmalarda mast hücrelerinin degranülasyonu sonucu açığa çıkan histamin, prostaglandin E₂, sisteinil lökotrien, 5 hidroksieikosatetraenoik asit gibi çeşitli yangı mediyatörlerinin de emetik aktivitede rol aldığı bildirilmiştir (Argudin ve ark, 2010; Seo ve Bohach, 2013; Benkerroum, 2017; Fisher ve ark, 2018).

SE'lerin neden olduğu ishal semptomunun mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Ancak SE'lerin yapılan hayvan deneylerinde bağırsak lümenindeki Na iyonunu azalttığından kolera toksinin etki mekanizmasına benzer şekilde hareket ettiği kabul edilmiştir. Toksinler intestinal mukoza hücrelerinden enterositlerin üzerindeki GM1 gangliositlere bağlanıp adenilat siklaz enzimini aktive etmektedirler. Enzimin aktivasyonu nedeniyle de siklik adenozin mono fosfat (cAMP) üretimi artmakta ve bununla doğru orantılı olarak bağırsak lümenindeki Cl iyonunda da artış meydana gelmektedir. Oluşan ozmotik değişiklikler nedeniyle Na iyonları gibi elektrolitler bağırsak lümenine geçiş yaparak diyareyi şekillendirmektedir (Benkerroum, 2017).

İntestinal epitelyum, lümeni bağışıklık sistemi hücrelerinden ayıran, antijenler, bakteriler ve viruslar için bariyer görevi gören hücreler tabakasıdır. SE'lere karşı oluşan immun yanıt tarafından indüklenen inflamasyon nedeniyle bağırsak permeabilitesinde artış ve sıkı bağlantı proteini (tight junction protein) sentezinde azalma meydana gelmektedir. Epitelyumun bariyer fonksiyonun bozulması sonucu antijenler ile bağışıklık sistemi hücreleri etkileşime girmektedir. SE'ler epitelyal bariyer bozulmadan da lümene geçiş sağlayabilmekte ve böylece T hücreleri ile karşı karşıya gelmektedir. Aynı zamanda SE'ler T hücrelerini indüklemenin yanı sıra MHC-II'ye bağlanıp APC'lerden inflamatuvar yanıtlar da meydana getirmektedir. Sonuç olarak enterotoksinler toksisite haricinde süperantijen aktivitesi nedeniyle de konakçı immun yanıtını daha fazla uyarmakta ve dolayısıyla da normalden daha fazla sitokin salınımına yol açmaktadır (Argudin ve ark, 2010; Pinchuk ve ark, 2010).

2.7. Antibiyotik Direnci

Antibiyotikler çeşitli mikroorganizmalar (bakteriler, mantarlar) tarafından meydana getirilen veya sentetik olarak da elde edilen, düşük dozlarda dahi bakterilerin gelişmesini engelleyen veya onları öldüren maddeler olarak tanımlanmaktadır. İlk antibiyotik 1928'de Alexander Fleming tarafından *Penicillium* küfünün Stafilokokları inhibe etmesinin

gözlemlenmesi sonucu keşfedilmiş ve *Penicillium* küfünden elde edilen maddeye “penisilin” adı verilmiştir. Ancak penisilin klinik kullanımı için gerekli in vivo deneylerin yetersizliği nedeniyle kullanıma girmesi zaman almış ve aktif kullanımı 1940’ları bulmuştur. Mikroorganizmalara karşı kemoterapi dönemi 1930’larda sülfanamidlerin, 1940’larda streptomisin, 1950’lilerde makrolidlerin kullanıma girmesiyle başlamıştır. Bundan sonraki yıllarda antibiyotikler tüm dünyada en çok kullanılan ilaçlar arasında ilk sırada yer almıştır (Rolinson, 1998; Kaya, 2007; Topal ve ark, 2015).

Antibiyotikler etki güçlerine, etki mekanizmalarına ve kimyasal yapılarına göre sınıflandırılmaktadırlar. Ancak yapılan bilimsel çalışmalarda kullanılan en yaygın sınıflandırma etki mekanizmalarına göre yapılan sınıflandırma şeklindedir. Antibiyotiklerin etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması Tablo 2’de belirtilmiştir (Reygaert, 2013).

Tablo 2. Etki mekanizmalarına göre antibiyotik grupları

Etki Mekanizması	Antibiyotik Grubu
Bakteri hücre duvarı sentezinin inhibe edilmesi	β -laktamlar (karbapenemler, sefalosporinler, monobaktamlar, penisilinler), glikopeptidler
Hücre membranının permeabilitesinin arttırılması	Lipopeptidler
Ribozomlardaki protein sentezinin bozulması	Ribozomun 30S alt ünitesine bağlananlar: aminoglikozidler, tetrasiklinler
	Ribozomun 50S alt ünitesine bağlananlar: kloramfenikol, linkozamidler, makrolidler, oksazolidinonlar, streptograminler
Nükleik asit sentezinin bozulması	Kinolonlar
Ara metabolizmanın bozulması	Sülfanamidler, trimetoprim

Antibiyotikler insanlarda ve hayvanlarda başlıca enfeksiyöz hastalıkların tedavisinde olmak üzere hastalıklardan korunmak, hayvanlarda büyümeyi hızlandırmak ve daha az miktarlarda da tarım sektöründe bitkileri korumak amacıyla kullanılmaktadır. Ancak antibiyotiklerin yoğun bir şekilde ve bilinçsiz olarak kullanımı sonucu yan etki riskleri artmakta ve patojen etkenlerde antibiyotik direnç sorunları ortaya çıkmaktadır. Ayrıca kullanılan antibiyotikler patojenlerin haricinde normal flora bakterilerini de etkileyerek canlıda sağlık problemlerine neden olabilmektedirler (Cizman, 2003).

Antibiyotik direnci genel anlamda bir bakterinin antimikrobiyel bir ajanın öldürücü veya üremeyi durdurucu etkisine karşı koyabilme yeteneğidir. Klinik olarak antibiyotik direnci ise bir ilacın kullanıldığı sağaltım dozlarında plazmada sağladığı yoğunluklarda

duyarlı olduğu bilinen bakteri türü veya suşlarının yaşayabilme ve çoğalabilmeleri anlamına gelmektedir. Antibiyotik direnci doğal, kazanılmış ve çapraz direnç olmak üzere üçe ayrılmaktadır. Doğal direnç; bakterilerin kendi yapıları nedeniyle ilacın hedefi olan yapıların bulunmayışı veya ilacın bakterinin yapısal bir özelliğinden dolayı hedefine ulaşamamasından kaynaklanmaktadır. Bakteriler bu dirençten sorumlu genleri vertikal yolla aktarmaktadır. Gram negatif bakterilerin hücre duvarında benzilpenisilinlerin geçemedikleri lipopolisakkarid yapıda bir tabakanın bulunuşu doğal dirence örnek gösterilmektedir. Kazanılmış direnç; kromozom DNA'sında şekillenen mutasyonlarla veya plazmid, transpozon ve integronlar tarafından taşınan direnç genlerinin başka bakterilerden transformasyon, transdüksiyon veya konjugasyon yoluyla alınması sonucu meydana gelen direnç olarak tanımlanmaktadır. Kazanılmış dirençten sorumlu genler bakteriler arasında horizontal yolla aktarılmaktadır. Horizontal gen transferi yeni dirençli genlerin ve mekanizmaların bir kombinasyonunu taşıyan yeni bakteriyel popülasyonlara yol açmakta ve böylece farklı direnç profilleri oluşabilmektedir. Streptomisin, eritromisin, linkomisin ve aminoglikozidlere karşı gelişen direnç kazanılmış dirence örnektir. Çapraz direnç ise belli bir ilaca karşı dirençli olan bazı mikroorganizmaların, aynı veya benzer mekanizma ile etki eden diğer ilaçlara karşı da dirençli olması halidir. Eritromisin-linkomisin arasındaki çapraz direnç buna örnek olarak verilebilir (Yüce, 2001; Kaya, 2007; Founou ve ark, 2016).

2.7.1. *S. aureus* ve Antibiyotik Direnci

S. aureus enfeksiyonlarının tedavisi için penisilinin kullanılmasından önce bireylerin mortalite oranı yaklaşık %80 iken, 1940'lı yılların başlarında penisilin kullanımı ile birlikte bu oranda büyük bir azalma görülmüştür. Ancak bu durum çok uzun sürmemiş, 1942 yılında bir hastane enfeksiyonundan ilk kez penisilin dirençli *S. aureus* izole edilmiştir. Penisiline karşı şekillenen direnç 1960 yılının sonuna doğru, hem hastane hem de toplum ilişkili suşların %80'ine ulaşmıştır. Penisilin direnci plazmidlere bağlı bir direnç olup, bu direncin aktarımı oldukça hızlı şekillenmektedir. Dolayısıyla plazmidlerin aktarılması sonucu meydana gelen dirençli suşların oranı gün geçtikçe artmıştır. Bu nedenle penisilin dirençli *S. aureus* enfeksiyonlarının tedavisinde eritromisin, tetrasiklin ve gentamisin gibi antibiyotikler kullanılmaya başlanmış, ancak zaman içerisinde bu antibiyotiklere karşı etkende çoklu antibiyotik direnci gözlemlenmiştir. Ortaya çıkan direnç sorunu, 1959'da semisentetik penisilin olan metisilin ile çözülmeye çalışılmış, ancak 1961'de ilk olarak İngiltere'de klinik suşlarda metisiline de karşı direnç saptanmış ve metisilin direncinin oranı da kısa sürede artış

göstermiştir (Lowy, 2003; Pesavento ve ark, 2007; Deurenberg ve Stobberingh, 2008; Sancak, 2011).

S. aureus'un antibiyotiklere karşı direncinden dört mekanizma sorumlu tutulmaktadır. Bunlar; ilacın enzimatik inaktivasyonu, ilaç hedefinin modifikasyonu, transmembran akış pompalarının (dışa atımpompaları-efluks pompaları) aktivasyonu ve hücre membranının ilaca permeabilitesini azaltarak ilaç alımının kısıtlanmasıdır (Reygeart, 2013; Yang ve ark, 2016). Tablo 3'te *S. aureus*'un antibiyotik direncinden sorumlu etki mekanizmaları belirtilmiştir (Lowy, 2003; Reygeart, 2013).

Tablo 3. Antibiyotik direncinden sorumlu etki mekanizmaları

Antibiyotik Grubu	Direnç mekanizması
β laktamlar	β laktam halkası inhibisyonu
	PBP'lerin affinitesinin azalması
Glikopeptidler	Hücre membranının kalınlaşması
	Dipeptit sentezi ile vankomisine duyarlılığın azalması
Kinolonlar	Kinolon direncini belirleyen bölge (QRDR)'de mutasyon
	Efluks pompalarının aktivasyonu
Aminoglikozidler	Asetiltransferaz, fosfotransferaz ile antibiyotik modifikasyonu
Tetrasiklinler	Efluks pompalarının aktivasyonu
	İlacın hedef bölgesine yarışmacı bağlanma
Oksazolidinonlar	rRNA mutasyonu
Makrolidler, Linkozamidler, Streptograminler	RNA metilasyonu
Sulfametoksazol, Trimetoprim	İlacın hedefindeki enzimin modifikasyonu
Lipopeptidler	Hücre membran yapısının değişmesi

2.7.1.1. β-laktam direnci

Penisilinin de için de bulunduğu β-laktam grubu antibiyotikler, peptidoglikan tabakanın sentezindeki transpeptidasyon basamağından sorumlu PBP'lere bağlanarak peptidoglikan tabakanın çapraz bağlarının oluşumunu inhibe etmekte, hücre duvarını mekanik olarak zayıflatmakta ve etkenin ölümüne neden olmaktadır. *S. aureus*'ta β-laktam antibiyotiklere karşı direnç β-laktamaz enzimleri ve PBP'lerin antibiyotiği inaktive etmesiyle meydana gelmektedir. β-laktamaz enzimi antibiyotiğin β-laktam halkasını hidrolize ederek ilacın inaktivasyonunu sağlamakta ve sonuç olarak hücredeki PBP'lere bağlanmasını

engelleyerek direnç oluşturmaktadır. Diğer taraftan da PBP'lerin yapılarındaki mutasyonlar sonucu β -laktam grubu antibiyotiklere afinite azalmakta ve bu antibiyotiklere direnç şekillenmektedir (Lowy, 2003; McCallum ve ark, 2010; Reygaert 2013).

2.7.1.1.1. Metisilin direnci

S. aureus'un sahip olduğu β -laktamaz enziminin neden olduğu direnç sorununa karşı 1959'da bu enzimin hidrolizine dirençli yarı sentetik penisilin olan metisilin klinik kullanıma girmiştir. Ancak iki yıl gibi kısa bir süre sonra ilk kez İngiltere'de klinik suşlarda metisiline dirençli *S. aureus* saptanmış ve bundan sonraki yıllarda birçok ülkede etken endemik hale gelmiştir. MRSA suşları 1970'lerin sonunda makrolidler, kloramfenikol, tetrasiklinler, aminoglikozidler gibi çok sayıda antibiyotik grubuna karşı direnç kazanmaya başlamış, 1980'li yıllardan sonra ise MRSA suşları tüm dünyada hastane enfeksiyonu etkenleri arasında ilk sıralardaki yerini almıştır. MRSA'lar önceleri önemli bir nozokomiyal patojen olarak kabul edilmekteyken, takip eden yıllarda toplumda MRSA enfeksiyonlarının görülme sıklığı artmış ve 2000'li yılların başından itibaren de çiftlik hayvanı kökenli suşlar dikkat çekmeye başlamıştır (Lowy, 2003; Fitzgerald, 2012).

S. aureus'ta metisiline direnç gelişimi 3 şekilde olmaktadır.

1- İntrinsik (kromozomal) direnç: Bu direnç tipi *S. aureus*'un diğer PBP'lerden farklı olan PBP2a'yı sentezlemesi sonucu şekillenmektedir. PBP2a peptidoglikan tabakanın oluşumunda transpeptidasyon basamağını katalizlemektedir. Sonuç olarak diğer PBP'ler β -laktam grubu antibiyotiklerle inhibe olsalar da, PBP2a'nın transpeptidaz aktivitesi aracılığıyla bakterinin hücre duvarı sentezi devam etmektedir. PBP2a, Stafilokokal Kaset Kromozom (SCC*mec*; Staphylococcal cassette chromosome *mec*) tarafından taşınan *mec* gen kompleksi ile kontrol edilen *mecA* geni tarafından kodlanmaktadır. *mec* gen kompleksi *mecA* geni ve bunu regüle eden *mecI* ve *mecR1* genlerinden oluşmaktadır. Ayrıca bu regülatör genlerin, β -laktamaz enzimini kodlayan *blaZ* geninin regülatörleri olan *blaR1* ve *blaI* genleri ile homolog yapıda oldukları saptanmıştır. *mecI* geni, *mecA* transkripsiyonunu baskılayan MecI proteinini, *mecR1* ise membrana bağlı sinyal transdüksiyon proteini olan MecR1'i kodlamaktadır. *mecA* geninin sentezi β -laktam grubu antibiyotiklere maruz kalındığında etkin bir şekilde indüklenmektedir. Bununla birlikte β -laktamaz regülatör proteinleri BlaI ve BlaR'de *mecA* ekspresyonunu baskılayabilmekte, PBP2a sentezi Mec ve Bla regülatörlerinin varlığına bağlı olarak suştan suşa değiştiğinden peptidoglikan tabakada da farklılıklar gözlemlenebilmektedir. Etkende kromozomal direncin meydana gelmesi için *mecA* geninin ekspresyonu şarttır. Ancak bu ekspresyon her bakteri için aynı olmadığından, *mecA* geni

taşımasına rağmen değişik düzeylerde dirençli, hatta duyarlı *S. aureus* suşları da gözlemlenmektedir. İntrinsik metisilin direnci fenotipik olarak homojen ve heterojen direnç olmak üzere 2 şekilde görülebilmektedir. Homojen direnç yapısal (kromozomal) olup, bakteri topluluğundaki tüm bakteriler *mecA* genini taşımaktadırlar. Ayrıca homojen direnç gelişimi ortamın sıcaklığı, tuz konsantrasyonu, pH gibi çevresel faktörlerden etkilenmemektedir. Ancak saha suşlarının çok az bir kısmında homojen metisilin direnci görülebilmektedir. Heterojen direnç ise genellikle metisilin veya diğer beta-laktam grubu antibiyotiklerin varlığında indüklenebilmektedir. Aynı bakteri topluluğunda dirençli suş oranı 10^3 - 10^6 arasında değişmektedir. Heterojen dirence saha çalışmalarında daha sık rastlanmakta, ancak çevresel faktörlerden etkilenmesi nedeniyle tespit edilmesi güç olmaktadır. Koloniyi oluşturan bakteriler *mecA* genini taşımalarına rağmen, direnç fenotipik olarak 10 bakteriden birinde tespit edilebilmektedir. Bu durumdan da *mec* bölgesi dışında bulunan “factors essential for the expression of methicillin resistance” (*fem*) genleri veya dirençten sorumlu regülatör genler sorumlu tutulmaktadır. Hem duyarlı hem de dirençli suşlarda bulunabilen *fem* genleri hücre duvarında bulunan peptidoglikan yapının sentezinde görevlidir. Bu genlerin inaktivasyonu veya genlerde şekillenebilecek mutasyonlar sonucu hücre duvarı yapısı değişiklik göstermekte, dolayısıyla metisilin direncinde farklılıklar görülebilmektedir (Chambers, 1997; Lowy, 2003; Chongtrakool ve ark, 2006; Ünal, 2009; Sancak, 2012; Foster, 2017).

2- Bordeline metisilin direnci: Bu direnç tipine kazanılmış metisilin direnci de denilmektedir. Bazı suşlar *mecA* geni taşımasına rağmen oksasiline karşı direnç göstermekte ve bu direnç tipine sahip suşlar “Borderline-Resistant *S. aureus*” (BORSA) olarak adlandırılmaktadır. BORSA suşlarının göstermiş olduğu direnç β -laktamazın aşırı sentezlenmesinden kaynaklanmaktadır. Etken tarafından yüksek miktarda sentezlenen β -laktamaz metisilin ve oksasilini yavaş fakat önemli ölçüde parçalayabilmektedir. Ayrıca BORSA suşlarının PBP2a oluşturmamaları ve direnç kontrolünün kromozal değil de plazmide bağımlı olması onları MRSA suşlarından farklı kılmaktadır (Lowy, 2003; Peacock ve Paterson, 2015; Oniciuc ve ark, 2017).

3- Intermediate metisilin direnci: Bu direnç tipinde mevcut PBP’lerde β -laktam antibiyotik afinitesinde azalma görülmektedir. Hem β -laktamaz sentezlemeyen hem de *mecA* geni taşımayan *S. aureus* suşlarında β -laktamlar tarafından hedeflenen transpeptidaz alanında özellikle PBP2 ile diğer PBP’lerde şekillenen nokta mutasyonlar sonucu metisilin direnci tanımlanmış ve bu direnç tipini gösteren suşlara “Moderately-Resistant *S. aureus*” (MODSA) adı verilmiştir (Chongtrakool ve ark, 2006; Peacock ve Paterson, 2015; Oniciuc ve ark, 2017).

Yapılan araştırmalarda bazı *S. aureus* suşlarının, *mecA* geni taşımamasına rağmen oksasilin, sefoksitin gibi metisilin direncinin tespitinde kullanılan antibiyotiklere karşı direnç gsterdiği ve bu durumun *mecA* geninin homoloğu olan başka bir gen ile diğer β -laktam direnci sağlayan faktörlerden kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Daha önceki çalışmalar incelendiğinde, laboratuvar analizleri sonucu MODSA olarak kabul edilen suşların bu homolog gene sahip olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bununla birlikte ilk kez İngiltere’de 2007 yılında tank sütlerinden izole edilen fenotipik olarak MRSA olduğu doğrulan suşlarda yapılan moleküler analizlerde *mecA* geni yerine *mecA* ile yaklaşık %70 homolojiye sahip başka bir gene rastlanılmıştır. Moleküler araştırmalar sonucu bu gen hem *SCCmec* tarafından taşınıp benzer regülatör mekanizmalara sahip olması, hem de *mecA* ile yüksek oranda homoloji göstermesi nedeniyle *mecC* olarak isimlendirilmiştir. (Garcia-Alvarez ve ark, 2011; Paterson ve ark, 2014; Peacock ve Paterson, 2015).

Yapısal ve evrimsel temelleri henüz tam olarak açıklanamamış olsa da *mecA* ve *mecC* tarafından kodlanan PBP’ler arasında farklılıklar gözlemlenmektedir. PBP2a_{*mecC*} metisilin direncinin belirlenmesinde kullanılan oksasiline sefoksitinden daha fazla afinite göstermekte, PBP2a_{*mecA*} ise her iki antibiyotik arasında da fark gözetmemektedir. PBP2a_{*mecA*} oksasilin direnci için PBP2’nin transglikosilaz aktivitesine ihtiyaç duymakta ancak PBP2a_{*mecC*} PBP2’ye ihtiyaç duymadan diğer monofonksiyonel glikotransferazlarla etkileşime girerek direnç göstermektedir. Ayrıca iki protein arasında termostabilite açısından da farklılık bulunmakta, PBP2a_{*mecA*}’nın 37°C’de PBP2a_{*mecC*}’ye göre daha stabil olduğu bilinmektedir (Kim ve ark, 2012; Paterson ve ark, 2014; Peacock ve Paterson, 2015).

2.7.1.2. Glikopeptid direnci

Glikopeptid grubu antibiyotikler (vankomisin, teikoplanin, avoparsin vb.); Gram pozitif bakterilerin peptidoglikan tabakasında bulunan D-alanin-D-alanin yapısına bağlanarak hücre duvarı sentezindeki enzimlerin hedefini bozup, transpeptidasyon basamağını inhibe ederek etki göstermektedirler. Glikopeptidlerin ilk temsilcisi olan vankomisin 1956’da kullanıma girmiş, uzun süre dirençli suşların tedavisinde kullanılmıştır. Ancak MRSA’nın sorumlu olduğu enfeksiyonların tedavisinde vankomisinin yaygın bir şekilde kullanılması sonucu direnç problemi şekillenmiştir. *S. aureus*’ta vankomisin direncinin oluşmasında peptidoglikan biyosentezindeki değişiklik ve dirençten sorumlu genlerin konjugal transferi olmak üzere 2 mekanizma rol oynamaktadır. Dirençten sorumlu ilk mekanizmada hücre duvarındaki peptidoglikan zincirleri arasındaki çapraz bağ sayısında şekillenen azalma sonucu ortamda D-alanin-D-alanin miktarı artmakta, vankomisinde bu serbest D-alanin-D-alanin

rezidülerine bağlanarak asıl hedefine ulaşamamaktadır. Sonuç olarak vankomisini yakalayıp ona bağlanabilecek daha fazla D-alanin-D-alanin rezidüsü olduğundan vankomisine orta düzeyde direnç gösteren VISA (Vancomycin Intermediate-Resistant *S.aureus*) suşları oluşmaktadır. Bu suşlardaki hücre duvarı daha kalın ve düzensiz şekildedir. İkinci direnç mekanizmasında ise vankomisin dirençli Enterokoklardan direnç genlerinin konjugasyonu ile VRSA (Vancomycin Resistant *S. aureus*) suşları oluşmaktadır. Bu genlerin aktarımı sonucunda peptidoglikan tabakada D-alanin-D-alanin yerine D-alanin-D-laktat sentezlenmekte, vankomisin ise bu dipeptide bağlanamadığından direnç meydana gelmektedir (Lowy, 2003; McCallum ve ark, 2010).

2.7.1.3. Kinolon direnci

Kinolonlar DNA replikasyonu ve transkripsiyonunda rol oynayan enzimlerden DNA giraz ve topoizomeraz IV enzimlerini inhibe ederek bakterisidal etki göstermektedirler. *S. aureus*'taki kinolon direncinden sorumlu mekanizmalar DNA giraz ve topoizomeraz IV'teki kromozomal mutasyonlar ve eflüks pompasının aktivasyonudur. *S. aureus*'ta kinolonların öncelikli hedefi topoizomeraz IV olduğu için, bu enzimde meydana gelen mutasyonlar direnç gelişiminde daha önemli kabul edilmektedir. Enzim-DNA kompleksinin QRDR (Quinolone Resistance-Determining Region)'nin sorumlu bölgelerindeki aminoasit değişiklikleri kinolonların bu hedefe afinitesini düşürmektedir. Eflüks pompa sisteminde bulunan proteinler yapısal olarak transport proteinlerine benzemekte ve enerji bağımlı olarak etkinlik göstermektedirler. Bu direnç tipinde eflüks pompaları antibiyotikler de dahil olmak üzere, çok sayıda yabancı, sitotoksik ve metabolizma ürününü hücreden uzaklaştırmaktadır (Yüce, 2001; Lowy, 2003; Reygaert, 2013).

2.7.1.4. Aminoglikozid direnci

Bakterisidal etkili aminoglikozidler ribozomun 30S alt ünitesine bağlanıp tRNA'nın translokasyonunu bozarak mRNA'nın taşıdığı genetik kodun yanlış okunmasına neden olmaktadır. Böylece protein sentezi inhibe olmaktadır. Ayrıca aminoglikozidler Gram pozitif bakterilerin hücre duvarında bulunan fosfolipitlere ve teikoik aside bağlanıp membran stabilitesini bozarak da etki göstermektedirler. *S. aureus*'un aminoglikozidlere karşı gösterdiği en yaygın direnç tipi enzimatik modifikasyondur. Bu direnç tipinde etken asetilasyon, nükleotidilasyon ve fosforilasyon olmak üzere 3 önemli reaksiyonu sırasıyla asetil transferaz (AAC), adenil transferaz (ANT) ve fosfo transferaz (APH) enzimleriyle katalizlemektedir. ANT ve APH ilacın hidrosil gruplarını, AAC ise amino gruplarını etkilemekte ve

reaksiyonlar sonucu antibiyotik moleküllerine adenil, asetil ve fosforil grupları eklenerek ilacın etkinliği ortadan kaldırılmaktadır (Jensen ve Lyon, 2009; McCallum ve ark, 2010; Foster, 2017).

2.7.1.5. Tetrasiklin direnci

Tetrasiklinler geniş spektrumlu ve bakteriyostatik etkili bir antibiyotik grubudur. Tetrasiklinler ribozomun 30S alt ünitesine bağlanıp tRNA'nın ribozomal komplekse erişimini engelleyerek protein sentezini inhibe etmektedirler. *S. aureus*'ta tetrasiklin direncinin oluşmasında efluks pompalarının aktivasyonu ve ilacın hedef bölgesine yarışmacı proteinin bağlanması olmak üzere 2 mekanizma etkili olmaktadır. Efluks pompalarının aktivasyonu ile şekillenen direnç tipinde, hücre içine giren ilaç enerji bağımlı pompa sistemi ile hızla dışarı atılmaktadır. İlacın hedef bölgesine yarışmacı bağlanma mekanizması ile oluşan direnç tipinde ise, etken tarafından sentezlenen ribozomal koruma proteini (Ribosomal Protection Protein-RPP) ilacın hedef bölgesine bağlanarak ilacın etkinliğini bloke etmektedir (Yüce, 2001; Jensen ve Lyon, 2009; Reygaert, 2013).

2.7.1.6. Oksazolidinon direnci

Linezolid, oksazolidinon grubunda bulunan sentetik bir antibiyotik olup, ribozomun 50S alt ünitesindeki peptidil transferaza bağlanıp protein sentezini başlangıçta inhibe ederek bakteriyostatik etki göstermektedir. Linezolid direnci 23S RNA'daki nokta mutasyonlar ve ribozomal RNA'nın metilasyonu nedeniyle ilacın hedef bölgeye bağlanmasının azalması veya engellenmesi sonucu şekillenmektedir (Sancak, 2011; Reygaert, 2013).

2.7.1.7. Makrolid, linkozamid, streptogramin direnci

Makrolid-Linkozamid-Streptogramin (MLS) türü antibiyotikler kimyasal olarak birbirlerinden farklı olsalar da, bakterilerdeki RNA bağımlı protein sentezini ribozomun 50S alt ünitesine bağlanarak inhibe etmektedir. Bu antibiyotikler aynı alt üniteyi etkilediklerinden dolayı, burada oluşan mutasyonlar her 3 antibiyotiğe de direnç gelişimi ile sonuçlanabilmektedir (çapraz direnç). Dirençten 3 farklı mekanizma sorumludur. Bunlar; ribozomal hedefin değişmesi, dışa atım pompalarının aktivasyonu ve enzimatik inaktivasyondur. Bununla birlikte en sık görülen direnç mekanizması ribozomal hedefin değişmesidir. Metiltransferaz enzimi sentezlenerek 23S rRNA'nın metilasyonu sonucu antibiyotikler ribozoma bağlanamamakta ve böylece direnç gelişmiş olmaktadır (Yüce, 2001; Sancak, 2011; Reygaert, 2013).

2.7.1.8. Sülfametoksazol-trimetoprim direnci

S. aureus da diğer bakteriler gibi RNA ve DNA sentezinde kullanılmak üzere folik asidi dışarıdan alamadığından dolayı para-aminobenzoik asitten (PABA) sentezlemektedir. Sülfametoksazol PABA'dan dihidropteroik asit oluşturan dihidropteroat sentetaz (DHPS) enzimini inhibe ederek folik asit sentezini engellemektedir. Trimetoprim ise dihidrofolik asidi tetrahidrofolik aside çeviren dihidrofolat redüktaz (DHFR) enzimini inhibe ederek etki göstermektedir. Her iki antibiyotik ayrı ayrı bakteriyostatik olmasına rağmen, beraber kullanıldıklarında bakterisidal etki göstermektedir. Sülfametoksazol-trimetoprim direnci DHPS ile DHFR enzimlerinin sentezindeki sorumlu genlerin mutasyonu sonucu DHPS ve DHFR'nin aminoasit dizilimlerinin değişimi ve PABA'nın aşırı sentezlenmesi sonucu şekillenmektedir (Kaya, 2007; Reygaert, 2013; Foster, 2017).

2.7.1.9. Lipopeptid direnci

MRSA da dahil olmak üzere çoğu Gram pozitif bakterilere karşı bakterisidal etki gösteren daptomisin siklik lipopeptid yapısındadır. Daptomisin ortamdaki Ca ile bağlanarak aktif hale geçmekte ve Gram pozitif bakterilerin hücre duvarında bulunan teikoik asit içerisinde transmembran iyon kanallarını oluşturmaktadır. Oluşan kanallardan hücre içi iyonlar hücre dışına çıktığından membran depolarizasyonu şekillenmekte ve sonuç olarak hücre ölümü gerçekleşmektedir. *S. aureus* hücre yüzeyi elektrik yükünü değiştirerek ve teikoik asit üretimini artırıp hücre membranını kalınlaştırarak daptomisine karşı direnç geliştirmiştir. Yapılan araştırmalarda VISA izolatlarında daptomisin direncinin tespit edilmesiyle, iki direnç arasında ilişki olabileceği düşünülmüş ve vankomisine bağlı hücre membranında şekillenen kalınlaşma sonucunda daptomisinin de hücre duvarına bağlanmasında azalma olabileceği ileri sürülmüştür (Jensen ve Lyon, 2009; Foster, 2017).

2.8. Dünya ve Türkiye'de Gıda İlişkili *S. aureus* Prevalansı

S. aureus kaynaklı gıda intoksikasyonları, etken tarafından üretilen enterotoksinlerin alimenter yolla alınması sonucu şekillenmektedir. Etken gıdaların yanı sıra su, hava, gıda işletmelerinde kullanılan alet-ekipmanlar, insanlar ile hayvanlardan da izole edilebildiğinden halk sağlığı için büyük bir tehdit oluşturmaktadır (Argudin ve ark, 2010; Doyle ve ark, 2012).

S. aureus protein ve karbonhidratlarca zengin, asitliği düşük olan gıdalarda rahatlıkla gelişebildiğinden, hayvansal kaynaklı gıdalar etken için oldukça uygun bir ortam oluşturmaktadır. Stafilkokal intoksikasyonlara neden olan gıdalar arasında süt ve süt ürünleri, et ve et ürünleri, kanatlı eti, yumurta, unlu mamuller, kremalı pastacılık ürünleri,

salatalar ve sandviç gibi tüketime hazır gıda ürünleri bulunmaktadır. Özellikle tüketime hazır gıdaların yapım süreci, depolanması ve tüketime sunulması aşamalarında kontamine edilmeleri intoksikasyon açısından risk teşkil etmektedir (Argudin ve ark, 2010; Aydın ve ark, 2011a).

S. aureus patojen bir tür olmasına karşın insanların deri ve burun mukozalarında da bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda etkenin, sağlıklı insanların %30-50'sinin burun mukozasından izole edildiği bildirilmektedir. Bu nedenle gıda işletmelerindeki asemptomatik personelin çıplak elle gıdalara dokunmasıyla, gıdalara karşı aksırıp-öksürmeleriyle de kontaminasyon şekillenebilmektedir (Doyle ve ark, 2012; Al-Bahry ve ark, 2014).

S. aureus, çiğ gıdalardaki mikroflora ile iyi bir şekilde rekabet edemediğinden, kontaminasyon, çoğunlukla gıdaların işlenmesi, pişirilmesi, depolanması, taşınması ve tüketime sunulması sırasındaki uygun olmayan şartlar ve yetersiz hijyen uygulamaları sonucu oluşmaktadır (Argudin ve ark, 2010; Hennekinne, 2018).

Stafilokokal intoksikasyonun oluşması için 5 şart gereklidir. Bunlardan ilki enterotoksin üretebilen suşları içeren gıdalar veya enfekte taşıyıcıların bulunması, ikincisi bu suşlar ile kötü hijyen şartları, uygun olmayan depolama gibi uygulamalarla kontaminasyonun sağlanması ve yayılmasıdır. Üçüncü şart ise etkenin gelişmesi ve toksin oluşturabilmesi için uygun fizikokimyasal özelliklere sahip gıdaların olmasıdır. Dördüncü şart bakteriyel büyüme ve enterotoksin üretilmesi için uygun sıcaklık ve yeterli zamanın sağlanıp son olarak da tüketicide intoksikasyon şekillenebilmesi için yeterli miktarda enterotoksin içeren gıdanın alınmasıdır. Bu 5 şart yerine getirildiğinde intoksikasyon şekillenmekte ve kısa sürede semptomlar gözlemlenebilmektedir (Hennekinne, 2018).

Ülkelerin tüketim alışkanlıklarındaki farklılıklardan dolayı Stafilokokal intoksikasyonlara neden olan gıdalar da ülkeden ülkeye değişkenlik göstermekle birlikte birçok ülkede Stafilokokal intoksikasyon olguları toplam gıda enfeksiyon/intoksikasyonlarının önemli bir bölümünü oluşturmaktadır (Le Loir ve ark, 2003). *S. aureus* haricinde diğer koagülaz pozitif Stafilokokların da intoksikasyonlarda rol oynaması yasal düzenlemelerde belirtilen kriterlerin genişletilmesine neden olmuştur. Bu durum göz önüne alındığında ülkemizin de dahil olduğu çeşitli ülkelerde yapılan yasal düzenlemelerde koagülaz pozitif Stafilokokların gıdalardaki düzeyinin belirlenmesinin yanı sıra enterotoksin içeriğinin de tespitine yer verilmiştir. Avrupa Birliği'nde EC 2073/2005 sayılı ve tarihli düzenlemede ve ülkemizde 29 Aralık 2011 tarihinde kabul edilen Türk Gıda Kodeksi (TGK) Mikrobiyolojik

Kriterler Yönetmeliği'nde gıdalardaki koagulaz pozitif Stafilocokların ve Stafilocokal enterotoksinlerin limitleri aynı şekilde belirtilmiştir.

Avrupa Birliği (AB) ve ABD'de gıda kaynaklı intoksikasyon olguları kayıt altına alındığından, konu ile ilgili istatistiksel verilere ulaşılabilir. Ancak ülkemizde söz konusu kayıtlar detaylı şekilde tutulmadığından dolayı istatistik veriler ve intoksikasyonların insidansı ile ülke ekonomisine getirdiği maliyet ve iş gücü kaybı net olarak belirlenmemektedir.

ABD'de 2012-2015 yılları arasında bildirilen Stafilocokal gıda intoksikasyonları, Tablo 5'te ise 2012-2015 yılları arasında AB'de bildirilen Stafilocokal gıda intoksikasyonları belirtilmiştir. Tablolarda da görüldüğü üzere AB ile ABD arasındaki sayısal fark oldukça yüksek olup, bu sayısal farkın raporlama sistemlerinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Hennekinne, 2018).

Tablo 4. 2012-2015 yılları arasında ABD'de bildirilen Stafilocokal gıda intoksikasyonları

Yıl	Salgın Sayısı	Olgu Sayısı	Hastaneye yatışların sayısı	Kaynak
2012	5	149	4	CDC (2014)
2013	10	263	27	CDC (2015)
2014	17	566	10	CDC (2016)
2015	17	306	31	CDC (2018)

Tablo 5. 2012-2015 yılları arasında AB'de bildirilen Stafilocokal gıda intoksikasyonları

Yıl	Salgın Sayısı	Olgu Sayısı	Hastaneye yatışların sayısı	Kaynak
2012	346	2532	288	EFSA ve ECDC (2014)
2013	386	3203	210	EFSA ve ECDC (2015a)
2014	393	2952	264	EFSA ve ECDC (2015b)
2015	434	3630	316	EFSA ve ECDC (2016)

Yukarıda da belirtildiği üzere gıda kaynaklı enfeksiyon/intoksikasyonların etken izolasyonu ve insidansı açısından ülkemizde herhangi bir surveyans programı bulunmamaktadır. Dolayısıyla tezin bu bölümünde Türkiye'de *S. aureus* kaynaklı intoksikasyonlar ile ilgili sağlıklı bir veri verilmesi mümkün olamamıştır. Ancak 2010-2018

yılları arası ülkemizde araştırmacılar tarafından yapılan çeşitli çalışmalarda farklı gıdalardaki *S. aureus*'un bulunma oranları Tablo 6'da belirtilmiştir.

Tablo 6. Ülkemizde çeşitli gıdalarda *S. aureus* üzerine yapılan bazı araştırmalar

Gıda Örneği	<i>S.aureus</i> pozitif örnek sayısı	Kaynak
Koyun peyniri	60 (%60)	Ertaş ve ark (2010)
Sütlü tatlı	26 (%52)	
Et (sığır, koyun, tavuk, hindi)	16 (%10,2)	Aydın ve ark (2011)
Et ürünü (sucuk, salam, sosis)	8 (%5,1)	
Çiğ süt	64 (%40,7)	
Süt ürünü (peynir, yoğurt, kaymak, tereyağı)	54 (%34,4)	
Unlu mamüller (yufka,pasta)	10 (%6,4)	
Tüketime hazır yemek	2 (%1,3)	
Çiğ Süt	45 (%75)	Gücüköğlü ve ark (2012)
Beyaz peynir	12 (%32,5)	
Kaşar peyniri	3 (%30)	
Tereyağı	3 (%30)	
Dondurma	1 (%10)	
Tulum peyniri	31 (%25,8)	Pamuk ve ark (2012)
Manda kaymağı	26 (%21,6)	
Çiğ manda sütü	40 (%33,3)	
Tavuk eti	4 (%13,3)	Yurdakul ve ark (2013)
Çiğ süt	28 (%56)	Gündoğan ve Avcı (2014)
Beyaz peynir	24 (%48)	
Dondurma	18 (%36)	
Sığır kıyması	35 (%28)	Güran ve Kahya (2015)
Kuzu kıyması	43 (%34,4)	
Sığır karkası	15 (%12,5)	Keyvan ve Özdemir (2016)
Süt, peynir, tavuk eti, kıyma	20 (%12,5)	Can ve ark (2017)
Tank sütü	14 (%28)	Ektik ve ark (2017)
Süt ürünü (peynir,tereyağ)	3 (%2,4)	
Manda sütü	30 (%30)	Saka ve Terzi Gülel (2018)
Manda kaymağı	9 (%18)	
Manda peyniri	17 (%34)	

2.9. Gıdaların Hazırlanmasında Kullanılan Alet-Ekipmanların ve Çalışan Personelin *S. aureus* Kontaminasyonundaki Rolü

Gıda işleme tesislerindeki yetersiz hijyen uygulamaları gıda ürünlerinin patojenlerle kontaminasyonuna neden olabilmektedir. Dolayısıyla bu durum hem ekonomik kayba sebebiyet vermekte hem de tüketicilerin sağlığı için ciddi riskler teşkil etmektedir. Süt ve süt ürünleri ile et ve et ürünlerinin işleme sürecinde çalışan personel ve kullanılan alet-ekipman kaynaklı *S. aureus* kontaminasyonuna sıklıkla rastlanılmaktadır. Ayrıca yapılan araştırmalarda hayvansal kaynaklı gıdaların hazırlanma sürecindeki manüplasyonların sayısı ile *S. aureus* kontaminasyonu arasında doğru orantı olduğu tespit edilmiş, kontaminasyon kaynakları incelendiğinde ise çoğunun, ürünün elde edildiği hayvan haricinde çalışan personel ve kullanılan alet-ekipmandan kaynaklandığı belirtilmiştir (Aydın ve ark, 2007; Gutierrez ve ark, 2012; Kadariya ve ark, 2014; Abunna ve ark, 2016).

Süt ve süt ürünlerinde *S. aureus* kontaminasyonu hayvanın vücut yüzeyinden, mastitisli hayvanlardan elde edilen sütlerden, sağım makinelerinden, sütlerin depolandığı tanklardan, pastörizasyondan sonra sütlerin ürüne işleme prosesinde kullanılan alet-ekipmandan (teleme bıçağı, teleme bezi, kalıplar vb.) şekillenebilmektedir (Abunna ve ark, 2016; Basanisi ve ark, 2016).

Et ve et ürünlerinin *S. aureus* ile kontaminasyon riski hayvanın kesilmesinden tüketilmesine kadar her basamakta devam etmektedir. Karkaslar için ilk kontaminasyon kaynağı deri kabul edilmekle birlikte kesim prosesinde kullanılan bıçak, masat, karkas kancaları gibi alet-ekipmanların da kontaminasyonda önemli birer kaynak olduğu yapılan araştırmalarda belirtilmiştir. Kesim sürecinde kullanılan alet-ekipmanların haricinde personelin kıyafetleri (önlük) ve elleri de kontaminasyon oranını arttırabilmektedir (Schlegelova ve ark, 2004; Bakhtiary ve ark, 2016).

Kanatlı etlerinde de genel anlamda kontaminasyon hayvanların ayak ve tüylerinde, alet-ekipmanlarda ve çalışan personelde bulunan etkenin karkasa bulaşması ile gerçekleşmektedir. Ayrıca kanatlı kesim prosesinin birçok aşamasında su kullanılması da kontaminasyon riskini arttıran diğer önemli bir faktördür. Bununla birlikte çoğunlukla kanatlı karkasının tüm olarak değil de parçalanmış bir şekilde paketlenip satışa sunulması da karkasa uygulanan manüplasyonları arttırdığından çapraz kontaminasyon oranını daha da yükseltmektedir (Wang ve ark, 2013).

2.10. MRSA'nın Gıdalarla Taşınması

Metisilin klinik kullanıma girmesinden kısa bir süre sonra klinik *S. aureus* suşlarında direnç gelişimi gözlemlenmiştir. *S. aureus*, metisilin direncinin saptanmasından sonra belirli bir süre sadece nozokomiyal (Hospital Associated MRSA/HA-MRSA) olarak gündemde olsa da, 1990'ların başından itibaren daha önce sağlık hizmeti almamış hastalarda da MRSA'ya bağlı enfeksiyonlar artış göstermiş ve bu enfeksiyonlardan sorumlu suşlar toplum ilişkili MRSA (Community Associated MRSA/CA-MRSA) olarak isimlendirilmiştir. Son on yılda HA-MRSA enfeksiyonlarının insidansı düşmüş olmakla birlikte CA-MRSA enfeksiyonlarının insidansı genel populasyonda artış göstermiştir. Bunun yanı sıra son dönemlerde önem kazanan bir diğer konu ise çiftlik hayvanları ilişkili MRSA'dır (Livestock Associated MRSA/LA-MRSA). LA-MRSA ilk kez 2003'te Hollanda'da bir domuz çiftliğinde hem domuzlardan hem de çiftlikte çalışanlardan izole edilmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda izolatın insanlardan köken aldığı ve insanlardan hayvanlara taşındığı saptanmıştır (Doyle ve ark, 2012; Sergelidis ve Angelidis, 2017).

HA-MRSA, CA-MRSA ve LA-MRSA gıdalarda bulunabildiğinden hem gıda güvenliği hem de halk sağlığı açısından büyük bir tehdit unsuru olarak kabul edilmektedir. Bu açıdan değerlendirildiğinde gıda sektöründe çalışan MRSA portörü ya da MRSA ile enfekte kişiler gıdaları kontamine edebileceğinden gıda kaynaklı bulaşmada personelin etkin bir role sahip olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte MRSA ile enfekte hayvanlardan elde edilmiş gıdaların da enfeksiyonun yayılmasında etkili olduğu belirtilmiştir (Normanno ve ark, 2007b; Doyle ve ark, 2012; Sergelidis ve Angelidis, 2017).

Günümüzde MRSA tüm dünyada yaygın olarak görülmekte olup, prevalansı coğrafi şartlar, gelişmişlik düzeyi, etken izolasyonunda laboratuvarında kullanılan yöntemler gibi nedenlerle ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Tablo 7'de Dünya'da ve Türkiye'de çeşitli gıdalarda MRSA üzerine yapılan araştırmalar gösterilmiştir.

Tablo 7. Dünya’da ve Türkiye’de çeşitli gıdalarda MRSA üzerine yapılan bazı araştırmalar

Ülke	Gıda Örneği	MRSA pozitif örnek sayısı (%)	Kaynak
Türkiye	Çiğ Süt, Koyun Peyniri, Sütlü Tatlı, Et Ürünleri, Kanatlı Eti	9 (%9,4)	Hızlısoy ve ark (2018)
Yunanistan	Tank Sütü	1 (%2,7)	Papadopoulos ve ark (2018)
İtalya	Süt, Peynir	40 (%8,3)	Basanisi ve ark (2017)
Danimarka	Tavuk Eti	4 (%4)	Tang ve ark (2017)
ABD	Sığır Eti, Tavuk Eti, Domuz Eti, Hindi Eti	66 (%1,9)	Ge ve ark (2017)
Türkiye	Peynir	2 (%1)	Can ve Çelik (2012)
Kanada	Et, Süt, Et İçeren ve İçermeyen Gıdalar, Süt Ürünleri	-	Crago ve ark (2012)
Türkiye	Peynir	4 (%7,5)	Kav ve ark (2011)
Portekiz	Fermente Et Ürünü, Unlu Mamül, Tüketime Hazır Gıda	4 (%5,5)	Castro ve ark (2017)
Çin	Tavuk Eti	20 (%1,7)	Wang ve ark (2013)
İspanya	Keçi Sütü	-	Alvarez-Suarez ve ark (2015)
Kore	Sığır Karkası	9 (%0,3)	Moon ve ark (2015)

Bugüne kadar yapılan araştırmalardan elde edilen verilere dayanarak, MRSA'nın gıdalarda zaman zaman mevcut olabileceği ve potansiyel bir halk sağlığı riski oluşturabileceği açıktır. Ancak etkenin bir diğer halk sağlığı problemi olan enterotoksijenik özelliği ile antibiyotik direnci arasında korelasyon olup olmadığı uzun süre tartışılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu enterotoksin genleri taşıyan MRSA suşlarının, diğer metisilin duyarlı enterotoksijenik *S. aureus*'lara benzer şekilde enterotoksinler üretebildikleri saptanmış, metisilin direnci ile enterotoksin üretimi arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır (Sergelidis ve Angelidis, 2017).

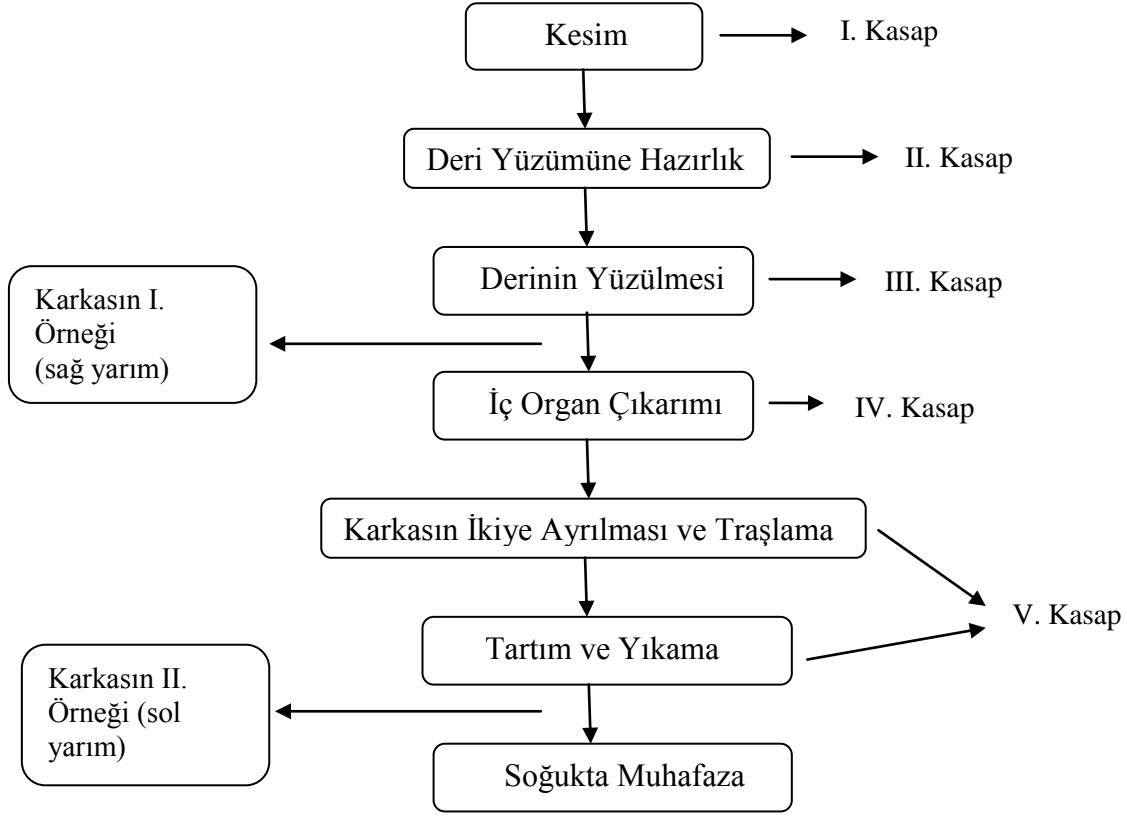
3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

Bu araştırmada 2016-2018 yılları arasında Aydın ilinin farklı ilçelerinden (Efeler, Çine, Germencik, Karpuzlu, Koçarlı, Söke, Yenipazar) toplanan 450 adet tank sütü örneğinde, Aydın ve İzmir illeri mandıra satış noktalarından temin edilen 100 adet tulum peyniri ve kasap ile marketlerden alınan 40 adet kanat, 30 adet derisi üzerinde bulunan göğüs ve 30 adet de derisi üzerinde bulunan but olmak üzere toplam 100 adet tavuk eti örneğinde, Muğla Büyükşehir Belediyesi Mentеше Mezbahası'ndan yeni kesilmiş ve rastgele seçilmiş 100 adet sığır karkasından deri yüzümü sonrası ve proses sonunda olmak üzere 2 kez alınmak suretiyle toplamda 200 adet sünger svap örneğinde, 1 kesim prosesinde 5 personelin çalıştığı dikkate alınarak 10 proses boyunca personelin ellerinden (50 adet) ve proste çalışan personel tarafından kullanılan alet-ekipmandan (50 adet bıçak, 50 adet masat, 50 adet önlük) prosesin başında, ortasında ve sonunda olmak üzere toplam 600 adet svap örneğinde, genel toplamda ise 1450 adet örnekte *S. aureus* kontaminasyon düzeyi ve etkenin bazı virulens faktörleri ile antibiyotik direnç profilinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Süt örneklerinin alınması işleminde tankın boşaltma musluğu flambe edildikten sonra, musluk ağzında bekleyen süt bir miktar boşaltılmış, takibinde steril numune kaplarının içerisine yaklaşık 200 ml süt örneği alınmıştır. Peynir ve tavuk eti örnekleri ise satış noktalarından yaklaşık 200 g olmak üzere aseptik şartlarda toplanmıştır. Tüm örnekler analizlerinin yapılması amacıyla soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiştir.

Çalışma kapsamında karkas, alet-ekipman ve personel örneklerinin alındığı mezbananın kesim prosesi, kasapların çalışma basamakları ile karkas örneklerinin alınma noktaları Şekil 2'de belirtilmiştir.



Şekil 2. Mezbaha kesim prosesi ve örnek alma noktaları

Mezbaha örneklerinde karkas numunelerini yeni kesilmiş ve rastgele seçilmiş 100 adet sığır karkası oluşturmuştur. Seçilen karkasların kesim prosesinde deri yüzülmesinden sonra sağ yarımından, kesim prosesi tamamlandıktan sonra da sol yarımından 100 cm²'lik (10 cm x 10 cm) steril şablon ile işaretlenen boyun, döş, boş böğür ve but bölgelerinden toplam 400 cm² olacak şekilde sünger svap tekniği ile örnekler alınmıştır. Steril sünger svaplar (World Bioproduct SR-DRY-G) kullanılmadan önce 10 ml tamponlanmış peptonlu su (Oxoid CM509) ile sulandırılmıştır. Svabın bir yüzüyle karkasın boyun bölgesinden, diğer yüzüyle karkasın döş bölgesinden, bir diğer svabın bir yüzüyle karkasın boş böğür bölgesinden, diğer yüzüyle de but bölgesinden 10 kez yatay, 10 kez de dikey şekilde sünger svaplar sürülerek örnekler alınmıştır. Aynı işlem proses tamamlandıktan sonra karkasın diğer yarımı için de uygulanmıştır (Commission Regulation, 2005; Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, 2011; TSE EN ISO 17604, 2016).

Mezbahada kullanılan alet-ekipman (bıçak, masat, önlük) ve çalışan personelden kesim proses zamanı göz önünde bulundurularak prosesin başında, ortasında ve sonunda olmak üzere 3 ayrı periyotta, her bir periyotta 50'şer adet olmak üzere toplamda 600 numune alınmıştır. Mezbahanın hijyen politikası gereği kasaplar kesim başlamadan bir gün önce bıçak

ve masatlarını dezenfekte etmekte ve kesim hattı boyunca her karkastan sonra bıçaklarını suyla yıkamaktadır. Bıçak ve masat örneklerinde 20 cm²'lik alandan numune almak için 10 ml tamponlanmış peptonlu su ile ıslatılmış steril svaplar kullanılmıştır. Svaplar 10 kez yatay 10 kez de dikey olacak şekilde alana sürülerek numuneler alınmıştır. Kesim hattında bulunan kasapların önlüklerinden 100 cm²'lik (10 cm x 10 cm) alandan daha önce 10 ml tamponlanmış peptonlu su ile sulandırılan sünger svaplar kullanılarak örnekler alınmıştır. Kesim prosesinde çalışan personel, işletme prensipleri gereği proses başında lateks eldiven giymekte ve bu eldivenleri çeşitli aralıklarda değiştirmektedir. Personelin her iki elindeki eldivenlerden toplamda 20 cm²'lik alandan örnekler; daha önce 10 ml tamponlanmış peptonlu su ile ıslatılmış svaplar kullanılarak, 10 defa yatay ve 10 defa dikey şekilde sürülmek suretiyle alınmıştır (ISO 18593, 2004).

Toplanan bütün örnekler aynı gün içerisinde soğuk muhafaza koşullarında laboratuvara getirilmiş ve *S. aureus* yönünden incelemeye alınmıştır. Araştırmanın gerçekleştirilmesinde, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 08.12.2016 tarihli 53043469-050.04.04 sayılı yazısı 13 numaralı kararı ile etik açıdan sakınca bulunmadığı bildirilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. *S. aureus*'un Standart Bakteriyoloji ile İzolasyonu

Tank sütü numuneleri 10 ml, peynir ve tavuk eti numuneleri ise 10'ar gram tartılıp aseptik şartlarda stomacher torbalarına aktarılmış, üzerine 90 ml steril tamponlanmış peptonlu su (Oxoid CM0009) ilave edildikten sonra, örnekler stomacher cihazında (Bagmixer, Interscience, France) 2 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Bıçak, masat ve personelin ellerinden alınan svap örneklerinin ise vorteks (IKA, ABD) yardımıyla homojenizasyonu sağlanmıştır. Önlüklerden alınan sünger svap örnekleri üzerine 15 ml tamponlanmış peptonlu su ilave edilerek, 2 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Karkaslardan alınan sünger svap örneklerinin üzerine de 15 ml tamponlanmış peptonlu su ilave edilip, 2 dakika boyunca stomacher cihazında (Bagmixer, Interscience, France) homojenizasyonun ardından karkasın sağ yarımına ait homojenizatlar bir stomacher torbasına, sol yarımına ait homojenizatlar ise bir diğer stomacher torbasına alınarak tekrar homojenizasyona tabi tutulmuştur. Daha sonrasında elde edilen homojenizatlardan desimal dilüsyonlar hazırlanarak, Egg Yolk Tellurite Emülsion (Oxoid SR0054) eklenmiş Baird Parker Agar'a (Oxoid CM0275) yayma plak yöntemiyle ekimler yapılarak, 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon

sonunda siyah, parlak, konveks, lesitinaz aktivitesi nedeniyle etrafında şeffaf zon oluşturan koloniler *S. aureus* şüpheli olarak kabul edilmiştir. Şüpheli kolonilerden örnekleme metoduyla 5 adet seçilerek Gram boyama yapılmış, Gram pozitif olan koloniler, katalaz testi, lam koagülaz testi, tüp koagülaz testi, DNaz aktivitesi, manitol fermantasyon testi ile lateks aglütinasyon testi açısından değerlendirilmiş ve bu konvansiyonel testlerin sonuçları pozitif olan koloniler *S. aureus* olarak kabul edilmiştir (TS 6582-1 EN ISO 6888-1, 2001). Baird Parker Agar'daki tipik *S. aureus* görünümü Resim 1'de belirtilmiştir.



Resim 1. Baird Parker Agar'da *S. aureus* kolonilerinin görünümü

3.2.1. *S. aureus*'un İdentifikasyonu

3.2.1.1. Tryptic Soy Agar'da gelişim

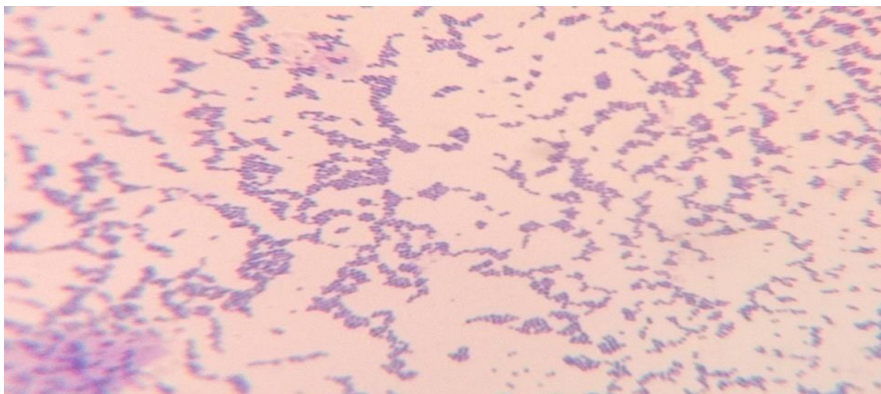
İzole edilen şüpheli koloniler saflaştırma ve diğer identifikasyon testlerinin yapılması amacıyla öze yardımıyla Tryptic Soy Agar'a (TSA) (Oxoid CM 0131) geçilerek 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. TSA'da saflaştırılan koloniler Resim 2'de belirtildiği şekildedir.



Resim 2. Tryptic Soy Agar'da *S. aureus* kolonilerinin görünümü

3.2.1.2. Gram boyama

TSA'da üretilen bakteriler Gram boyama tekniği ile boyanmıştır. Bu amaçla temiz bir lam üzerinde %0,9'luk NaCl içerisinde seçilen koloniler homojenize edilmiştir. Hazırlanan lam ateşte fiske edildikten sonra 2 dakika kristal viyole çözeltisi ile muamele edilmiş, sonrasında boya dökülmüş ve distile su ile lam yıkanmıştır. Yıkama sonrası lam üzerine lugol solüsyonu damlatılarak 2 dakika beklenmiştir. Süre sonunda lam üzerindeki boya dökülmüş, %96'lık etil alkolle 10-15 saniye dekolizasyon işlemi yapılmıştır. Lam üzerindeki alkolün giderilmesi amacıyla lam distile su ile yıkanmıştır. Son olarak karbol fuksin boyasıyla 1 dakika muamele edilen lam süre sonunda distile su ile yıkanıp, kurutma kağıdında kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan lam üzerine immersiyon yağı damlatılmış, mikroskop altında 100x objektifte bakterilerin renk ve morfolojileri incelenmiştir. İncelenen kolonilere ait mikroskop görüntüsü Resim 3'te verilmiştir. Gram pozitif (mor renkte) ve üzüm salkımı morfolojisinde düzensiz kümelenmiş olan mikroorganizmalar "Stafilokok" olarak kabul edilmiştir (Winn ve ark, 2006).



Resim 3. Gram boyama yapılan kolonilere ait mikroskop görüntüsü

3.2.1.3. Katalaz testi

İdentifikasyon için üretilen bakteri kültüründen öze yardımıyla birkaç koloni temiz bir lama alınıp, birkaç damla %3'lük H₂O₂ ile karıştırılmıştır. Katalaz enzimine sahip etkenler H₂O₂'yi su ve oksijene ayrıştırmakta, dolayısıyla ortamdaki oksijen çıkışı kabarcık oluşumu ile belirlenmektedir. Sonuç olarak kabarcık oluşumu gözlenen koloniler katalaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Winn ve ark, 2006).

TSA'da üretilen kolonilere uygulanan katalaz testi sonucu pozitif olan örneğe ait görüntü Resim 4'te belirtilmiştir.



Resim 4. Katalaz testinde pozitif örnek görünümü

3.2.1.4. Lam koagülaz testi

Temiz bir lam üzerine küçük bir damla distile su konulup, öze yardımıyla TSA'da üretilen bakteri kültüründen alınarak lam üzerinde bir süspansiyon elde edilmiştir. Elde edilen süspansiyona 10-15 µl tavşan plazması eklenip karıştırılmış ve 10 saniye içerisinde gözle görülür bir kümelenme olup olmadığı incelenmiş, kümelenme olan örnekler pozitif olarak değerlendirilmiştir (UMS, 2015).

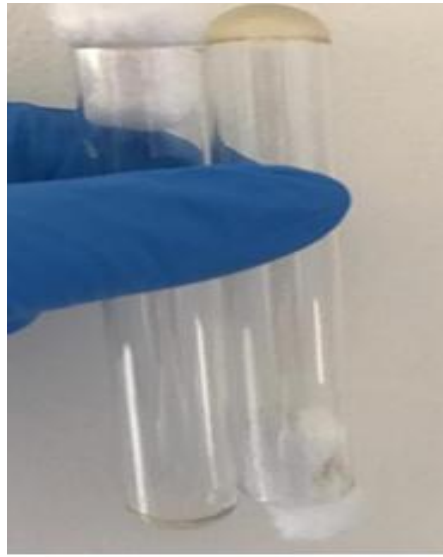
TSA'da üretilen kolonilere uygulanan lam koagülaz testinde pozitif olan örneğe ait görüntü Resim 5'te belirtilmiştir.



Resim 5. Lam koagülaz testinde pozitif örnek görünümü

3.2.1.5. Tüp koagülaz testi

TSA'da üretilen kolonilerden Brain Heart Infusion Broth'a (BHI) (Oxoid CM0225) öze yardımıyla inokulasyonlar yapılmış, 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda içerisinde 0,3 ml tavşan plazması bulunan tüplere her kültürden 0,1 ml eklenerek 37°C'de 4-6 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından koagulum oluşan tüpler pozitif olarak değerlendirilmiş, negatif olanların inkübasyonu 24 saate kadar uzatılmış ve tekrar değerlendirmeye alınmıştır (TS 6582-1 EN ISO 6888-1, 2001). Koagülaz testi sonucu pozitif örneklerde Resim 6'da belirtildiği şekilde reaksiyon gözlemlenmiştir.



Resim 6. Tüp koagülaz testi pozitif ve negatif veren örneklerin görünümü

3.2.1.6. DNaz testi

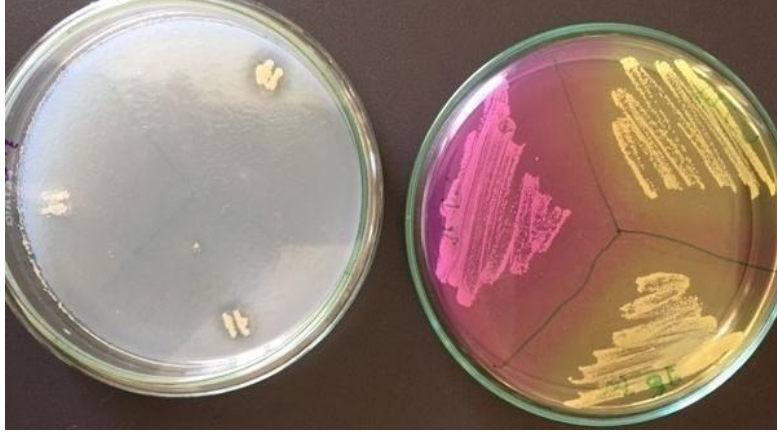
BHI'dan elde edilen kültürlerden öze yardımıyla DNaz Agar'a (Oxoid CM 321) geçişler yapılmış ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Sonrasında petri yüzeyini kaplayacak şekilde 1N HCl (Merck 100314.2500) ilave edilerek DNA'nın HCl ile muamelesi sonrası presipitasyon varlığı incelenmiş, berrak zonların oluştuğu kültürler DNaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (United Kingdom Standards for Microbiology Investigations, 2014).

3.2.1.7. Mannitol fermentasyon testi

BHI'dan elde edilen kültürlerden öze yardımıyla Mannitol Salt Agar'a (Oxoid CM0085) inokulasyonlar yapılmış ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon

sonunda besiyerinin pH değişimine bağlı olarak fenol kırmızı renginin sarıya dönüşmesi mannitol fermentasyonu açısından pozitif olarak değerlendirilmiştir (Bridson, 1998).

İncelenen örneklerin DNaz Agar ve Mannitol Salt Agar'daki görünüşleri Resim 7'de belirtilmiştir.



Resim 7. İncelenen örneklerin DNaz Agar (sol taraf) ve Mannitol Salt Agar'daki (sağ taraf) görünüşleri

3.2.1.7. Lateks aglütinasyon testi

Dryspot staphylect plus testi (Oxoid DR0100) ile Stafilokokların bağlı koagulaz enziminin ve protein A varlığının tespiti yapılmaktadır. Bu amaçla TSA'dan elde edilen taze kültürler kullanılmıştır. Test kartının işaretli bölümüne 1 damla serum fizyolojik eklenip üzerine bir öze dolusu şüpheli koloni konularak homojenize edilmiş ve yaklaşık 1 dakika sonra aglütinasyon şekillenip şekillenmediği kontrol edilmiştir. Aglütinasyonun şekillendiği örnekler pozitif kabul edilmiştir (Bridson, 1998).

Bir örnek için testlerde pozitif çıkan koloni sayısı ile Baird Parker Agar petri kabındaki şüpheli koloni sayısı çarpılıp, test uygulanan koloni sayısına bölünerek *S. aureus* sayısı belirlenmiştir.

Bakteriyolojik analizler sonucunda pozitif olarak kabul edilen *S. aureus* izolatları daha sonraki moleküler analizlerde kullanılmak üzere %20 gliserol (Merck 1.04092.100) içeren Tryptone Soy Broth'ta (Oxoid CM 129) -20 °C de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. *S. aureus*'un Genotipik İdentifikasyonu

3.2.2.1. DNA ekstraksiyonu

Standart bakteriyoloji ile *S. aureus* olarak tanımlanmış izolatlardan PCR'da kullanılmak üzere total DNA ekstraksiyonu, Thermo Scientific™ Genomic DNA Purification ekstraksiyon kiti kullanılarak üretici firmanın önerdiği şekilde aşağıda belirtildiği gibi gerçekleştirilmiştir.

Thermo Scientific™ Genomic DNA Purification Kit Prosedürü:

*Bir öze dolusu kültür steril ependorf içerisinde 400 µl lizis solüsyonu ile süspanse edilip, 65°C'de 5 dk inkübasyona bırakılmıştır.

*İnkübasyonun ardından süspansiyona 600 µl kloroform eklenip, 10.000 rpm'de 2 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant atılmıştır.

*Ependorfta kalan pelet üzerine 800 µl presipitasyon solüsyonu ilave edilmiş ve oda sıcaklığında (21±1°C) 1-2 dakika karıştırıldıktan sonra 10.000 rpm'de 2 dakika santrifüj (Hettich, Mikro 200R, Almanya) edilmiştir.

*Santrifüjün ardından DNA içeren pelet 1,2 M NaCl solüsyonunda çözündürülmüş ve üzerine 300 µl etanol eklendikten sonra 10 dakika -20°C'de bekletilmiştir.

*Bekleme süresi bitiminde 10.000 rpm'de 3 dakika santrifüj işlemi uygulanmış ve sonrasında %70'lik etanol ile yıkama işlemi yapılmıştır.

*Son olarak ependorf içerisindeki DNA içeriği 100 µl steril distile suda çözündürülmüştür. Her bir PCR reaksiyonu için 1-3 µl kalıp (template) DNA kullanılmıştır.

3.2.2.2. *S. aureus*'un PCR ile tanımlanması

Standart bakteriyolojik yöntemlerle *S. aureus* olarak saptanan suşlar PCR tekniği kullanılarak doğrulanmıştır. *S. aureus*'un tanımlanmasında Stafilokoklara özgü *16S rRNA* geni, *S. aureus*'a özgü termonükleaz aktivitesinden sorumlu *nuc* geni ile koagulaz aktivitesinden sorumlu *coa* geni varlığı araştırılmıştır.

***16S rRNA* ve *nuc* Geninin Multipleks PCR Yöntemi ile Tespiti:**

S. aureus'un doğrulanmasında kullanılan *16S rRNA* ve *nuc* geni Keyvan ve Özdemir (2016) tarafından önerilen standart PCR yöntemi ile tespit edilmiştir. Bu amaçla kullanılan primerler Tablo 8'de belirtilmiştir.

Tablo 8. *16S rRNA* ve *nuc* geni için kullanılan primerler

Gen	Primer Sekansı (5'-3')	Amplikon Büyüklüğü (bp)
<i>16S rRNA</i> -F	GTAGGTGGCAAGCGTTATCC	228
<i>16S rRNA</i> -R	CGCACATCAGCGTCAG	
<i>nuc</i> -F	GCGATTGATGGTGATACGGTT	270
<i>nuc</i> -R	AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC	

Primer miksin hazırlanması aşamasında; 100 pmol olarak bulunan *16S rRNA* ile *nuc* forward ve reverse primerleri ayrı ayrı sulandırılıp 10 pmol yoğunluğuna getirilmiş ve eşit hacimde karıştırılarak primer miski hazırlanmıştır. *16S rRNA* ve *nuc* primerlerine spesifik ürünlerin aranması amacıyla yapılan PCR reaksiyonlarında bir örnek için PCR amplifikasyonu toplam 25 µl hacimde mastermiks hazırlanarak gerçekleştirilmiştir. Mastermiks hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve hacimleri Tablo 9’da belirtilmiştir.

Tablo 9. *16S rRNA* ve *nuc* genleri için mastermiks hazırlama oranları

Malzeme (Ticari)	Kullanılan Hacim
Master Mix (GeNetBio ExPrime Taq Premix (2X), G-5000)	12,5 µl
MgCl ₂ (50 mM)	0,75 µl
Forward Primer _{miks} (10 pmol)	1 µl
Reverse Primer _{miks} (10 pmol)	1 µl
Kalıp DNA	1 µl
ddH ₂ O	8,75 µl
TOPLAM	25 µl

Hazırlanan mastermikslere 0,2 ml’lik tüplerin her birine 24 µl aktarılmıştır. Daha önceden her bir örnek için hazırlanmış kalıp DNA’dan ilgili tüplere 1’er µl eklenmiştir. Tüpler daha sonra Applied Biosystems Gene Amp[®] PCR System 9700 termal döngüleme cihazına (ABD) yüklenmiştir. Bu amplifikasyon işlemine ait ısıl döngü ve süre diyagramı Tablo 10’da belirtilmiştir. İşlem sonunda elde edilen amplikonlar agaroz jel elektroforez aşamasına kadar 4°C’de muhafaza edilmiştir.

Tablo 10. *16S rRNA* ve *nuc* geni PCR işlemlerine ait ısıl döngü ve süre diyagramı

Basamak	Sıcaklık	Süresi	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyon	94°C	4 dk	1
Denatürasyon	94°C	30 sn	35
Bağlanma	57,5°C	30 sn	
Uzama	72°C	40 sn	
Son Uzama	70°C	10 dk	1
Bekletme	4°C	∞ dk	1

***coa* Geninin PCR Yöntemi ile Tespiti:**

16S rRNA ve *nuc* geni tespit edilen tüm *S. aureus* suşlarında *coa* geni varlığı da araştırılmıştır. *coa* geninin boyutları sabit olmayıp 500-650 bp arasında bantlar görülebilmektedir. *coa* geni varlığının tespiti amacıyla Hookey ve ark (1998) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Kullanılan primer seti Tablo 11’de belirtilmiştir.

Tablo 11. *coa* geninin belirlenmesinde kullanılan primerler

Gen	Primer Sekansı (5'-3')	Amplikon Büyüklüğü (bp)
<i>coa</i> -F	ATAGAGATGCTGGTACAGG	500-650
<i>coa</i> -R	GCTTCCGATTGTTCGATGC	

coa primerlerine spesifik ürünlerin aranması amacıyla yapılan PCR amplifikasyonu için toplam 25 µl hacimde mastermiks hazırlanmıştır. Mastermiks hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve hacimleri Tablo 12’de belirtilmiştir.

Tablo 12. *coa* geni için mastermiks hazırlama oranları

Malzeme (Ticari)	Kullanılan Hacim
Master Mix (GeNetBio ExPrime Taq Premix (2X), G-5000)	12,5 µl
MgCl ₂ (50 mM)	1,5 µl
Forward Primer _{miks} (10 pmol)	1 µl
Reverse Primer _{miks} (10 pmol)	1 µl
Kalıp DNA	3 µl
ddH ₂ O	6 µl
TOPLAM	25 µl

Hazırlanan mastermikslardan 22'şer µl 0,2 ml'lik tüplerin her birine aktarılmış, sonrasında ilgili tüplere 3'er µl kalıp DNA'dan ilave edilmiş ve hazırlanan tüpler termal döngüleme cihazına yerleştirilmiştir. İşlem sonunda elde edilen ampliconlar agaroz jel elektroforez aşamasına kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir. Amplifikasyon işleminin ısıl döngü ve süre diyagramı Tablo 13'te belirtilmiştir.

Tablo 13. *coa* geni PCR işlemlerine ait ısıl döngü ve süre diyagramı

Basamak	Sıcaklık	Süresi	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyon	94°C	45 sn	1
Denatürasyon	94°C	20 sn	30
Bağlanma	57°C	15 sn	
Uzama	70°C	15 sn	
Son Uzama	72°C	2 dk	1
Bekletme	4°C	∞ dk	1

3.2.2.3. *S. aureus*'un enterotoksin genlerinin tespiti

Çalışmada *S. aureus* tarafından üretilen enterotoksinlerin sentezinden sorumlu ve sıklıkla karşılaşılan *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *selj* ve *sep* genlerinin varlığı araştırılmıştır. Bu amaçla *16S rRNA*, *nuc* ve *coa* ile *S. aureus* olarak tanımlanan suşların, enterotoksin genlerinin tespiti Mehrotra ve ark (2000) ile Bania ve ark (2006) tarafından önerilen yöntemler modifiye edilerek setler halinde, multipleks PCR yöntemine göre yapılmıştır. Oluşturulan PCR setleri Tablo 14'te belirtilmiştir.

Tablo 14. *S. aureus* enterotoksin PCR setleri

Set I	Set II	Set III
<i>sea</i>	<i>seg</i>	<i>seh</i>
<i>seb</i>	<i>sei</i>	<i>sep</i>
<i>sec</i>	<i>selj</i>	
<i>sed</i>		
<i>see</i>		

S. aureus enterotoksin Set I PCR protokolü ve amplifikasyonu:

Set I için Mehrotra ve ark (2000) tarafından önerilen yöntem uygulanmıştır. Kullanılan primer seti Tablo 15'te belirtilmiştir.

Tablo 15. *S. aureus* enterotoksin Set I için kullanılan primerler

Gen	Primer Sekansı (5'-3')	Amplikon Büyüklüğü (bp)
<i>sea</i> -F	GGTTATCAATGTGCGGGTGG	102
<i>sea</i> -R	CGGCACTTTTTTCTCTTCGG	
<i>seb</i> -F	GTATGGTGGTGTAACTGAGC	164
<i>seb</i> -R	CCAAATAGTGACGAGTTAGG	
<i>sec</i> -F	AGATGAAGTAGTTGATGTGTATGG	451
<i>sec</i> -R	CACACTTTTAGAATCAACCG	
<i>sed</i> -F	CCAATAATAGGAGAAAATAAAAG	278
<i>sed</i> -R	ATTGGTATTTTTTTTCGTTC	
<i>see</i> -F	AGGTTTTTTCACAGGTCATCC	209
<i>see</i> -R	CTTTTTTTTCTTCGGTCAATC	

Set I'de belirtilen enterotoksin gen primerlerine spesifik ürünlerin aranması amacıyla yapılan PCR amplifikasyonu için toplam 25 µl hacimde mastermiks hazırlanmıştır. Mastermiks hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve hacimleri Tablo 16'da belirtilmiştir.

Tablo 16. *S. aureus* enterotoksin Set I için mastermiks hazırlama oranları

Malzeme (Ticari)	Kullanılan Hacim
Master Mix (GeNetBio ExPrime Taq Premix (2X), G-5000)	12,5 µl
MgCl ₂ (50 mM)	0,5 µl
Forward Primer _{<i>sea,seb,sec,see</i>} (10 pmol)	1 µl
Reverse Primer _{<i>sea,seb,sec,see</i>} (10 pmol)	1 µl
ForwardPrimer _{<i>sed</i>} (10 pmol)	1 µl
ReversePrimer _{<i>sed</i>} (10 pmol)	1 µl
Kalıp DNA	3 µl
ddH ₂ O	5 µl
TOPLAM	25 µl

Hazırlanan mastermikslardan 0,2 ml'lik tüplere aktarılıp, kalıp DNA'nın da eklenmesinden sonra, tüpler termal döngüleme cihazına yerleştirilmiştir. İşlem sonunda elde edilen ampliconlar agaroz jel elektroforez aşamasına kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir. Set I

için uygulanan amplifikasyon işleminin ısıl döngü ve süre diyagramı Tablo 17’de belirtilmiştir.

Tablo 17. *S. aureus* enterotoksin Set I PCR işlemlerine ait ısıl döngü ve süre diyagramı

Basamak	Sıcaklık	Süresi	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyon	94°C	5 dk	1
Denatürasyon	94°C	2 dk	35
Bağlanma	57°C	2 dk	
Uzama	72°C	1 dk	
Son Uzama	72°C	7 dk	1
Bekletme	4°C	∞ dk	1

***S. aureus* enterotoksin Set II PCR protokolü ve amplifikasyonu:**

Set II için Bania ve ark (2006) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Kullanılan primer seti Tablo 18’de belirtilmiştir.

Tablo 18. *S. aureus* enterotoksin Set II için kullanılan primerler

Gen	Primer Sekansı (5’-3’)	Amplikon Büyüklüğü (bp)
<i>seg-F</i>	GTTAGAGGAGGTTTTATG	198
<i>seg-R</i>	TTCCTTCAACAGGTGGAGA	
<i>sei-F</i>	GGCCACTTTATCAGGACA	328
<i>sei-R</i>	AACTTACAGGCAGTCCA	
<i>selj-F</i>	GTTCTGGTGGTAAACCA	131
<i>selj-R</i>	GCGGAACAACAGTTCTGA	

Set II’de belirtilen enterotoksin gen primerlerine spesifik ürünlerin aranması amacıyla yapılan PCR amplifikasyonu için toplam 25 µl hacimde mastermiks hazırlanmıştır. Mastermiks hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve hacimleri Tablo 19’da belirtilmiştir.

Tablo 19. *S. aureus* enterotoksin Set II için mastermiks hazırlama oranları

Malzeme (Ticari)	Kullanılan Hacim
Master Mix (GeNetBio ExPrime Taq Premix (2X), G-5000)	12,5 µl
MgCl ₂ (50 mM)	1 µl
Forward Primer _{seg,sei,selj} (10 pmol)	1 µl
Reverse Primer _{seg,sei,selj} (10 pmol)	1 µl
Kalıp DNA	2 µl
ddH ₂ O	7,5 µl
TOPLAM	25 µl

Hazırlanan mastermikslardan 0,2 ml'lik tüplerin her birine 23'er µl aktarılmış, ilgili tüplere 2'şer µl kalıp DNA'dan eklendikten sonra hazırlanan tüpler termal döngüleme cihazına yerleştirilmiştir. İşlem sonunda elde edilen amplikonlar agaroz jel elektroforez aşamasına kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir. Bu amplifikasyon işlemine ait ısıl döngü ve süre diyagramı Tablo 20'de belirtilmiştir.

Tablo 20. *S. aureus* enterotoksin Set II PCR işlemlerine ait ısıl döngü ve süre diyagramı

Basamak	Sıcaklık	Süresi	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyon	95°C	5 dk	1
Denatürasyon	95°C	30 sn	35
Bağlanma	52°C	30 sn	
Uzama	72°C	1,5 dk	
Son Uzama	72°C	5 dk	1
Bekletme	4°C	∞ dk	1

***S. aureus* enterotoksin Set III PCR protokolü ve amplifikasyonu:**

Set III için Bania ve ark (2006) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Kullanılan primer seti Tablo 21'de belirtilmiştir.

Tablo 21. *S. aureus* enterotoksin Set III için kullanılan primerler

Gen	Primer Sekansı (5'-3')	Amplikon Büyüklüğü (bp)
<i>seh-F</i>	CAACTGCTGATTTAGCTCAG	173
<i>seh-R</i>	CCCAAACATTAGCACCA	
<i>sep-F</i>	TCAAAAGACACCGCCAA	396
<i>sep-R</i>	ATTGTCCTTGAGCACCA	

Set III'te belirtilen enterotoksin gen primerlerine spesifik ürünlerin aranması amacıyla yapılan PCR amplifikasyonu için toplam 25 µl hacimde mastermiks hazırlanmıştır. Mastermiks hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve hacimleri ile bu amplifikasyon işlemindeki ısıl döngü ve süreler SET II için Tablo 19 ve Tablo 20'de belirtildiği şekilde uygulanmıştır. İşlem sonunda elde edilen amplikonlar agaroz jel elektroforez aşamasına kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2.4. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforez ile görüntülenmesi

Her bir izolat için PCR denemeleri kontroller ile birlikte 2 defa tekrarlanmıştır. Amplifikasyon işlemleri tamamlanan PCR ürünleri agaroz jel elektroforezi ile incelenmiştir. Bu amaçla 1x TAE tamponu (Thermo Scientific B49) ile %1,5 oranında agaroz jel hazırlanmış, 50°C'ye soğutulmuş ve 50 ml agaroz jele 3 µl %1'lik ethidium bromide (Biochemica A1152.0025) eklenip, karıştırılmıştır. Daha sonrasında agaroz jel yükleme kuyucuklarını oluşturan taraklar yerleştirilmiş jel kalıbının içerisine dökülüp, donması sağlanmıştır. Donan jelden taraklar çıkarılarak, 1x TAE tamponu ile birlikte elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Amplifiye edilen DNA'ların tespiti için, 0,2 ml tüplerde bulunan PCR ürünlerinden her bir ürün için 10 µl alınıp, 3 µl 6x Loading Dye (Fermentas) ile karıştırılıp, boyanmıştır. Aynı işlem pozitif ve steril distile su ile hazırlanmış negatif kontroller için de yapılmıştır. DNA marker olarak 100 bp'lik DNA Ladder (Fermentas) kullanılmıştır. Markerdan 1 µl alınıp, 1µl 6x Loading Dye, 4µl steril deiyonize suyla karıştırılmıştır. Hazırlanmış olan jele marker, pozitif kontrol, negatif kontrol ve örnekler için PCR ürünleri yüklenmiş, 80 voltta 1 saat elektroforez cihazında (Bio-Rad, ABD) yürütülmüştür. Sürenin bitiminin ardından jel bilgisayara bağlı durumdaki UV transilluminatör cihazındaki (Vilber Lourmat, Fransa) ilgili bölmeye yerleştirilip, görüntü alınmış, elde edilen bandların konumu DNA marker ve pozitif kontrol ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

3.2.3. *S.aureus* Suşlarının Antibiyotiklere Karşı Duyarlılığının Tespiti

Gıda, ekipman ve personel kaynaklı *S. aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları CLSI (2017) ile EUCAST (2018) standartları doğrultusunda araştırılmıştır. Antibiyogram analizinde 41879 referans numaralı VITEK AST-P640 kartları kullanılmış, Tablo 22'de VITEK AST-P640 kartında yer alan antibiyotikler, konsantrasyonları ve raporlanabilir aralıkları belirtilmiştir.

Tablo 22. VITEK AST-P640 kartında yer alan antibiyotikler, konsantrasyonları ve raporlanabilir aralıkları

Antibiyotik	Konsantrasyon	Raporlanabilir Aralık	
		≤	≥
Penisilin (P)	0,125-0,25-1-2-8-64	0,12	8
Sefoksitin (OXSF)	6	Negatif	Pozitif
Oksasilin (OX)	0,5-1-2	0,25	4
Gentamisin (GM)	8-16-64	0,5	16
Siprofloksasin (CIP)	1-2-4	0,5	8
Eritromisin (E)	1-2-4-8	0,25	8
Klindamisin (CM)	0,06-0,25-1	0,125	4
Linezolid (LNZ)	0,5-1-2	0,5	8
Daptomisin (DAP)	0,5-1-2-4-16	0,12	8
Teikoplanin (TEC)	0,5-2-8-32	0,5	32
Vankomisin (VA)	1-2-4-8-16	0,5	32
Tetrasiklin (TE)	0,5-1-2	1	16
Tigesiklin (TGC)	0,25-0,5-1	0,12	2
Fosfomisin (FOS)	8-32	8	128
Fusidik asit (FA)	0,5-1-4	0,5	32
Trimetoprim/Sulfametoksazol (SXT)	8/152-16/304-32/608	10 (0,5/9,5)	320 (16/304)
Yüksek Düzey Gentamisin Direnci (GHLR)	150	Pozitif	Negatif
İndüklenebilir Klindamisin Direnci (ICR)	CM 0,5, CM/E 0,25/0,5	Negatif	Pozitif

Örneklerden izole edilen *S. aureus* izolatlarının VITEK AST-P640 kartında yer alan antibiyotiklere karşı duyarlılıklarını tespit etmek amacıyla izolatlar öze yardımıyla TSA'ya geçilip, 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda TSA'da üreyen 18-24 saatlik taze kültürlerden steril svap yardımı ile alınan kolonilerden üreticinin talimatları doğrultusunda, 3 ml steril NaCl solüsyonu içerisinde 0,50-0,63 McFarland arasında yoğunluğa sahip süspansiyon hazırlanmıştır. McFarland ölçümünde DensiCHEK™ Plus McFarland cihazı (bioMérieux, Fransa) kullanılmıştır. Yoğunluğu belirlenen bakteri süspansiyonundan 280 µl alınarak steril başka bir 3 ml'lik NaCl solüsyonuna aktarılmış ve otomatik pipet vasıtası ile örneğin homojen şekilde karışımı sağlanmıştır. Hazırlanan bakteri süspansiyonu tüplerine VITEK AST kartları yerleştirilip, üreticinin talimatları doğrultusunda kart barkodları ile örnek isimleri eşleştirilerek VITEK 2 Compact (bioMérieux, Fransa)

cihazının doldurucu kısmına yüklenmiştir. Doldurucu kısmında dolun işleminin bitiminin ardından, cihaz tarafından, girilen örnek isimleri ve kart barkodlarının eşleştirmeleri yeniden kontrol edilip, dolunu yapılan kartlar cihazın inkübasyon modülüne otomatik olarak aktarılmış ve inkübasyon süreci sonunda cihaz tarafından sonuçlar 8 saat içerisinde otomatik olarak yazdırılmıştır.

3.2.4. *mecA* Geninin PCR Yöntemiyle Tespiti

Yapılan antibiyogram testleri sonucu sefoksitine ve oksasiline direnç gösteren suşlar ile birlikte diğer tüm suşlarda PCR yöntemi ile *mecA* geni varlığı araştırılmıştır. *mecA* geni varlığının tespiti amacıyla Mehrotra ve ark (2000) tarafından önerilen yöntem uygulanmıştır. Kullanılan primer seti Tablo 23'te belirtilmiştir.

Tablo 23. *mecA* geninin belirlenmesinde kullanılan primerler

Gen	Primer Sekansı (5'-3')	Amplikon Büyüklüğü (bp)
<i>mecA</i> -F	ACTGCTATCCACCCTCAAAC	163
<i>mecA</i> -R	CTGGTGAAGTTGTAATCTGG	

Tablo 23'te belirtilen *mecA* primerlerine özgü ürünlerin aranması amacıyla yapılan PCR amplifikasyonu için toplam 20 µl hacimde mastermiks hazırlanmıştır. Mastermiks hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve hacimleri Tablo 24'te belirtilmiştir.

Tablo 24. *mecA* geni için mastermiks hazırlama oranları

Malzeme (Ticari)	Kullanılan Hacim
Master Mix (GeNetBio ExPrime Taq Premix (2X), G-5000)	10 µl
Forward Primer _{<i>mecA</i>} (20 pmol)	1 µl
Reverse Primer _{<i>mecA</i>} (20 pmol)	1 µl
Kalıp DNA	3 µl
ddH ₂ O	5 µl
TOPLAM	20 µl

Hazırlanan mastermikslerden 0,2 ml'lik tüplere 17'şer µl aktarılmış, sonrasında ilgili tüplere 3'er µl kalıp DNA'dan ilave edilip, hazırlanan tüpler termal döngüleme cihazına yerleştirilmiştir. Bu amplifikasyon işleminde *S. aureus* enterotoksin SET I için Tablo 17'de

belirtilen ısıl döngü ve süre uygulanmıştır. İşlem sonunda elde edilen amplikonlar agaroz jel elektroforez aşamasına kadar 4°C’de muhafaza edilmiştir.

Amplifikasyon işlemleri tamamlanan PCR ürünleri 3.2.2.4’te belirtildiği gibi agaroz jel elektroforezi ile incelenmiştir.

3.2.5. *mecC* Geninin PCR Yöntemiyle Tespiti

Yapılan analizler sonucunda *mecA* geni taşımayan suşlarda PCR yöntemi ile *mecC* geni varlığı araştırılmıştır. *mecC* geni varlığını tespit etmek amacıyla Cuny ve ark (2011) tarafından önerilen yöntem uygulanmış, uygulamada kullanılan primer setleri Tablo 25’te belirtilmiştir.

Tablo 25. *mecC* geninin belirlenmesinde kullanılan primerler

Gen	Primer Sekansı (5’-3’)	Amplikon Büyüklüğü (bp)
<i>mecC</i> -F	GCTCCTAATGCTAATGCA	304
<i>mecC</i> -R	TAAGCAATAATGACTACC	

Yukarıdaki tabloda belirtilen *mecC* primerlerine spesifik ürünlerin aranması amacıyla yapılan PCR amplifikasyonu için toplam 20 µl hacimde mastermiks hazırlanmış, mastermiks hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve hacimleri ise Tablo 26’da belirtilmiştir.

Tablo 26. *mecC* geni için mastermiks hazırlama oranları

Malzeme (Ticari)	Kullanılan Hacim
Master Mix (GeNetBio ExPrime Taq Premix (2X), G-5000)	10 µl
Forward Primer _{<i>mecC</i>} (50 pmol)	1 µl
Reverse Primer _{<i>mecC</i>} (50 pmol)	1 µl
Kalıp DNA	5 µl
ddH ₂ O	3 µl
TOPLAM	20 µl

Belirtilen şekilde hazırlanan mastermikslardan 0,2 ml’lik tüplere 15’er µl aktarılmış, ilgili tüplere 5’er µl kalıp DNA’dan eklenmiş, sonrasında hazırlanan tüpler termal döngüleme cihazına yerleştirilmiştir. İşlem sonunda elde edilen amplikonlar agaroz jel elektroforez

aşamasına kadar 4°C’de muhafaza edilmiştir. Bu amplifikasyon işlemine ait ısı döngü ve süre diyagramı Tablo 27’de belirtilmiştir.

Tablo 27. *mecC* geni PCR işlemlerine ait ısı döngü ve süre diyagramı

Basamak	Sıcaklık	Süresi	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyon	95°C	5 dk	1
Denatürasyon	94°C	30 sn	35
Bağlanma	50°C	1 dk	
Uzama	72°C	1 dk	
Son Uzama	72°C	7 dk	1
Bekletme	4°C	∞ dk	1

Amplifikasyon işlemleri tamamlanan PCR ürünleri 3.2.2.4’te belirtildiği gibi agaroz jel elektroforezi ile incelenmiştir.

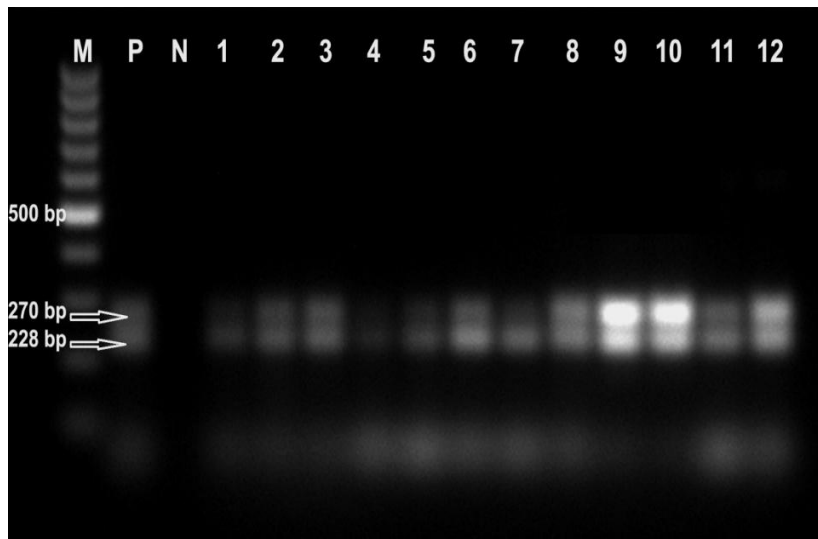
3.2.6. Referans Suşlar

Bu çalışmada *16S rRNA*, *nuc* ve *coa* geni varlığının tespiti amacıyla yapılan analizlerde *S. aureus* ATCC 25923, *mecA* geni varlığının tespiti amacıyla yapılan analizlerde ise *S. aureus* ATCC 43300 suşları pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Enterotoksin genleri ile *mecC* geni varlığının tespiti amacıyla yapılan analizlerde Prof. Dr. Ali AYDIN (Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi) tarafından daha önce çeşitli kaynaklardan izole edilen enterotoksin ve antibiyotik direnci içeren laboratuvardaki *S. aureus* izolatları pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Tüm analizlerde steril distile su negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

4. BULGULAR

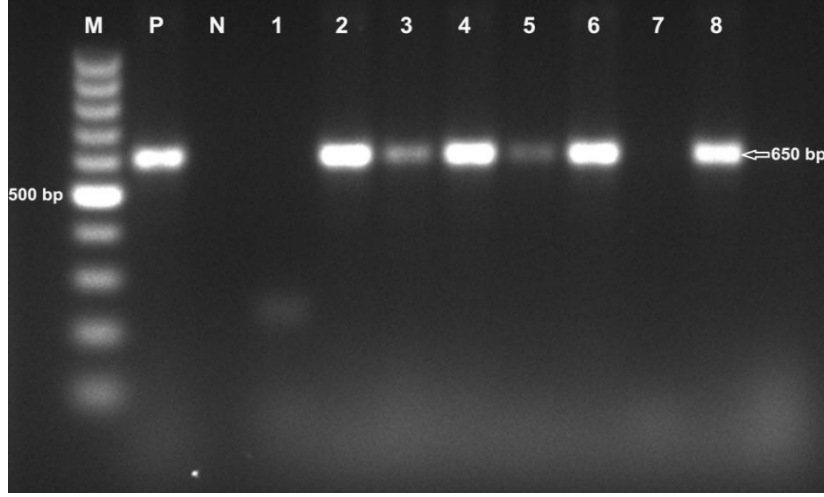
Araştırma kapsamında 2016 ile 2018 yılları arasında Batı Ege Bölgesi illerinde (Aydın, İzmir, Muğla) bulunan çeşitli noktalardan temin edilen gıda (850 adet), mezbahada kullanılan alet-ekipman (450 adet) ve çalışan personelden (150 adet) olmak üzere toplanılan 1450 adet örnek incelenmiş, örneklerin *S. aureus* ile kontaminasyon düzeyi, örneklerden izole edilen etkenlerin de bazı virulens faktörleri ve antibiyotik direnç profili belirlenmiştir. Ayrıca mezbaha örneklerinde 10 kesim prosesi incelenmiş ve kesim proses zamanı göz önünde bulundurularak prosesin başında, ortasında ve sonunda olmak üzere 3 ayrı periyotta svap örnekleri alınmıştır.

Örnekler öncelikle bakteriyolojik yöntemler kullanılarak incelenmiş ve 106 adet (%7,3) örneğin çeşitli düzeylerde *S. aureus* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Konvansiyonel yöntemlerle *S. aureus* ile kontaminasyonu tespit edilen her örnekten birer adet izolat alınıp PCR tekniği kullanılarak, Stafilokoklara özgü *16S rRNA* geni ile *S. aureus*'a özgü *nuc* ve *coa* geni varlığı yönünden araştırılmıştır. Analizler sonucunda 1450 adet örnekten konvansiyonel olarak tespit edilen 106 izolatın 92'sinin (%86,8) PCR ile doğrulaması yapılmış ve doğrulanan örneklerin *S. aureus* ile kontaminasyon düzeyi çalışmada kullanılmıştır. Resim 8'de *16S rRNA* geni ile *nuc* geni tespit edilen örneklerin elektroforez görüntüsü, Resim 9'da ise *coa* geni pozitif örneklerin elektroforez görüntüsü verilmiştir.



Resim 8. *16S rRNA* geni ile *nuc* geni tespit edilen örneklerin elektroforez görüntüsü

M: 100 bp'lik Marker, P: Pozitif Kontrol (*S. aureus* ATCC 25923), N: Negatif Kontrol, 1-12: *16S rRNA* geni ile *nuc* geni Pozitif Örnekler



Resim 9. *coa* geni pozitif örneklerin elektroforez görüntüsü

M: 100 bp'lik Marker, P: Pozitif Kontrol (*S. aureus* ATCC 25923), N: Negatif Kontrol, 2, 3, 4, 5, 6, 8: *coa* geni Pozitif Örnekler, 1,7: *coa* geni Negatif Örnekler

Analizler sonucunda tank sütü örneklerinin %10,8'inin, tulum peyniri örneklerinin %17'sinin, tavuk eti örneklerinin ise %12'sinin *S. aureus* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Mezbaha prosesi göz önüne alındığında karkasın sağ ve sol yarımından alınan sünger svap örnekleri birlikte değerlendirilmiş ve bu örneklerden de %4'ünün söz konusu etken ile kontaminasyonu tespit edilmiştir. Genel olarak değerlendirmek gerekirse incelenen tüm gıda örneklerinin %10,1'inin çeşitli düzeylerde *S. aureus* ile kontamine olduğu analizler sonucu belirlenmiştir.

İncelenen 10 mezbaha prosesinde; derinin yüzülmesinden sonra alınan karkas örneklerinden 2 adedinin, proses tamamlandıktan sonra alınan örneklerden ise 6 adedinin *S. aureus* ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, deri yüzümünden sonra kontaminasyon belirlenen karkas örneklerinin proses tamamlandıktan sonra kontaminasyon tespit edilen örneklerden farklı olduğu belirlenmiştir. İnceleme boyunca farklı proseslerin ayrı aşamalarında alet-ekipman örneklerinin 4'ünde, çalışan personelin ise 2'sinde söz konusu etken izole edilip, doğrulanmıştır. Tablo 28'de *S. aureus* izolatlarının gıda ve mezbaha örneklerine göre dağılımı verilmiştir.

Tablo 28. *S. aureus* izolatlarının gıda ve mezbaha örneklerine göre dağılımı

Örnek grubu	İncelenen örnek sayısı	Bakteriyolojik yöntemlerle tespit edilen örnek sayısı (%)	PCR ile doğrulanan örnek sayısı (%)	Doğrulama Oranı (%)
Tank sütü	450	54 (12)	49 (10,8)	90,7
Tulum peyniri	100	18 (18)	17 (17)	94,4
Tavuk eti	100	16 (16)	12 (12)	75
Karkas*	200	10 (5)	8 (4)	80
Toplam	850	98 (11,5)	86 (10,1)	87,7
Alet-ekipman**	450	6 (1,3)	4 (0,8)	66,6
Personel**	150	2 (1,3)	2 (1,3)	100
Toplam	600	8 (1,3)	6 (1)	75
Genel Toplam	1450	106 (7,3)	92 (6,3)	86,8

*Karkasın sağ ve sol yarımından alınan örnekler birlikte değerlendirilmiştir.

** Proses boyunca kullanılan alet-ekipman (bıçak, masat, önlük) ve çalışan personelin ellerinden alınan svap örneklerinin tamamı değerlendirilmiştir.

4.1. Gıda, Alet-Ekipman ve Personel Örneklerinin *S. aureus* ile Kontaminasyon Düzeyleri

Çalışma kapsamında analizleri yapılan 450 tank sütü örneğinin 49'unda ortalama 3,01 log kob/ml, 100 peynir örneğinin ise 17'sinde ortalama 3,08 log kob/g düzeyinde *S. aureus* kontaminasyonu saptanmıştır. Ayrıca çalışmada 40 adet kanat eti, 30 adet derili göğüs eti ve 30 adet de derili but eti olmak üzere toplam 100 adet tavuk eti numunesi incelenmiş, kanat eti örneklerinden 4'ünün, göğüs eti örneklerinden 2'sinin, but eti örneklerinden ise 6'sının *S. aureus* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Ortalama kontaminasyon düzeyleri de kanat ve göğüs eti örneklerinde 2,92 log kob/g, but eti örneklerinde 2,85 log kob/g olarak bulunmuş, tavuk eti örnekleri genel olarak değerlendirildiğinde *S. aureus* düzeyinin ortalama 2,89 log kob/g olduğu tespit edilmiştir. Sığır karkaslarından alınan örneklerden 8'inde ortalama 1,28 log kob/cm² düzeyinde *S. aureus* bulunmuştur. Tablo 29'da çalışma kapsamında incelenen gıda örneklerinin *S. aureus* ile kontaminasyon düzeyleri verilmiştir.

Tablo 29. Analiz edilen tank sütü, tulum peyniri, tavuk eti ve sığır karkası örneklerinin *S. aureus* ile kontaminasyon düzeyleri

	Örnekler					
	Tank Sütü (log kob/ml)	Tulum Peynir (log kob/g)	Tavuk Eti (log kob/g)			Sığır Karkası** (log kob/cm ²)
			Kanat	Göğüs	But	
n/N	49/450	17/100	4/40	2/30	6/30	8/200
Minimum	2	2,3	2,84	2,95	2,3	0,47
Maksimum	4,17	3,77	3,23	2,9	3,27	2,23
Ortalama ($\bar{X} \pm S_x$)	3,01±0,48	3,08±0,42	2,92±0,20	2,92±0,03 2,89±0,27*	2,85±0,37	1,28±0,54

n: *S. aureus* pozitif olan örnek sayısı N: Analiz edilen örnek sayısı *Tavuk eti örnekleri genel ortalama

** Karkasın sağ ve sol yarımından alınan örnekler birlikte değerlendirilmiştir.

İncelenen 10 mezbaha prosesinden rastgele seçilen 100 sığır karkasının deri yüzülmesinden sonra alınan örneklerinden 2 adedinde ortalama 0,66 log kob/cm², proses tamamlandıktan sonra alınan örneklerinden ise 6 adedinde ortalama 1,49 log kob/cm² düzeyinde *S. aureus* saptanmıştır. Ayrıca elde edilen bulgular incelendiğinde kontaminasyon belirlenen örneklerin farklı hayvanlara ait karkaslar olduğu tespit edilmiştir. Tablo 30'da sığır karkas örneklerinin *S. aureus* düzeyleri belirtilmiştir.

Tablo 30. Deri yüzülmesinden sonra (sağ yarım) ve kesim prosesi sonunda (sol yarım) analiz edilen sığır karkas örneklerinin *S. aureus* ile kontaminasyon düzeyleri (log kob/cm²)

	n/N	Minimum	Maksimum	Ortalama ($\bar{X} \pm S_x$)
Karkasın Sağ Yarımı	2/100	0,47	0,84	0,66±0,26
Karkasın Sol Yarımı	6/100	0,96	2,23	1,49±0,44

n: *S. aureus* pozitif olan örnek sayısı N: Analiz edilen örnek sayısı

Mezbahada uygulanan kesim prosesi zamanı göz önünde bulundurularak prosesin başında alet-ekipman ile personelden alınan örneklerin hiçbirinde *S. aureus*'a rastlanılmamıştır. Prosesin ortasında alınan önlük örneklerinden 1'inde, personelin ellerinden alınan örneklerin ise 2'sinde *S. aureus* saptanmıştır. Prosesin sonunda personelden alınan örneklerde *S. aureus* tespit edilmemiş, ancak bıçak, masat ve önlük örneklerinden her birinden birer adet olmak üzere kesim prosesinde kullanılan alet-ekipmanlarda farklı düzeylerde *S. aureus* kontaminasyonu belirlenmiştir. Genel olarak elde edilen bulgular değerlendirildiğinde,

kontaminasyon belirlenen örneklerin farklı proseslere ait olduğu görülmüştür. Tablo 31’de kesim prosesinde kullanılan alet-ekipman ve proseste çalışan personelin ellerinin *S. aureus* ile kontaminasyon düzeyleri belirtilmiştir.

Tablo 31. Kesim prosesinde kullanılan alet-ekipman (bıçak, masat, önlük) ve proseste çalışan personelin ellerinin *S. aureus* ile kontaminasyon düzeyleri (log kob/cm²)

Proses zamanı	n/N	<i>S. aureus</i> düzeyi
<i>Proses başlangıcı</i>	0/200	
Bıçak	0/50	-
Masat	0/50	-
Önlük	0/50	-
Personel	0/50	-
<i>Proses ortası</i>	3/200	
Bıçak	0/50	-
Masat	0/50	-
Önlük	1/50	0,58
Personel	2/50	1,26*
<i>Proses sonu</i>	3/200	
Bıçak	1/50	0,81
Masat	1/50	0,63
Önlük	1/50	0,58
Personel	0/50	-

n: *S. aureus* pozitif olan örnek sayısı N: Analiz edilen örnek sayısı

*İki örnekte belirlenen *S. aureus* kontaminasyon düzeyinin ortalaması (Sx:±0,19)

4.2. *S. aureus* İzolatlarında Enterotoksin Genlerinin Varlığı

Çalışmada elde edilen 92 adet *S. aureus* izolatından 39’unun (%42,4) enterotoksin genlerinden (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *selj*, *sep*) en az birine sahip olduğu tespit edilmiştir. Tank sütü, tavuk eti ve sığır karkas örneklerine ait izolatların enterotoksijenik özellikte olduğu, ancak tulum peyniri, alet-ekipman ile personelden elde edilen izolatların ise incelenen enterotoksin genlerinden hiçbirini içermediği yapılan analizler sonucunda belirlenmiştir. Tablo 32’de enterotoksin geni varlığı yönünden *S. aureus* izolatlarının dağılımı verilmiştir. *S. aureus* izolatlarının enterotoksijenik özellikleri 3 set oluşturularak multipleks

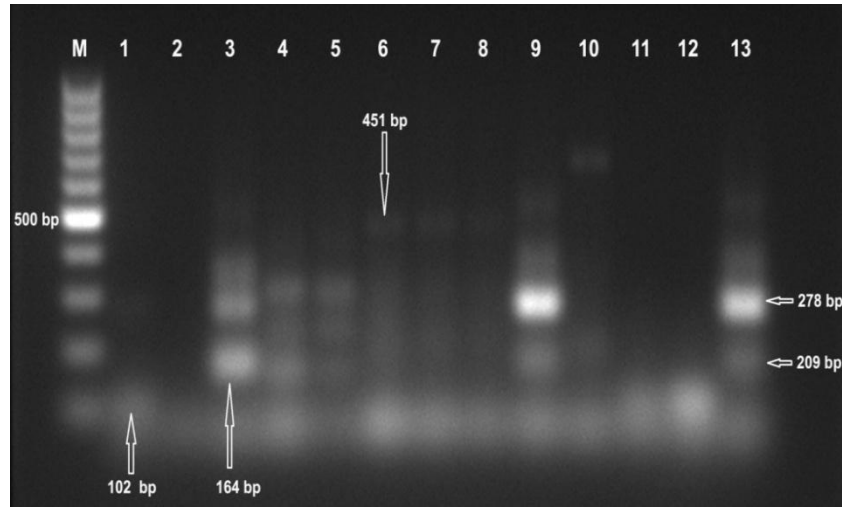
PCR tekniği ile tanımlanmış olup, buna ilişkin elektroforez görüntüleri de Resim 10, Resim 11 ve Resim 12’de belirtilmiştir.

Tablo 32. Enterotoksin geni varlığı yönünden *S. aureus* izolatlarının dağılımı

Numune Grubu	İzolat sayısı	Enterotoksin geni içeren izolat sayısı (%)	Enterotoksin geni içermeyen izolat sayısı (%)
Tank sütü	49	33 (67,3)	16 (32,6)
Tulum peyniri	17	-	17 (100)
Tavuk eti	12	4 (33,3)	8 (66,6)
Karkas*	8	2 (25)	6 (75)
Alet-ekipman**	4	-	4 (100)
Personel**	2	-	2 (100)
Toplam (%)	92	39 (42,4)	53 (57,6)

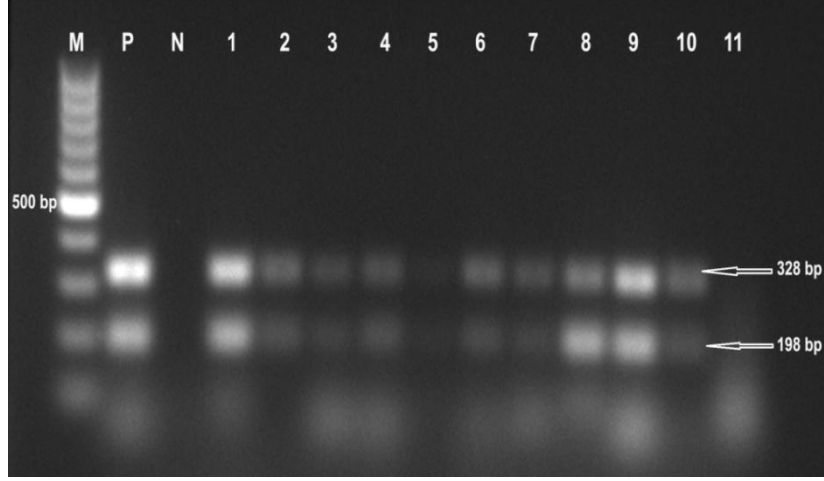
*Deri yüzülmesinden sonra ve proses tamamlandıktan sonra alınan karkas örneklerinin tamamı değerlendirilmeye alınmıştır.

** Proses boyunca kullanılan alet-ekipman (bıçak, masat, önlük) ve çalışan personelin ellerinden alınan svap örneklerinin tamamı değerlendirilmeye alınmıştır.



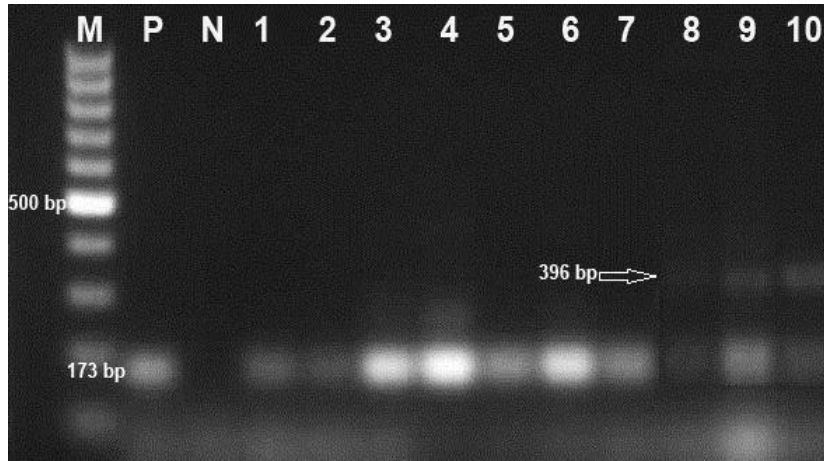
Resim 10. *S. aureus* enterotoksin Set I pozitif örneklerin elektroforez görüntüsü

M: 100 bp’lik Marker, 1: *sea* Geni Pozitif Kontrol, 2: Negatif Kontrol, 3: *seb*, *sed* Genleri Pozitif Örnek, 4, 5: *seb* Pozitif Örnekler, 6: *sec* Geni Pozitif Kontrol, 7, 8: *sec* Geni Pozitif Örnekler, 9, 13: *sed*, *see* Genleri Pozitif Örnek, 10: *see* Geni Pozitif Kontrol, 11,12: *sea* Geni Pozitif Örnekler



Resim 11. *S. aureus* enterotoksin Set II pozitif örneklerin elektroforez görüntüsü

M: 100 bp'lik Marker, P: Pozitif Kontrol (*seg, sei*), N: Negatif Kontrol, 1-10: *seg, sei* Genleri Pozitif Örnekler, 11: *seg, sei* Genleri Negatif Örnek



Resim 12. *S. aureus* enterotoksin Set III pozitif örneklerin elektroforez görüntüsü

M: 100 bp'lik Marker P1: *seh* Pozitif Kontrol, N: Negatif Kontrol, 1-7: *seh* Geni Pozitif Örnekler, 8-10: *seh, sep* Genleri Pozitif Örnekler

Ayrıca Tablo 32'de de belirtildiği üzere sığır karkas örneklerinden elde edilen izolatlardan 2'sinin enterotoksijenik özelliğe sahip olduğu, bu izolatların da kesim süreci bittikten sonraki karkaslardan alınan örneklerde bulunduğu saptanmıştır.

Çalışma çerçevesinde elde edilen *S. aureus* izolatlarının %42,4'ünün enterotoksijenik özellikte olduğu saptanmıştır. İncelenen örnekler içerisinde bir ya da birden fazla enterotoksin geni içeren izolatlarda klasik enterotoksinlerin (SEA-SEE) üretiminden sorumlu genlerin varlığı değerlendirildiğinde; toplam 39 enterotoksijenik *S. aureus* izolatının en çok *sed* geni (6 adet) taşıdığı, bunu 5 adet ile *sec* geni, 4 adet ile *seb* geni ve 2'ser adet olmak üzere *sea* ile *see*

genlerinin takip ettiği belirlenmiştir. Ürün grupları değerlendirildiğinde ise tank sütü izolatlarının en çok *sec* (%15,1) geni içerdiği, karkaslardan izole edilen 2 adet enterotoksijenik izolatın her ikisinin de sadece *seb* ve *sed* genlerine sahip olduğu, tavuk eti izolatlarının ise klasik enterotoksinlerden hiçbirini taşımadığı tespit edilmiştir.

Çalışmada klasik enterotoksinlerden sorumlu genler haricinde *seg*, *seh*, *sei*, *selj* ve *sep* genlerinin de varlığı araştırılmıştır. Buna göre enterotoksijenik *S. aureus* izolatlarında en fazla *sei* geni (21 adet) tespit edilmiş olup, bunu *seh* (20 adet), *seg* (19 adet) ve *sep* (3 adet) genleri izlemiştir. Çalışma kapsamında elde edilen izolatların hiçbirinde *selj* geni saptanmamıştır. Ürün grupları göz önüne alındığında tank sütü izolatlarının %60,6'nın *seh* genine %51,5'inin *sei* genine, %48,5'inin *seg* genine sahip olduğu, *sep* genini ise %9,1 oranında taşıdığı yapılan analizler sonucu ortaya konulmuştur. Tavuk eti izolatlarında *seg* ve *sei* genlerinin varlığı belirlenmiş, ancak tulum peyniri ile karkas izolatlarının hiçbirinde *seg*, *seh*, *sei*, *selj* ve *sep* genlerinin varlığı tespit edilmemiştir. Tablo 33'te örneklere ait *S. aureus* izolatlarında enterotoksin genlerinin varlığı belirtilmiştir.

Tablo 33. Analiz edilen örneklere ait *S. aureus* izolatlarında enterotoksin genlerinin varlığı

Enterotoksin genleri	Tank sütü (n=33) (%)	Tavuk eti (n=4) (%)	Sığır Karkası (n=2) (%)	Toplam (n=39) (%)
<i>sea</i>	1 (3)			1 (2,5)
<i>seg</i>	2 (6)			2 (5,1)
<i>seh</i>	12 (36,3)			12 (30,7)
<i>sei</i>		1 (25)		1 (2,5)
<i>seb, sed</i>			2 (100)	2 (5,1)
<i>seg, sei</i>	8 (24,2)	3 (75)		11 (28,2)
<i>sea, seg, sei</i>	1 (3)			1 (2,5)
<i>sec, seh, sei</i>	3 (9,1)			3 (7,6)
<i>seg, seh, sei</i>	2 (6)			2 (5,1)
<i>sed, see, seh, sep</i>	1 (3)			1 (2,5)
<i>seb, sed, seg, sei, sep</i>	1 (3)			1 (2,5)
<i>seb, sec, sed, seg, seh, sei</i>	1 (3)			1 (2,5)
<i>sec, sed, see, seg, seh, sei, sep</i>	1 (3)			1 (2,5)

Enterotoksijenik izolatlar genel olarak değerlendirildiğinde *S. aureus* izolatlarının %71,8'inin klasik enterotoksin genlerini taşımadığı, ancak varlığı araştırılan diğer enterotoksin genlerine sahip olduğu belirlenmiştir.

4.3. *S. aureus* İzolatlarının Antibiyogram Bulguları

Çalışmada elde edilen *S. aureus* izolatlarına 41879 referans numaralı VITEK AST-P640 kartları kullanılarak VITEK 2 Compact cihazı ile antibiyogram yapılmıştır. İzolatların Tablo 34’te belirtilen CLSI (2017) ile EUCAST (2018) standartlarına göre antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiştir. Tigesiklin, fosfomisin ve fusidik asit için CLSI (2017) standardında değer belirtilmediğinden, söz konusu antibiyotikler EUCAST (2018) standartlarına göre değerlendirilmiştir.

Tablo 34. CLSI ve EUCAST standart MIC değerleri (µg/ml)

Antibiyotikler	S	I	R
Penisilin (P)	≤0,12		≥0,25
Sefoksitin (OXSF)	≤4		≥8
Oksasilin (OX)	≤2		≥4
Gentamisin (GM)	≤4	8	≥16
Siprofloksasin (CIP)	≤1	2	≥4
Eritromisin (E)	≤0.5	1-4	≥8
Klindamisin (CM)	≤0.5	1-2	≥4
Linezolid (LNZ)	≤4		≥8
Daptomisin (DAP)	≤1		
Teikoplanin (TEC)	≤8	16	≥32
Vankomisin (VA)	≤2	4-8	≥16
Tetrasiklin (TE)	≤4	8	≥16
Tigesiklin (TGC)	≤0.5		
Fosfomisin (FOS)	≤32		
Fusidik Asit (FSA)	≤1		
Trimetoprim/Sulfametoksazol (SXT)	≤2/38		≥4/76

Çalışma kapsamında çeşitli örneklerden izole edilen 92 adet *S. aureus* izolatının değişik grup antibiyotiklere karşı duyarlılık sonuçları genel olarak Tablo 35’te, örnek gruplarına göre antibiyotiklere karşı duyarlılık oranları ise Tablo 36’da belirtilmiştir. Buna göre izolatların en çok %65,3 oranında penisiline dirençli olduğu tespit edilmiştir. Bu düzeyi %22,8 ile oksasilin, %18,4 ile klindamisin, %11,9 ile eritromisin, %9,8 ile sefoksitin, siprofloksasin ve fusidik asit, %7,7 ile daptomisin, %6,6 ile tetrasiklin ve fosfomisin dirençliliği takip etmektedir. Bununla birlikte linezolide karşı 4 adet (%4,3), teikoplanin, vankomisin ile trimetoprim/sulfametoksazole karşı 3’er adet (%3,2), gentamisine karşı ise 1 adet (%1) izolatın dirençli olduğu belirlenmiştir. Ancak tigesikline karşı dirençli *S. aureus*

izolatı tespit edilememiştir. Elde edilen bulgular genel olarak değerlendirildiğinde 92 adet izolattan 66'sının (%71,7) farklı antibiyotik gruplarına karşı dirençli olduğu saptanmıştır. Antibiyotik dirençlilik bakımından izolatlardan 29'unun (%43,9) 2 ve daha fazla farklı antibiyotik çeşidine dirençli (Çoklu İlaç Direnci-ÇİD) olduğu belirlenmekle birlikte, 1 adet tulum peyniri örneğine ait izolatın 11 adet farklı antibiyotiğe (penisilin, oksasilin, siprofloksasin, eritromisin, klindamisin, linezolid, daptomisin, teikoplanin, vankomisin, tetrasiklin, trimetoprim/sulfametoksazol), 1 adet tank sütü izolatının da 12 farklı antibiyotiğe (penisilin, oksasilin, siprofloksasin, eritromisin, klindamisin, linezolid, daptomisin, teikoplanin, vankomisin, tetrasiklin, fusidik asit, trimetoprim/sulfametoksazol) dirençli olduğu saptanmıştır.

Tablo 35. *S. aureus* izolatlarının genel antibiyotik duyarlılıkları

Antibiyotikler	<i>S. aureus</i> izolat sayısı (n=92)		
	S (%)	I (%)	R (%)
Penisilin	32 (34,7)	0	60 (65,3)
Sefoksitin	83 (90,3)	0	9 (9,8)
Oksasilin	71 (77,2)	0	20 (22,8)
Gentamisin	91 (99)	0	1 (1)
Siprofloksasin	81 (88)	2 (2,2)	9 (9,8)
Eritromisin	65 (70,8)	16 (17,3)	11 (11,9)
Klindamisin	75 (81,6)	0	17 (18,4)
Linezolid	88 (95,7)	0	4 (4,3)
Daptomisin	85 (92,3)	0	7 (7,7)
Teikoplanin	89 (96,8)	0	3 (3,2)
Vankomisin	89 (96,8)	0	3 (3,2)
Tetrasiklin	85 (92,4)	1 (1)	6 (6,6)
Tigesiklin	92 (100)	0	0
Fosfomisin	86 (93,4)	0	6 (6,6)
Fusidik asit	83 (90,2)	0	9 (9,8)
Trimetoprim/Sulfametoksazol	89 (96,8)	0	3 (3,2)

Tablo 36. *S. aureus* izolatlarında örnek gruplarına göre antibiyotik duyarlılık oranları

Örnek Grubu	*	ANTİBİYOTİKLER															
		P	OXSf	OX	GM	CIP	E	CM	LNZ	DAP	TEC	VA	TE	TGC	FOS	FSA	SXT
Tank sütü (n=49)	S	%51,1	%89,8	%73,7	% 98	%91,8	%85,8	%87,8	%98	%93,9	%98	%98	%91,8	%100	%91,9	%87,8	%98
	I					% 2	%6,1										
	R	%48,9	%10,2	%18,3	% 2	%6,2	%8,1	%12,2	% 2	%6,1	% 2	% 2	%8,2		%8,1	%12,2	%2
Tulum peyniri (n=17)	S	%11,7	%88,3	%47,1	%100	%82,4	%47	%58,9	% 82,4	%82,4	%88,3	%88,3	%82,3	%100	%88,3	%94,2	% 88,3
	I						%29,4						%6				
	R	%88,3	%11,7	%52,9		%17,6	%23,6	%41,1	% 17,6	%17,6	%11,7	%11,7	%11,7		%11,7	%5,8	% 11,7
Tavuk eti (n=12)	S	%33,3	%83,4	%83,4	%100	%66,7	%50	%83,3	%100	% 92	%100	%100	%100	%100	%100	%91,7	%100
	I					%8,3	%33,3										
	R	%66,7	%16,6	%16,6		%25	%16,7	%16,7		% 8						%8,3	
Karkas (n=8)	S		%100	%87,5	%100	%100	%50	% 75	%100	%100	%100	%100	%100	%100	%100	%87,5	%100
	I						%37,5										
	R	%100		%12,5			%12,5	% 25								%12,5	
Alet-ekipman (n=4)	S	%25	%100	%100	%100	%100	% 75	%100	%100	%100	%100	%100	%100	%100	%100	%100	%100
	I						% 25										
	R	%75															
Personel (n=2)	S		%100	%100	%100	%100	%100	%100	%100	%100	%100	%100	%100	%100	% 10	%100	%100
	I																
	R	%100															

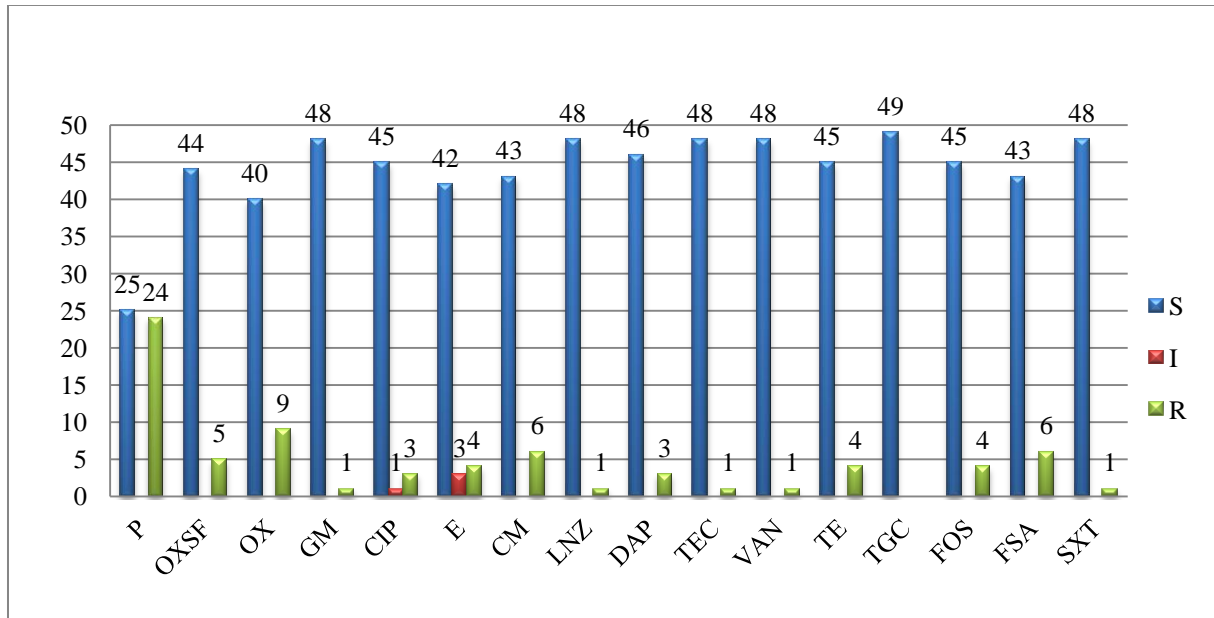
*Antibiyotik duyarlılık durumları; S: Duyarlı, I: Orta Düzeyde Duyarlı, R: Dirençli

P: Penisilin, OXSf: Sefoksitin, OX: Oksasilin, GM: Gentamisin, CIP: Siprofloksasin, E: Eritromisin, CM: Klindamisin, LNZ: Linezolid, DAP: Daptomisin, TEC: Teikoplanin, VA: Vankomisin, TE: Tetrasiklin, TGC: Tigesiklin, FOS: Fosfomisin, FSA: Fusidik Asit, SXT: Trimetoprim/Sulfametoksazol

4.3.1. *S. aureus* İzolatlarında Örnek Gruplarına Göre Antibiyotik Duyarlılıkları

4.3.1.1. Tank sütü örneklerine ait izolatlarda antibiyotik duyarlılıkları

Tank sütü örneklerinden izole edilen 49 adet *S. aureus* izolatından 26'sında (%53) antibiyotik direncinin çeşitli düzeylerde olduğu saptanmış ve Şekil 3'te verilmiştir. İzolatlardan 24'ü (%48,9) penisiline, 9'u (%18,3) oksasiline direnç göstermiştir. Klindamisine ve fusidik aside karşıda 6'şar izolatın dirençli olduğu tespit edilmiştir. ÇİD açısından bulgular değerlendirildiğinde 26 adet dirençli izolattan 10'unun (%38,4) 2 ve daha fazla farklı antibiyotik çeşidine dirençli olduğu belirlenmiştir.



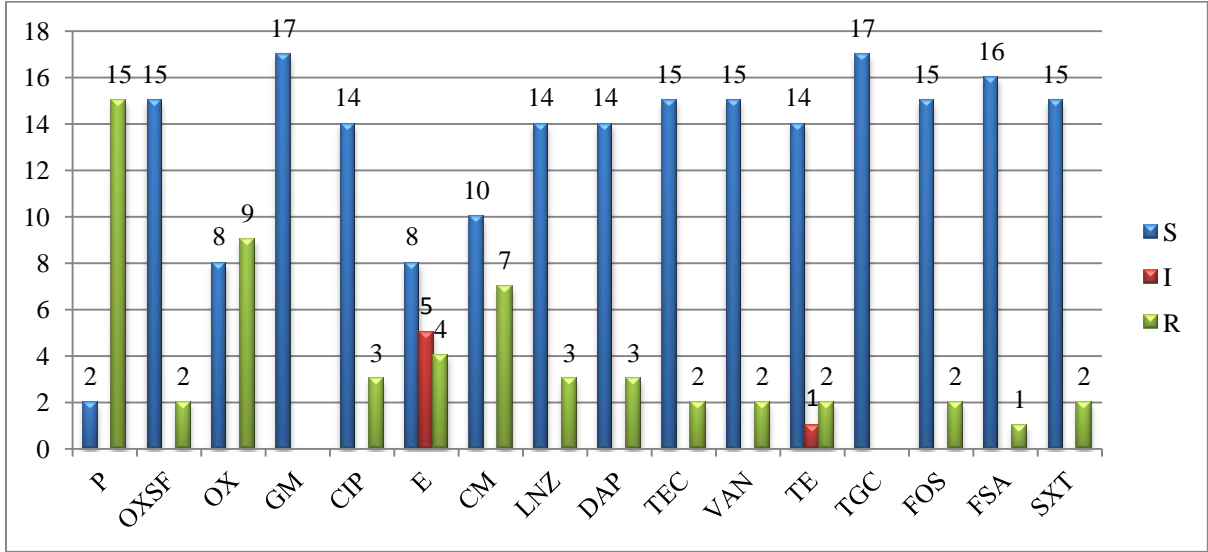
Şekil 3. Tank sütü örneklerine ait izolatlarda antibiyotik duyarlılıkları

P: Penisilin, OXSF: Sefoksitin, OX: Oksasilin, GM: Gentamisin, CIP: Siprofloksasin, E: Eritromisin, CM: Klindamisin, LNZ: Linezolid, DAP: Daptomisin, TEC: Teikoplanin, VA: Vankomisin, TE: Tetrasiklin, TGC: Tigesiklin, FOS: Fosfomisin, FSA: Fusidik Asit, SXT: Trimetoprim/Sulfametoksazol

4.3.1.2. Tulum peyniri örneklerine ait izolatlarda antibiyotik duyarlılıkları

Tulum peyniri örneklerinden izole edilen 17 adet *S. aureus* izolatının tamamının en az bir antibiyotik dirençli olduğu tespit edilmiştir. İzolatlardan 15'inin (%88,3) penisiline, 9'unun (%52,9) oksasiline, 7'sinin (%41,1) klindamisine dirençli olduğu saptanmıştır. Tüm izolatların gentamisin ve tigesikline duyarlı olduğu belirlenmiştir. Tulum peyniri örneklerine ait izolatların antibiyotik dirençlilikleri Şekil 4'te belirtilmiştir. ÇİD açısından bulgular

değerlendirildiğinde 17 adet dirençli izolattan 10'unun (%58,8) 2 ve 2'den fazla farklı antibiyotik çeşidine dirençli olduğu görülmüştür.

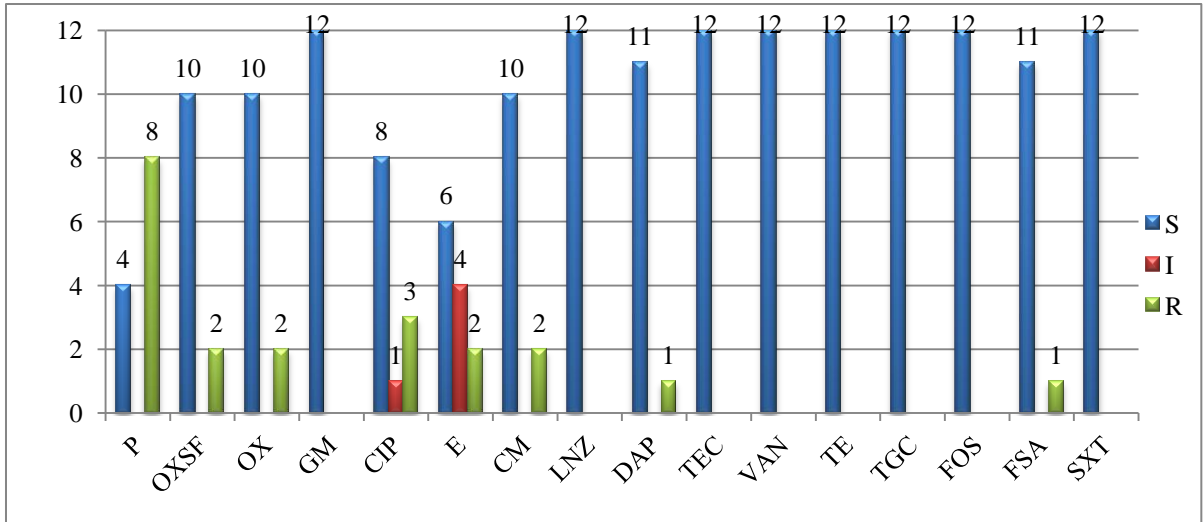


Şekil 4. Tulum peyniri örneklerine ait izolatlarda antibiyotik duyarlılıkları

P: Penisilin, OXSF: Sefoksitin, OX: Oksasilin, GM: Gentamisin, CIP: Siprofloksasin, E: Eritromisin, CM: Klindamisin, LNZ: Linezolid, DAP: Daptomisin, TEC: Teikoplanin, VA: Vankomisin, TE: Tetrasiklin, TGC: Tigesiklin, FOS: Fosfomisin, FSA: Fusidik Asit, SXT: Trimetoprim/Sulfametoksazol

4.3.1.3. Tavuk eti örneklerine ait izolatlarda antibiyotik duyarlılıkları

Tavuk eti örneklerinden izole edilen 12 adet *S. aureus* izolatından 10'unda (%83,3) çeşitli düzeylerde farklı gruplardan antibiyotiklere karşı direnç belirlenmiştir. İzolatlardan 8'inin (%66,7) penisiline, 3'ünün (%25) siprofloksasine dirençli olduğu yapılan analizler sonucunda tespit edilmiştir. İzolatların antibiyotik duyarlılıkları Şekil 5'te belirtilmiştir. Tüm izolatların gentamisin, linezolid, teikoplanin, vankomisin, tetrasiklin, tigesiklin, fosfomisin ve trimetoprim/sulfametoksazole duyarlı olduğu saptanmıştır. Tavuk eti örneklerinden izole edilen 10 adet dirençli izolattan 6'sında (%60) ÇİD gözlemlenmiştir.

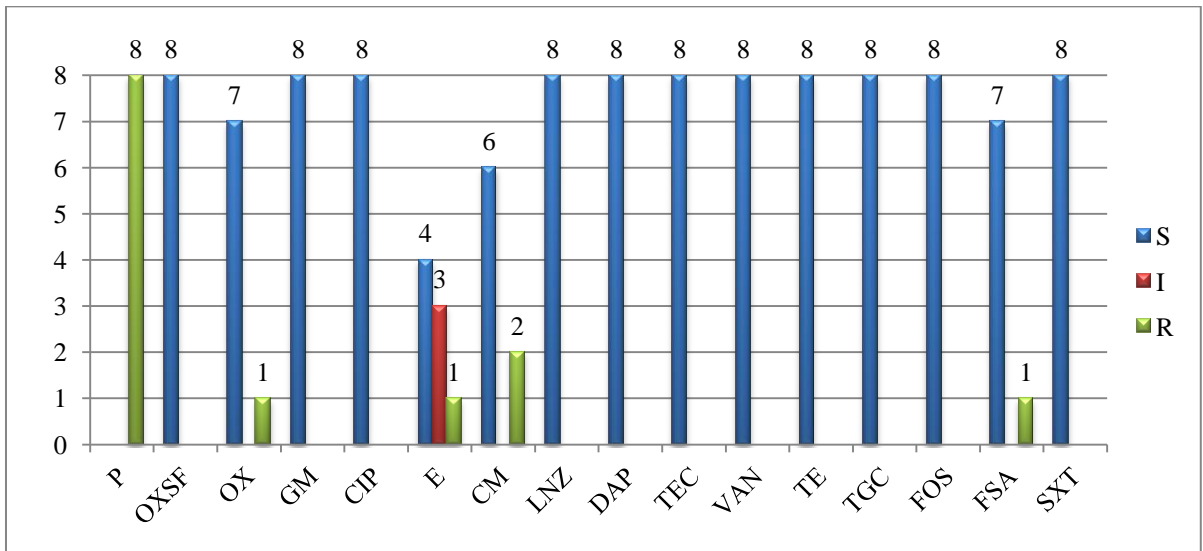


Şekil 5. Tavuk eti örneklerine ait izolatlarda antibiyotik duyarlılıkları

P: Penisilin, OXSF: Sefoksitin, OX: Oksasilin, GM: Gentamisin, CIP: Siprofloksasin, E: Eritromisin, CM: Klindamisin, LNZ: Linezolid, DAP: Daptomisin, TEC: Teikoplanin, VA: Vankomisin, TE: Tetrasiklin, TGC: Tigesiklin, FOS: Fosfomisin, FSA: Fusidik Asit, SXT: Trimetoprim/Sulfametoksazol

4.3.1.4. Sığır karkası örneklerine ait izolatlarda antibiyotik duyarlılıkları

Bu örnek grubundaki 8 adet *S. aureus* izolatının tamamının en az bir antibiyotiğe karşı dirençli olduğu belirlenmiş ve izolatlara ait çeşitli düzeylerde antibiyotik direnci Şekil 6'da belirtilmiştir. İzolatların tamamının penisiline karşı dirençli oldukları tespit edilmiştir. Dirençli izolatlardan da 3'ünde (%37,5) ÇİD saptanmıştır.



Şekil 6. Karkas örneklerine ait izolatlarda antibiyotik duyarlılıkları

P: Penisilin, OXSF: Sefoksitin, OX: Oksasilin, GM: Gentamisin, CIP: Siprofloksasin, E: Eritromisin, CM: Klindamisin, LNZ: Linezolid, DAP: Daptomisin, TEC: Teikoplanin, VA: Vankomisin, TE: Tetrasiklin, TGC: Tigesiklin, FOS: Fosfomisin, FSA: Fusidik Asit, SXT: Trimetoprim/Sulfametoksazol

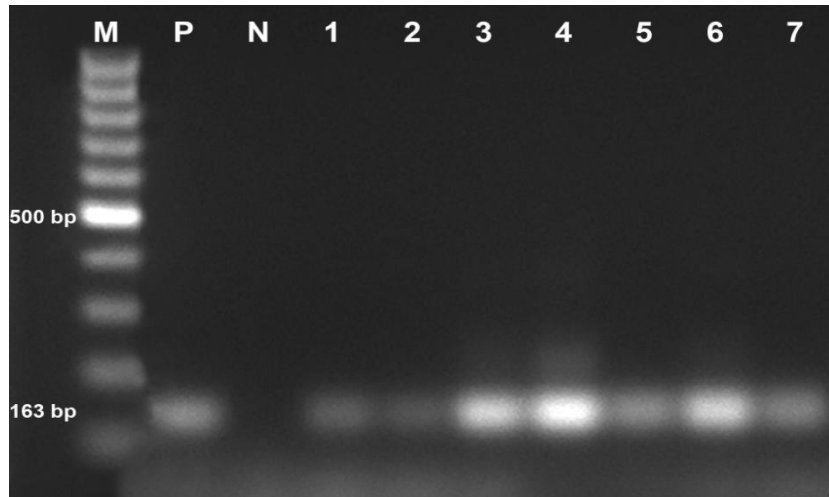
4.3.1.5. Alet-ekipman ve personel örneklerine ait izolatlarda antibiyotik duyarlılıkları

Yapılan analizler sonucunda alet-ekipman kaynaklı 4 adet *S. aureus* izolatından 3'ünün (%75) penisiline dirençli olduğu, penisiline dirençli izolatlardan birinin de aynı zamanda eritromisine orta düzeyde duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Dirençli izolatların incelenen diğer antibiyotiklere duyarlı olduğu belirlenmiştir.

Personel kaynaklı 2 adet *S. aureus* izolatının her ikisinin de sadece penisiline dirençli olup, antibiyogram analizlerinde değerlendirilen diğer antibiyotiklere duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

4.4. *S. aureus* İzolatlarında *mecA* ve *mecC* Genlerinin Varlığının Araştırılması

Çalışma kapsamında elde edilen 92 adet *S. aureus* izolatında sefoksitine ve oksasiline direnç gösteren izolatlar ile birlikte diğer tüm izolatlarda PCR yöntemi ile *mecA* geni varlığı araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda 13 adet izolatta (%14,1) *mecA* geni varlığı tespit edilmiştir. Resim 13'te *mecA* geni tespit edilen örneklerin elektroforez görüntüsü verilmiştir. Elde edilen bulguların örnek gruplarına göre dağılımı değerlendirildiğinde, 49 adet tank sütü örneğine ait izolatlardan 7'sinde (%14,3), 17 adet tulum peyniri örneğine ait izolatlardan 3'ünde (%17,6), 12 adet tavuk örneğine ait izolatlardan 2'sinde (%16,6) ve 8 adet karkas örneklerine ait izolatlardan 1'inde (%12,5) *mecA* geni varlığı belirlenmiştir.



Resim 13. *mecA* geni pozitif örneklerin elektroforez görüntüsü

M: 100 bp'lik Marker, P: Pozitif Kontrol (*S. aureus* ATCC 43300), N: Negatif Kontrol, 1-7: *mecA* geni Pozitif Örnekler

MRSA olarak tespit edilen 13 adet izolattan 9'unun hem sefoksitine, hem de oksasiline fenotipik olarak da dirençli olduğu, izolatlardan 5'inin de aynı zamanda 2 ve 2'den fazla farklı antibiyotik çeşidine direnç gösterdiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte MRSA izolatlarının enterotoksijenik özellikleri değerlendirildiğinde, 6 adet izolatın enterotoksijenik karakterde olduğu belirlenmiştir. MRSA izolatlarının örnek gruplarına göre dağılımları ile sefoksitin ve oksasilin direnci Tablo 37'de belirtilmiştir.

Tablo 37. MRSA izolatlarının sefoksitin ve oksasilin direnci ile örnek gruplarına göre dağılımları

Örnek grubu	İzolat numarası	Sefoksitin direnci	Oksasilin direnci
Tank sütü (n=7)	S12	+	+
	S15	-	-
	S17	+	+
	S19	-	-
	S35	+	+
	S37	+	+
	S38	+	+
Tulum peyniri (n=3)	P9	-	-
	P15	+	+
	P16	+	+
Tavuk eti (n=2)	T3	+	+
	T5	+	+
Karkas (n=1)	K4	-	-
Toplam (n=13)		9	9

Yapılan analizler sonucunda *mecA* geni taşımayan 79 adet izolatta PCR yöntemi ile *mecC* geni varlığı araştırılmış, ancak izolatların hiçbirinde *mecC* geni varlığı tespit edilmemiştir.

5. TARTIŞMA

S. aureus sahip olduğu virulens faktörleri nedeniyle meydana getirdiği çeşitli sistemik enfeksiyon/toksikasyonların yanı sıra, gıdalarda oluşturduğu enterotoksinleri aracılığıyla da intoksikasyonlara neden olduğundan gıda hijyeni ve halk sağlığı açısından ayrı bir öneme sahiptir. Bununla birlikte Dünya’da son yıllarda MRSA prevalansında görülen artışla Stafilocok kaynaklı enfeksiyonların ve antibiyotiklere karşı etkenin direnç gelişiminin artması ile kontrolünün zor olması, gelişen direncin gıdalar vasıtasıyla insanlara aktarılması etkenin halk sağlığı açısından önemini gün geçtikçe artırmaktadır. Dolayısıyla *S. aureus* epidemiyolojisinin ve patogenezinin güvenilir yöntemlerle belirlenmesi ve buna göre önlemler alınması büyük önem arz etmektedir.

Burada rapor edilen tez çalışmasında çeşitli gıda ve gıda ilişkili kaynaklarda bulunan *S.aureus* düzeyi ile etkenin bazı virulens özellikleri ve antibiyotik direnç profilinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda toplamda 1450 adet örnek ilk olarak bakteriyolojik yöntemlerle analize edilmiş ve 106 örneğin çeşitli düzeylerde *S. aureus* ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. Kontaminasyon tespit edilen her örnekten bir izolat PCR tekniği kullanılarak doğrulanmış ve 106 adet örnekten 92’sinin *S. aureus* olduğu belirlenmiştir.

Çalışmada incelenen 850 adet hayvansal kaynaklı gıda numunesinin (450 adet tank sütü, 100 adet tulum peyniri, 100 adet tavuk eti, 200 adet sığır karkası) %10,1’inden *S. aureus* izole edilmiştir. Aydın ve ark (2011a) tarafından yapılan çalışmada, Marmara Bölgesi’nde tüketime sunulan 115 adet et (dana eti, koyun eti, tavuk ve hindi eti), 15 adet et ürünü (sucuk, salam, sosis), 303 adet çiğ süt, 452 adet süt ürünü (peynir, tereyağı, yoğurt ve kaymak), 141 adet unlu mamul (makarna, yufka, pasta) ve 44 adet de tüketime hazır gıda (helva, salata, yemek) numunesi olmak üzere toplam 1070 adet gıda örneği incelenmiş ve örneklerin %13,8’inin *S. aureus* ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. Can ve ark (2017) 2014-2015 yılları arasında 160 adet hayvansal kaynaklı gıda numunesinin (50 adet çiğ süt, 50 adet peynir, 30 adet sığır kıyması, 30 adet tavuk eti) 20’sinden (%12,5) *S. aureus* izole etmiştir. Diğer bir çalışmada 2004-2006 yılları arasında Eskişehir ve Kütahya’dan toplanan 413 adet çeşitli süt ve süt ürünü ile et ve et ürünü *S. aureus* varlığı bakımından araştırılmış ve örneklerin %33,4’ünün kontamine olduğu bildirilmiştir (Güven ve ark, 2010). Koluman ve ark (2011) tarafından gıdalardaki *S. aureus* prevalansını belirlemek amacıyla yapılan çalışmada 300 adet hayvansal kaynaklı gıda örneği (dana eti, tavuk eti, hindi eti, dana kıyma, beyaz peynir, çedar peyniri, krem peynir, pastörize süt) incelenmiş, örneklerin, krem peynir hariç, %40,72’sinin çeşitli düzeylerde *S. aureus* ile kontamine olduğu belirlenmiştir.

İtalya'da *S. aureus* kontaminasyonunu saptamak amacıyla et ve süt ürünlerinden oluşan toplam 1634 gıda örneği incelenmiş, örneklerin %12,8'inin söz konusu etken ile kontamine olduğu bildirilmiştir (Normanno ve ark, 2007a). Başka bir çalışmada ise, *S. aureus* prevalansını belirlemek amacıyla et, taze peynir, unlu mamüller ve şarküteri ürünlerinden oluşan toplam 350 adet örnek incelenmiş, örneklerin %14'ünde çeşitli düzeylerde *S. aureus* bulunmuştur (Di Giannatale ve ark, 2011). Crago ve ark (2012) 2007-2010 yılları arasında Kanada'da yapmış oldukları araştırmada 693 adet gıda numunesinin 73'ünden (%10,5) *S. aureus* izole etmiştir. Castro ve ark (2017) ise çeşitli gıdalardan oluşan 1454 adet örneğin 73'ünün (%5,02) *S. aureus* ile kontamine olduğunu tespit etmiştir.

Burada rapor edilen çalışmanın bulguları Aydın ve ark (2011a), Can ve ark (2017), Normanno ve ark (2007a), Crago ve ark (2012) tarafından yapılan araştırmaların bulguları ile benzerlik göstermiştir. Ancak Güven ve ark (2010), Koluman ve ark (2011), Di Giannatale ve ark (2011) ile Castro ve ark 'nın (2017) bulgularının çalışmanın bulgularından farklı olduğu belirlenmiştir. Bu farklılıkların; incelenen örneklerin hijyenik kalitesinden, bölgesel farklılıklardan, örnek niteliği ve sayısı ile uygulanan analiz metodları gibi nedenlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çalışma ürün çeşitlerine göre incelendiğinde, 450 tank sütü örneğinden 49'unun (%10,8) minimum 2,00 log kob/ml, maksimum 4,17 log kob/ml ve ortalama 3,01 log kob/ml düzeyinde *S. aureus* ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. *S. aureus* ile kontamine örneklerden 21 adedinin (%42,8) TGK Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde (2011) belirtilen sınırı geçtiği belirlenmiştir. Kayseri'de tüketime sunulan 100 adet çiğ süt örneğinden elde edilen 300 izolatın %14'ünün *S. aureus* olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Ertaş ve Gönülalan, 2010). Nassasra (2011) tarafından yapılan araştırmada ise İstanbul ve çevresinde bulunan 6 farklı çiftlikten bir yıl boyunca farklı dönemlerde toplanan 406 adet süt numunesinin %29,3'ünün *S. aureus* ile kontamine olduğu saptanmıştır. Gündoğan ve Avcı (2014) incelemiş oldukları 50 adet çiğ süt örneğinden 28'inin 4,32-4,49 log kob/ml düzeyinde *S. aureus* ile kontaminasyonunu, kontamine örneklerin tamamının da TGK tarafından belirlenen sınırın üstünde olduğunu tespit etmiştir. Macaristan'da 20 çiftlikten elde edilen tank sütleri incelenmiş, 14 çiftlikte *S. aureus* kontaminasyonuna rastlanılmış ve kontaminasyon düzeyinin ortalama 6×10^3 kob/ml düzeyinde olduğu belirlenmiştir (Peles ve ark, 2007). Fagundes ve ark (2010) Brezilya'da 208 adedi subklinik mastitisli ineklerden elde edilen ve 37 adedi de tanktan alınan toplam 245 adet süt örneğini *S. aureus* açısından analiz etmiştir. Analiz sonucunda mastitisli ineklerden alınan süt örneklerinin %6,7'sinden, tank sütü örneklerinin ise %10,8'inden, genel olarak

değerlendirildiğinde de 245 süt örneğinin %7,3'ünden *S. aureus* izole edilmiştir. De Oliveira ve ark (2011) incelemiş oldukları 50 çiğ süt örneğinin 34'ünde 2,79-5,44 log kob/ml düzeyinde *S. aureus* kontaminasyonu belirlemiştir. Bianchi ve ark (2014) tarafından yapılan bir araştırmada 848 adet süt örneği incelenmiş ve örneklerin %40'ının *S. aureus* ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. İtalya'nın kuzeyinde yapılan bir araştırmada toplanılan 383 çiğ süt örneği (282 adet tank sütü ve 101 adet de süt otomatlarından) *S. aureus* yönünden incelenmiş, tank sütü örneklerinin %10,6'sının, otomatlardan alınan örneklerin %4,9'unun, genel olarak da incelenen tüm örneklerin %9,1'inin *S. aureus* ile kontamine olduğu bildirilmiştir (Riva ark, 2015).

Burada rapor edilen tez çalışmasının bulguları Peles ve ark (2007), Fagundes ve ark (2010), Riva ve ark (2015) tarafından elde edilen bulgular ile kısmen benzerlik göstermiştir. Bununla birlikte, çalışmadaki izolasyon oranının Ertaş ve Gönülalan (2010), Nassasra (2011), Gündoğan ve Avcı (2014), De Oliveira ve ark (2011), Bianchi ve ark (2014) tarafından elde edilen izolasyon oranlarından daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Çalışmalar arasındaki farklılıklarda örneklerin toplandığı çiftliklerin, örneklerin sayısının, mevsimsel ve bölgeler arası farklılıkların, kullanılan analiz metodlarının, sütte bulunan mikrofloranın yarışmacı etkisi ile yine sütün kendine ait inhibitörük maddelerinin de etkili olabileceği kanısına varılmıştır. Ayrıca, çiğ süt diğer birçok mikroorganizma için olduğu gibi *S. aureus* için de uygun bir ortam olarak kabul edilmektedir. *S. aureus* mastitis olgularının yaklaşık %30-40'ından sorumlu tutulmaktadır. Etken süte enfekte memeden geçebileceği gibi sağımda kullanılan ekipmandan, sağım personelinden, ortam şartlarından ve depolama sırasında tanktan da bulaşabilmektedir. Bununla birlikte subklinik mastitli hayvanların sütleri ile sağlıklı hayvanların sütlerinin aynı tankta bulunması da ayrı bir risk teşkil etmektedir (Jorgensen ve ark, 2005a; Peles ve ark, 2007; Fagundes ve ark, 2010, Seo ve Bohach, 2013).

Çalışma kapsamında incelenen 100 adet tulum peyniri örneğinin 17'sinin (%17) minimum 2,3 log kob/g, maksimum 3,77 log kob/g ve ortalama 3,08 log kob/g düzeyinde *S. aureus* ile kontamine olduğu, kontamine örneklerin tamamının TGK Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde belirtilen sınırı geçtiği belirlenmiştir. Can ve Çelik (2012) Ankara'da tüketime sunulan 200 adet peynir örneğini (100 adet beyaz peynir, 100 adet tulum peyniri) *S. aureus* kontaminasyonu açısından incelemiştir. Beyaz peynir örneklerinin %5'inin ortalama 3,98 log kob/g, tulum peyniri örneklerinin %7'sinin ortalama 4,55 log kob/g, genel olarak tüm peynir örneklerinin %6'sının ortalama 4,31 log kob/g düzeyinde *S. aureus* ile kontamine oldukları tespit edilmiştir. İstanbul'da tüketime sunulan farklı çeşitlerdeki 150 adet peynir örneğinin (25 beyaz peynir, 25 tulum peyniri, 25 mihaliç peyniri, 25 hellim peyniri, 25 örgü

peyniri ve 25 civil peyniri) 40'ının (%26,66) çeşitli düzeylerde *S. aureus* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada incelenen tulum peyniri örneklerinin %32'sinde ortalama 4,25 log kob/g düzeyinde *S. aureus* kontaminasyonu tespit edilmiştir (Bingöl ve ark, 2012). Özpınar ve Gümüşsoy (2013) incelemiş oldukları 100 adet Erzincan tulum peyniri örneğinin 61'inin *S. aureus* pozitif olduğunu bildirmişlerdir. Ektik (2015) Balıkesir'de bulunan açık semt pazarlarından ve çeşitli marketlerden toplanan 40 beyaz peynir, 10 kaşar peyniri, 15 tulum peyniri, 12 mihaliç peyniri, 10 sepet peyniri ve 13 lor peyniri olmak üzere toplam 100 adet peynir örneğini incelemiş, beyaz peynir, tulum peyniri ve sepet peyniri örneklerinden 1'er örnekte *S. aureus* izole etmiştir. Elazığ'da tüketime sunulan 100 adet Şavak tulum peyniri örneğinin %18'inde *S. aureus* kontaminasyonu belirlenmiş, kontaminasyon düzeyinin ortalama 1,42 log kob/g olduğu bildirilmiştir (Demir ve ark, 2018). Normanno ve ark (2005) İtalya'da yaptıkları araştırmada, arasında peynir örneklerinin de yer aldığı toplam 3097 adet süt ve süt ürününü *S. aureus* varlığı yönünden analiz etmiştir. Analiz sonucunda çiğ süt örneklerinin %38,4'ünün, peynir örneklerinin %23,7'sinin, genel değerlendirildiğinde ise tüm örneklerin %20,7'sinin koagulaz pozitif Stafilokoklarla kontamine olduğu, koagulaz pozitif Stafilokok olarak belirlenen izolatların da %56,47'sinin *S. aureus* olduğu tespit edilmiştir. Japonya'da 2002-2004 yılları arasında incelenen 185 adet yarı sert ve sert peynir örneklerinin 19'unda (%10,27) çeşitli düzeylerde *S. aureus* kontaminasyonu belirlenmiştir (Ikeda ve ark, 2006). Saadat ve ark (2014) incelemiş oldukları 100 peynir numunesinin 45'inin 10^2 - 10^6 kob/g arasında değişen düzeylerde *S. aureus* ile kontamine olduğunu bildirilmiştir. Carfora ve ark (2015) arasında 105 adet de peynir örneği bulunan toplam 565 adet süt ve süt ürününün 54'ünden (%9,6), peynir örneklerinin ise 21'inden (%20) *S. aureus* izole etmiştir.

Çalışmada elde edilen *S. aureus* oranı Demir ve ark (2018) ile Carfora ve ark (2015) tarafından tespit edilen oranlarla kısmen benzerlik göstermiştir. Ancak çalışmada belirlenen *S. aureus* kontaminasyon oranının Can ve Çelik (2012), Ektik (2015), Normanno ve ark (2005) ile Ikeda ve ark (2006) tarafından elde edilen oranlardan yüksek, Bingöl ve ark (2012), Özpınar ve Gümüşsoy (2013) ile Saadat ve ark (2014) tarafından bulunan oranlardan daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Çalışmalar arasındaki farklılıkların peynir üretiminde kullanılan sütün çiğ ya da pastörize olmasından, üretim tekniklerinin farklı olmasından, muhafaza koşullarından, üretimden tüketime kadar olan süreçteki hijyen yetersizliğinden, örneklerin farklı bölgelerden ve kaynaklardan sağlanması ile incelenen örnek sayısından kaynaklandığı düşünülmektedir. Tulum peyniri yarı sert bir peynir olup olgunlaştırılmış peynirler grubunda yer almaktadır. Ülkemizde Orta Anadolu, Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde kuru tulum peyniri (Erzincan tulum peyniri), Ege Bölgesinde ise salamuralı

tulum peyniri (İzmir tulum peyniri) üretilmektedir. Salamuralı tulum peyniri yapımında koyun, keçi ve inek sütü karışımı 70°C'de 15 saniye ısıtıldıktan sonra, mayalanma sıcaklığına soğutulup mayalanmaktadır. Bazı işletmelerde süte yoğurt starter kültürü ilave edildikten sonra mayalama işlemi gerçekleştirilmektedir. Oluşan pıhtı parçalanıp cendere bezine aktarılmakta ve cendere bezindeki pıhtı baskıya alınmaktadır. Sinerezisin tamamlanmasının ardından teleme kalıplar halinde kesilip, kuru tuzlama işlemine tabi tutulmaktadır. Kesilen kalıplar yaklaşık 1-3 gün bekletilmektedir. Süre sonunda kalıplar tenekeye aktarılıp, üzerine %12'lik salamura ilave edilerek yaklaşık 4 ay olgunlaşmaya bırakılmaktadır (Tekinşen, 2000; Üçüncü, 2004). Tulum peynirinde *S. aureus* izole edilmesinin üretimde kullanılan süte yeterli pastörizasyon uygulanmaması, pastörizasyon sonrası kontaminasyon şekillenmesi, starter kültürün aktivitesinin normalin altında olması ya da starter kültür kullanılmaması, peynirin hijyenik olmayan şartlarda üretilmesi ve olgunlaşma aşaması bitmeden erken tüketime sunulması gibi nedenlere bağlı olabileceği bildirilmiştir (Çakır, 2011; Ektik, 2015; Kızanlık ve Göksoy, 2018). Yapılan çalışmalar *S. aureus* düzeyinin peynirin olgunlaşma periyodu boyunca starter kültür aktivitesi, pH ve muhafaza gibi faktörlere bağlı olarak azaldığını göstermiştir. Starter kültürlerin aktivitesi sonucu laktik asit miktarı artmakta dolayısıyla pH değeri düşmektedir. Ayrıca *S. aureus*'un yarışmacı özelliği zayıf olduğundan ortamdaki besin elementlerinden yeteri kadar faydalanamamakta ve starter kültürlerin üretmiş olduğu nisin başta olmak üzere bakteriyosinler *S. aureus*'u baskılayabilmektedir. Bununla birlikte etken rekabet halindeyken enterotoksin üretiminin azaldığı, enterotoksin sentezinin optimum seviyeye ulaşması için yarışmacı etkinin ortadan kalkması gerektiği bildirilmiştir (Küçükçetin ve Milci, 2008; Paulin ve ark, 2011).

Çalışmada 40 adet kanat eti, 30 adet göğüs eti ve 30 adet de but eti olmak üzere toplam 100 adet tavuk eti örneği incelenmiştir. Kanat eti örneklerinden 4'ünün (%10) ortalama 2,92 log kob/g, göğüs eti örneklerinden 2'sinde (%6,6) ortalama 2,92 log kob/g, but eti örneklerinden ise 6'sının (%20) ortalama 2,85 log kob/g düzeyinde *S. aureus* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Tavuk eti örnekleri genel olarak değerlendirildiğinde örneklerin %12'sinin ortalama 2,89 log kob/g düzeyinde kontamine olduğu, bu örneklerden de 3 adedinin TGK Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde (2011) belirtilen sınırı geçtiği tespit edilmiştir. Gündoğan ve Ataol (2012) Ankara'da tüketime sunulan 15 adet tavuk but örneğini Stafilocok yönünden incelemiş, but örneklerinden 41 izolat elde etmiş, izolatların hepsinin koagulaz negatif Stafilocok olduğunu belirlemiştir. Yurdakul ve ark (2013) tarafından yapılan bir araştırmada Adana'da satışa sunulan 50 adet tavuk eti örneğinin %13,3'ünde *S. aureus* kontaminasyonu tespit edilmiştir. Tokat'ta tüketime sunulan 25 adet

tavuk göğüs eti örneğinin %64'ünde ortalama 4,40 log kob/g, 25 adet but eti örneğinin %60'ında 4,41 log kob/g düzeyinde *S. aureus* bulunduğu bildirilmiştir (Yıldırım ve ark, 2015). Özdemir ve Keyvan (2016) 225 adet et örneğinde (75 sığır eti, 75 koyun eti, 75 tavuk eti) *S. aureus* varlığını araştırmıştır. Araştırma sonucunda sığır eti örneklerinin %14,6'sından, koyun eti örneklerinin %30,6'sından, tavuk eti örneklerinin ise %45,3'ünden *S. aureus* izole etmişlerdir. Şahin ve ark (2017) 100 bütün tavuk, 100 kanat eti, 100 göğüs eti ve 100 de but eti olmak üzere toplam 400 adet tavuk eti örneğini incelemiştir. Yapılan analizler sonucunda bütün tavuk örneklerinin 96'sının ortalama 3,44 log kob/g, kanat eti örneklerinin 91'inin ortalama 3,11 log kob/g, göğüs eti örneklerinin 56'sının ortalama 1,53 log kob/g, but eti örneklerinin ise 78'inin ortalama 2,67 log kob/g düzeyinde *S. aureus* ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. Hanson ve ark (2011) tarafından yapılan bir araştırmada farklı hayvanlara ait toplam 165 et örneği (45 tavuk butu ve göğsü, 29 sığır kıyması ve eti, 55 domuz kıyması ve eti) *S. aureus* yönünden analiz edilmiştir. Analiz sonucunda tavuk eti örneklerinin %17,8'inin, incelenen örneklerin tamamı değerlendirildiğinde ise örneklerin %16,4'ünün *S. aureus* pozitif olduğu bulunmuştur. Akbar ve Anal (2013) incelemiş oldukları 209 adet tavuk eti örneğininin %18,18'inde *S. aureus* tespit etmişlerdir. Oklahoma'da yapılan diğer bir araştırmada ise, 114 adet tavuk eti örneğinden 48'inin (%42,1) *S. aureus* ile kontamine olduğu belirlenmiştir (Abdalrahman ve ark, 2015). Sallam ve ark (2015) farklı çeşitlerdeki 200 adet tavuk eti ve sakatat örneğinin (50 karkas, 50 but, 50 kursak, 50 ciğer) tamamında ortalama 3,17 log kob/g düzeyinde *S. aureus* kontaminasyonu olduğunu belirlemiştir. Araştırmacılar çalışma kapsamında incelenen but örneklerinin etken ile ortalama 2,89 log kob/g düzeyinde kontamine olduğunu tespit etmişlerdir. Danimarka'da 2014-2015 yılları arasında incelenen farklı hayvanlara ait 145 et örneğinin (23 hindi eti, 20 domuz eti, 102 tavuk eti) %68'inden *S. aureus* izole edilmiştir. Aynı çalışmada tavuk eti örneklerinin %75'inde, domuz eti örneklerinin %60'ında ve hindi eti örneklerinin %52'sinde *S. aureus* kontaminasyonu belirlenmiştir (Tang ve ark, 2017).

Çalışma kapsamında incelenen tavuk eti örneklerine ait bulgular Yurdakul ve ark (2013), Hanson ve ark (2011) ile Akbar ve Anal (2013) tarafından elde edilen bulgularla benzerlik göstermiştir. Bununla birlikte çalışmada but etlerinde tespit edilen *S. aureus* oranı Şahin ve ark (2017) ile Sallam ve ark (2015) tarafından belirlenen oran ile paralel olmamasına rağmen, kontaminasyon düzeyi benzer bulunmuştur. Ancak çalışmada belirlenen *S. aureus* kontaminasyon oranının Gündoğan ve Ataol (2012) tarafından elde edilen orandan yüksek, Yıldırım ve ark (2015), Özdemir ve Keyvan (2016), Abdalrahman ve ark (2015) ile Tang ve ark (2017) tarafından bulunan oranlardan daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Çalışmalar

arasındaki farklılıkların kesimhane prosesinden, kesimhane hijyeninden (personel, alet-ekipman), depolama ve satış şartlarından, incelenen örneklerin farklılığından, örneklerin derili ya da derisiz olmasından, raf ömürleri arasındaki farklılıklardan, örnek sayısı ile kullanılan analiz metodlarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Tavuk etinin protein oranının yüksek, yağ miktarının düşük ve kısa lifli olmasından dolayı sindirimi kolaydır. Tavuk eti kırmızı ete nazaran daha ekonomik olması ve kolay pişmesi nedeniyle oldukça fazla tüketilmektedir. Ancak tavuk eti üretiminde kontaminasyonu kontrol etmek oldukça güçtür. Bu durumdan birim zamanda çok sayıda kesim yapılması, kesim hattında birden fazla kontaminasyon noktasının bulunması (tüy ıslatma, tüy yolma, iç organ çıkartımı, soğutma), kesim hattındaki işlemler sonucu deride su tutulması ve deride oluşan çatlaklar ile tüy foliküllerinden bakteri girişinin engellenememesi gibi nedenler sorumlu tutulmaktadır. Ek olarak kesim sonrası soğutma, parçalama, ambalajlama ve muhafaza koşulları ile birlikte kesim hattında kullanılan su, alet-ekipman ve çalışan personel de kontaminasyonda rol oynamaktadır. Bununla birlikte tavuk etinin a_w (0,98-0,99) ve pH değeri de patojenlerin gelişimi için oldukça uygundur. Kanatlılarda karkasın bölümleri arasında pH değeri farklılık göstermektedir. Örneğin pH değeri göğüs etinde 5,7-5,9 arasında, but etinde ise 6,4-6,7 arasında değişmektedir. Bu da farklı kısımlarda bakteri yükünün değişken olabileceğini işaret etmektedir (Göksoy ve ark, 2004; ICMSF, 2005; Akbar ve Anal, 2013; Yıldırım ve ark, 2015).

Çalışmada kesim prosesleri tamamlandıktan sonra rastgele seçilen 100 adet sığır karkasından alınan örneklerin 6 adedinde (%6) ortalama $1,49 \log \text{ kob/cm}^2$ düzeyinde *S. aureus* saptanmıştır. Yılmaz ve Gümüş (2008) tarafından yapılan bir araştırmada 150 adet sığır karkası incelenmiş, karkasların %30'unun 10^2 - 10^4 kob/cm^2 arasında değişen düzeylerde *S. aureus* ile kontamine olduğu bildirilmiştir. Keyvan ve Özdemir (2016) incelemiş oldukları 120 adet sığır karkasının 15'inde (%12,5) *S. aureus* izole etmiştir. Schlegelova ve ark (2004) 35 adet sığır karkasının boyun ve kaudal bölgelerinden olmak üzere toplam 67 adet svap örneği ile yine aynı bölgelerden eksizyon yöntemiyle alınan toplam 70 adet et örneğini *S. aureus* kontaminasyonu açısından değerlendirmiştir. Yapılan analizler sonucunda svap örneklerinin 5'inde (%7,5), eksizyon yöntemiyle alınan et örneklerinin de 17'sinde (%24,3) *S. aureus* belirlenmiştir. Lim ve ark (2010) 2003-2008 yılları arasında mezbaha ve perakende satış noktalarındaki sığır etlerinden almış oldukları 890 adet svap örneğinin 86'sından (%9,7) *S. aureus* izole etmiştir. Tanih ve ark (2015) incelemiş oldukları 84 adet sığır karkasının 30'unda (%35,7) *S. aureus* kontaminasyonu tespit etmiştir. Kore'de yapılan bir çalışmada ise 30 sığır mezbahasından alınan 3396 adet karkas örneği *S. aureus* kontaminasyonu açısından

değerlendirilmiş, örneklerden 175'inin (%5,2) *S. aureus* ile kontamine olduğu belirlenmiştir (Moon ve ark, 2015). Pekana ve Green (2018) ise sığır karkaslarından almış oldukları 500 adet svap örneğinin 102'sinden (%20,4) *S. aureus* izole ettiklerini bildirmiştir.

Çalışmada incelenen karkas örneklerine ait *S. aureus* oranı Schlegelova ve ark (2004), Lim ve ark (2010) ile Moon ve ark (2015) tarafından tespit edilen oranlarla benzerlik göstermiştir. Bununla birlikte Schlegelova ve ark (2004) tarafından yapılan araştırmada eksizyon yöntemi ile alınan örneklerden elde edilen oranın çalışmada belirlenen orandan daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca çalışmadaki *S. aureus* kontaminasyon oranının Yılmaz ve Gümüş (2008), Keyvan ve Özdemir (2016), Tanih ve ark (2015) ile Pekana ve Green (2018) tarafından elde edilen oranlardan daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Çalışmalar arasındaki farklılıklarda kesime gelen hayvanların derilerinin temizlik durumunun, mezbahalardaki hijyenik koşulların, kesim tekniklerinin, mezbahalardaki kesim kapasitlerinin, kesim hattında kullanılan alet-ekipmanlar ile çalışan personelden kaynaklanan kontaminasyon riskinin, örnek sayısının ve örnekleme tekniklerinin etkili olabileceği kanısına varılmıştır. *S. aureus* hem insanların hem de hayvanların deri ve mukozalarında normal flora üyesi olarak bulunduğundan, diğer gıdalarda olduğu gibi karkaslardan da sıklıkla izole edilmektedir. Sağlıklı hayvanların derilerinin altındaki dokunun kesim anına kadar steril olduğu, ancak kesimin başlaması ile kontaminasyonun da başladığı kabul edilmektedir. Kontaminasyon hayvan kaynaklı ise etken deriden karkaslara, çalışanların ellerine, ekipman yüzeylerine ve diğer karkas yüzeylerine geçiş yaparak yayılmaktadır. Mezbaha prosesindeki deri yüzümü, eviserasyon, karkasın bölünmesi, trimleme işlemi, karkasın yıkanması basamakları ile karkasın kesim hattındaki geçirdiği süre ve ortam sıcaklığının da kontaminasyon düzeyinde etkili olduğu bilinmektedir (Podpecan ve ark, 2007; Yılmaz ve Gümüş 2008).

Çalışma kapsamında incelenen 10 mezbaha prosesinde rastgele seçilen 100 karkasın deri yüzülmesi işleminden hemen sonra sağ yarımından ve proses tamamlandıktan sonra ise sol yarımından sünger svaplar yardımıyla örnekler alınmıştır. Deri yüzülmesinden sonra alınan 100 karkas örneğinin 2 adedinde ortalama $0,66 \log \text{ kob/cm}^2$, proses tamamlandıktan sonra alınan karkas örneklerinin ise 6 adedinde ortalama $1,49 \log \text{ kob/cm}^2$ düzeyinde *S. aureus* saptanmıştır. Çalışmada proses sonunda daha fazla sayıda karkasın kontamine olduğu tespit edilse de, kontaminasyon belirlenen örneklerin deri yüzümünden sonra kontamine olduğu saptanan karkaslardan farklı karkaslara ait olduğu görülmüştür. Erzurum'da bir et kombinasında petrifilm yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada 36 sığırın derisinden kol ve but bölgelerinden olmak suretiyle 72 örnek, karkastan ise deri yüzüldükten sonra 72 örnek, eviserasyon sonrası da 72 örnek olmak üzere toplam 216 örnek analiz edilmiştir. Yapılan

analizler sonucu deriden alınan örneklerin tamamında ortalama 3,88 log kob/cm², deri yüzüldükten sonra alınan örneklerin 53'ünde (%73,6) ortalama 2,61 log kob/cm² ve eviserasyon sonrası alınan örneklerin 62'sinde (%86,1) ortalama 2,71 log kob/cm² düzeyinde *S. aureus* kontaminasyonu tespit edilmiştir (Atasever, 2006). Bhandare ve ark (2007) 36 adet koyun ve keçi karkasından deri yüzümünden sonra ve kesim prosesi sonunda olmak üzere iki kez numune almıştır. Deri yüzümünden sonra alınan örneklerden 5'inin (%13,8) ortalama 3,09 log kob/cm², proses sonunda alınan örneklerden de 5'inin (%13,8) ortalama 3,11 log kob/cm² düzeyinde *S. aureus* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Niyonzima ve ark (2013) yaptıkları çalışmada sığır karkaslarının mezbaha prosesinden kasaplarda satışa sunulması aşamasına kadar geçen süreçte *S. aureus* ile kontaminasyonunu değerlendirmiştir. Bu amaçla 24 adet karkastan deri yüzümünden sonra 6 adet, kesim prosesinden sonra 6 adet, karkasların transportundan sonra 6 adet ve en son kasaplarda satış aşamasında 6 adet olmak üzere toplam 24 adet örnek alınmış, ancak alınan örneklerin hiçbirinde *S. aureus* tespit edilmemiştir. Bakhtiary ve ark (2016) ise 8 adet sığır karkasından deri yüzümünden, eviserasyondan, trimlemeden ve proses tamamlandıktan sonra olmak üzere 4 kez örnek almışlardır. Yapılan analizler sonucunda trimleme işlemi sonrası alınan örneklerin %3'ünde *S. aureus* izole edilirken, diğer aşamalarda alınan örneklerde söz konusu etkene rastlanılmamıştır.

Çalışmada elde edilen *S. aureus* oranının Atasever (2006) ile Bhandare ve ark (2007) tarafından tespit edilen oranlardan düşük, Niyonzima ve ark (2013) ile Bakhtiary ve ark (2016) tarafından elde edilen oranlardan ise yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çalışmalar arasındaki farklılıkların kesimi yapılan hayvanların derilerinin kirliliklerinden, mezbahalardaki hijyenik koşullardan, kesim prosesinde kullanılan alet-ekipmanlar ile çalışan personellerden, mezbahaların kapasitelerinden, örneklerin kesim hattındaki farklı noktalardan (eviserasyon, trimleme vb.) alınmasından, örnek alma sırasında kullanılan yöntemlerden ve örnek sayısından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yukarıda belirtilen çalışmalar karkasın *S. aureus* ile kontaminasyon düzeyinin kesim hattındaki işlemler ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Kontaminasyon düzeyi hayvanının temizlik durumuna bağlı olarak derinin yüzülmesi basamağında yükselmeye başlamakta, kesim hattı boyunca karkasa uygulanan işlemlere bağlı olarak yükselmeye devam etmektedir. Bununla birlikte deri yüzülmesinden sonra kesim prosesindeki en çok kontaminasyon artışının görüldüğü bir diğer aşama ise eviserasyon işlemidir. Yapılan araştırmalarda karkasların yüzeysel kontaminasyonunda özellikle eviserasyon basamağından sonra artış olduğu, bu artışın da hayvanların kesime tok getirilmesinden, hayvanların dinlendirilmeden kesilmesinden, eviserasyon sırasında sindirim sistemi organlarının yırtılmasından ve hijyen eksikliğinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir.

Karkasın ikiye ayrılma ve trimleme basamağında da kullanılan alet-ekipman ile çalışan personel kaynaklı çapraz kontaminasyon şekillenebilmektedir (Popdecan ve ark, 2007; Niyonzima ve ark, 2013).

Çalışmada mezbahadaki kesim proses zamanı göz önünde bulundurularak 10 prosesin başında, ortasında ve sonunda olmak suretiyle 3 ayrı periyotta, her bir periyotta bıçak, masat ve önlüklerden 50'şer adet olmak üzere alınan toplam 450 adet svap örneği incelenmiştir. Herhangi bir işleme başlamadan proses başında alınan örneklerin hiçbirinden *S. aureus* izole edilmemiştir. Proses ortasında alınan önlük örneklerinden 1'inde 0,58 log kob/cm² düzeyinde, prosesin sonunda ise bıçak, masat ve önlük örneklerinden her birinden birer adet olmak üzere sırasıyla 0,81 log kob/cm², 0,63 log kob/cm² ve 0,58 log kob/cm² düzeyinde *S. aureus* kontaminasyonu tespit edilmiştir. Bulgular değerlendirildiğinde de kontaminasyon belirlenen örneklerin farklı proseslere ait olduğu görülmüştür. Erdoğrul (2005) yapmış olduğu araştırmada Kahramanmaraş'ta et satışı yapan süpermarket, yerel market ve kasaplarda kullanılan 255 adet bıçak ve 278 adet önlük örneğini incelemiş, analizler sonucu bıçak örneklerinden 5'inin (%1,9), önlük örneklerinin ise 9'unun (%3,4) *S. aureus* ile kontamine olduğunu belirlemiştir. Atasever (2006) bir et kombinasında işletme hijyenini belirlemek amacıyla yaptığı çalışmada 12 farklı zamanda üretim hattında kullanılan 3 farklı personele ait bıçaklardan ve önlüklerden 36'şar adet, omurga testeresinden ise 12 adet olmak üzere toplam 84 adet örnek almıştır. Çalışmada incelenen bıçak örneklerinden 9'unda ortalama 1,36 log kob/cm², önlük örneklerinden 24'ünde ortalama 2,11 log kob/cm², omurga testeresi örneklerinden ise 2'sinde ortalama 1,27 log kob/cm² düzeyinde *S. aureus* kontaminasyonu tespit edilmiştir. Podpecan ve ark (2007) kesim hattında kullanılan alet-ekipmanların hijyenik durumlarını belirlemek amacıyla 40 adet alet-ekipmanın yüzeyinden kesim başlamadan ve kesim sonunda olmak üzere 2 kez svap örneği almıştır. Yapılan analizler sonucunda kesim başlamadan alınan svap örneklerinin 2'sinden (%5), kesim sonunda alınan örneklerin de 19'undan (%46,3) *S. aureus* izole edilmiştir. Gowda ve ark (2017) 4 farklı sığır mezbahasında kesim prosesi boyunca kullanılan bıçaklardan alınan toplam 109 adet svap örneğini incelemiş, örneklerin 56'sının (%51,3) *S. aureus* ile kontamine olduğunu belirlemiştir. Hassan ve ark (2018) bir mezbahada sığır kesim hattında kullanılan 10 adet bıçak, 10 adet kanca, 10 adet balta ve 10 adet kasap önlüğünden aldıkları svap örneklerini *S. aureus* kontaminasyonu açısından değerlendirmiştir. Araştırmada bıçak örneklerinin 5'inden, kanca örneklerinin 6'sından, balta örneklerinin 5'inden ve önlük örneklerinin ise 4'ünden *S. aureus* izole edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen alet-ekipmanlara ait *S. aureus* oranının Erdoğrul (2005), Atasever (2006), Podpecan ve ark (2007), Bakhtary ve ark (2016), Gowda ve ark (2017) ile

Hassan ve ark (2018) tarafından bulunan oranlardan düşük olduğu tespit edilmiştir. Araştırmalar arasında şekillenen bu farklılığın mezbalarda uygulanan hijyen protokollerinden, kesim kapasitesinden, alet-ekipmanı kullanan personelden, personelin alet-ekipmanları kullanım alışkanlıklarından ve kullanım şekillerinden, kesime gelen hayvanların derilerinin kirlilik durumundan, kesim prosesindeki örnekleme zamanından, örnek sayısından ve uygulanan analiz metodları gibi nedenlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Burada rapor edilen çalışmada proses sonundaki kontaminasyon oranının proses başlangıcında belirlenen kontaminasyon oranından daha yüksek olması Podpecan ve ark (2007) tarafından yapılan araştırmanın sonuçları ile örtüşmektedir. Araştırmanın yapıldığı mezbahanın hijyen politikaları gereği kasaplar kesim başlamadan bir gün önce bıçak ve masatlarını dezenfekte etmekte ve kesim hattı boyunca her karkastan sonra bıçaklarını suyla yıkanmaktaydı. Çapraz kontaminasyonu en aza indirmek için yapılan bu uygulamalara rağmen, elde edilen sonuçlar kontaminasyonun proses boyunca artabileceğini göstermiştir. Daha önce de belirtildiği üzere kesim anına kadar sağlıklı hayvanların derilerinin altına steril olduğu kabul edilmektedir. Kontaminasyon kesim süreci süresince şekillenen ve kaçınılmayacak olan bir olgudur. Karkasların mikrobiyel kontaminasyonu başta hayvanların derileri, tırnakları ve bağırsakları ile ilişkili olmak üzere, kullanılan alet-ekipmanlardan da kaynaklanmaktadır. Mezbahada kullanılan alet-ekipmanların, özellikle de bıçaklar ile kasap önlüklerinin *S. aureus*'un çapraz kontaminasyonunda önemli rol oynadığı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda kullanılan alet-ekipmanların yüzeylerinin sıcak su ile temizlenmesinin, kesim hattında çalışan kasapların çift bıçak kullanmasının, her karkas manüplasyonundan sonra bıçak değiştirilmesinin ve bunun takip edilmesinin, proses sonunda kullanılan alet-ekipmanların dezenfeksiyonunun yapılmasının ve kesim hattındaki personelin eğitilmesinin kontaminasyonun azaltılmasında etkili olduğu ortaya konulmuştur (Food and Drug Administration, 2012; Bakhtary ve ark, 2016; Gowda ve ark, 2017). Ayrıca yapılan literatür taramasında mezbahada kullanılan masatlarla ilgili bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle çalışma kapsamında elde edilen masatlara ait bulguların daha sonra yapılacak olan çalışmalara yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmada alet-ekipman örneklerinde olduğu gibi mezbahadaki kesim süreci zamanı göz önünde bulundurularak 10 sürecin başında, ortasında ve sonunda olmak suretiyle 3 ayrı periyotta, kesim hattında çalışan personelin proses boyunca giydikleri eldivenlerden toplam 150 adet svap örneği alınmıştır. Yapılan analizler sonucu proses başında ve sonunda alınan örneklerin hiçbirinden *S. aureus* izole edilmemiştir. Ancak sürecin ortasında alınan örneklerin 2'sinde ortalama 1,26 log kob/cm² düzeyinde *S. aureus* kontaminasyonu

belirlenmiştir. Bulgular değerlendirildiğinde de kontaminasyon belirlenen örneklerin farklı proselere ait olduğu görülmüştür. İşletme hijyeninin kontrolü amacıyla Erzurum'da bir et kombinasında yapılan araştırmada üretim hattında çalışan 3 kasabın ellerinden 12 kez farklı zamanda olmak üzere petrifilm yöntemi kullanılarak toplam 36 adet örnek alınmıştır. Analizler sonucunda incelenen 36 örneğin 14'ünde ortalama 1,85 log kob/cm² düzeyinde *S. aureus* kontaminasyonu tespit edilmiştir (Atasever, 2006). Bacak ve ark (2014) tarafından yapılan araştırmada ise mezbahada görevlerine göre seçilen 7 personelin ellerinden 4 haftalık periyot boyunca birer haftalık aralar ile toplam 28 adet svap örneği alınmış ve alınan örneklerin tamamında ortalama 2,87 log kob/cm² düzeyinde Stafilokok/Mikrokok kontaminasyonu belirlenmiştir. İspanya'da 3 farklı koyun mezbahasında yapılan bir çalışmada mezbaha personelinin ellerinden ve eldivenlerinden toplam 81 adet svap örneği alınmış ve örneklerin sadece 1'inden *S. aureus* izole edilmiştir (Oses ve ark, 2012). Abunna ve ark (2016) bir sığır mezbahasında çalışan personelin ellerinden alınan 14 adet svap örneğini incelemiş ve yapılan analizler sonucunda örneklerin 3'ünde *S. aureus* kontaminasyonu tespit etmiştir. Beyene ve ark (2017) yaptıkları bir araştırmada mezbahada kesim hattındaki 6 personelin ellerinden almış oldukları svap örneklerinin hiçbirinden *S. aureus* izole etmediklerini bildirmişlerdir. Gowda ve ark (2017) ise *S. aureus* kontaminasyonunu belirlemek amacıyla 4 farklı mezbahanın kesim hattında çalışan personelden örnekler almışlardır. Yapılan analizler sonucunda birinci mezbahadan alınan 30 adet örneğin tamamında, ikinci mezbahada 25 örnekten 22'sinde, üçüncü mezbahada 21 örnekten 17'sinde ve dördüncü mezbahada ise 32 örnekten 17'sinde *S. aureus* tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında personele ait örneklerden yapılan analizler sonucu elde edilen bulgular Oses ve ark (2012) tarafından tespit edilen bulgularla benzerlik göstermiştir. Çalışmada tespit edilen *S. aureus* oranının Atasever (2006), Bacak ve ark (2014), Abunna ve ark (2016) ile Gowda ve ark (2017) tarafından belirlenen oranlardan düşük olduğu, ancak Beyene ve ark (2017)'nin çalışmasında tespit edilen orandan daha yüksek olduğu görülmüştür. Bununla birlikte burada rapor edilen çalışmada belirlenen *S. aureus* oranı ile tam olarak benzerlik göstermese de Atasever (2006) tarafından yapılan araştırmada tespit edilen *S. aureus* kontaminasyon düzeyinin elde edilen bulgularla örtüştüğü görülmüştür. Bulgular arasındaki farklılıkların mezbahaların yapısal özelliklerinden, kesim sürecindeki hijyen protokollerinden, kesim kapasitesinden, personelin eğitim seviyesinden, el yıkama ve eldiven kullanma alışkanlıklarından, kesim prosesindeki örnekleme zamanından, örnek sayısından ve uygulanan analiz metodları gibi nedenlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. *S. aureus*'un sağlıklı insanların çoğunun burun mukozaları ile ellerinde bulunması ve bu

insanların gıda sektörünün herhangi bir basamağında çalışması göz önünde bulundurulduğunda, söz konusu etkenin gıdalara bulaşma olasılığı artmaktadır. Mezbahalarda da durum diğer gıda işleme yerleri ile benzer şekilde olup, kasapların elleri yetersiz kişisel hijyen ve çapraz kontaminasyondan dolayı *S. aureus*'un yayılmasına rol oynamaktadır. Üretim alanlarında ellerden kaynaklı kontaminasyonu engellemek için eldiven kullanılması, süreç içerisinde kirlenen eldivenlerin belirli aralıklarla değiştirilmesi ve bir işten farklı bir işe geçerken yeni eldiven kullanılması gıda güvenliği açısından önerilmektedir (Çakıcı ve ark, 2015). Yapılan bir araştırmada kontaminasyon düzeyleri değerlendirildiğinde çalışma süresince eldiven değiştirilmeden çalışmaya devam edilmesinin eldiven takmamakla aynı etkiye sahip olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca personelin aynı eldiven çiftini uzun süre kullanmasının ve ellerin daha az yıkanmasının kontaminasyonu arttırdığı da araştırmacılar tarafından belirlenmiştir (Lynch ve ark, 2005). Bu çalışmada kesime başlamadan önce ve proses sonunda personel örneklerinde *S. aureus*'un tespit edilemeyişi, proses ortasında alınan örneklerden 2'sinde söz konusu etkenin kontaminasyonunun belirlenmesi araştırmanın yapıldığı mezbahadaki gıda güvenliği yönetim sisteminin etkili olduğunu düşündürmektedir. Dolayısıyla kontaminasyonu engellemek için eldiven kullanılmasının tek başına yeterli olmadığı, eldivenin doğru kullanımının ve personelin kişisel hijyeninin de sağlanmasının önemi bir kez daha ortaya konulmuştur.

Çalışmada yapılan analizler sonucu 92 adet *S. aureus* izolatından 39'unun (%42,4) enterotoksijenik özellikte olduğu tespit edilmiştir. Enterotoksijenik 39 izolatın analiz edilen *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *selj* ve *sep* genlerinden en az birine sahip olduğu belirlenmiş, 53 izolatta ise söz konusu enterotoksin genlerinin varlığına rastlanılmamıştır. Ayrıca çalışma kapsamında incelenen izolatlardan tank sütü (%67,3), tavuk eti (%33,3) ve karkas (%25) örneklerine ait izolatların enterotoksijenik özellikte olduğu, ancak tulum peyniri, alet-ekipman ile personelden elde edilen izolatların ise incelenen enterotoksin genlerinden hiçbirini taşımadığı yapılan analizler sonucunda tespit edilmiştir. Çalışmanın bulguları klasik enterotoksinlerin (SEA-SEE) üretiminden sorumlu genlerin varlığı açısından değerlendirildiğinde; 39 enterotoksijenik *S. aureus* izolatının en çok *sed* geni (6 adet) taşıdığı, bunu 5 adet ile *sec* geni, 4 adet ile *seb* geni ve 2'şer adet olmak üzere *sea* ile *see* genlerinin takip ettiği belirlenmiştir. Bulgular örnek grupları açısından değerlendirildiğinde ise tank sütü örneklerinden elde edilen izolatların en çok *sec* (%15,1) genine, karkas örneklerine ait 2 adet enterotoksijenik izolatın her ikisinin de sadece *seb* ve *sed* genlerine sahip olduğu, ancak tavuk eti izolatlarının ise klasik enterotoksinlerden hiçbirini taşımadığı tespit edilmiştir. Tez çalışmasında klasik enterotoksinler haricinde *seg*, *seh*, *sei*, *selj* ve *sep* genlerinin de varlığı

araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda enterotoksijenik *S. aureus* izolatlarında en fazla *sei* geni (21 adet) belirlenmiş, bunu *seh* (20 adet), *seg* (19 adet) ve *sep* (3 adet) genleri izlemiştir. İzolatların hiçbirinde *selj* geni tespit edilmemiştir. Ayrıca 17 enterotoksijenik izolatın aynı anda *seg* ve *sei* genlerine sahip oluşu dikkat çekmektedir. Elde edilen bulgular ürün bakımından değerlendirildiğinde enterotoksijenik tank sütü izolatlarının 20'sinin (%60,6) *seh* genine, 17'sinin (%51,5) *sei* genine, 16'sının (%48,5) *seg* genine sahip olduğu, 3 izolatın da (%9,1) *sep* genini taşıdığı yapılan analizler sonucu ortaya konulmuştur. Tavuk eti izolatlarında *seg* ve *sei* genlerinin varlığı belirlenmiş, ancak karkas izolatlarının hiçbirinde *seg*, *seh*, *sei*, *selj* ve *sep* genlerinin varlığı saptanamamıştır. Bulgular genel olarak değerlendirildiğinde ise 39 adet enterotoksijenik izolatın 28'inin (%71,8) klasik enterotoksin genlerini taşımayıp, varlığı araştırılan diğer enterotoksin genlerine sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Aydın ve ark (2011a) 1070 adet gıda örneğini inceledikleri çalışmada elde ettikleri 147 *S. aureus* izolatının 92'sinin (%62,6) enterotoksijenik özellikte olduğunu, enterotoksijenik izolatlardan 49'unun (%53,3) yeni izole edilen (*seg*, *seh*, *sei*, *sej*, *sek*, *sel*, *sem*, *sen*, *seo*, *sep*, *seq* ve *seu*) toksin genlerine, klasik toksinlerden daha fazla oranda sahip olduklarını tespit etmişlerdir. Bununla birlikte enterotoksijenik izolatlardan 28'inin (%30,4) *seg* ve *sei* genlerini bir arada taşıdığı saptanmıştır. Aynı çalışmada incelenen çiğ süt örneklerinden elde edilen izolatların klasik enterotoksin genlerinden en çok *sec* genine (%35,5) sahip oldukları belirlenmiştir. Gücükoğlu ve ark (2012) tarafından yapılan çalışmada 122 adet süt ve süt ürünleri örneğinden (60 çiğ süt, 32 beyaz peynir, 10 kaşar peyniri, 10 tereyağ, 10 dondurma) 81'inde *S. aureus* kontaminasyonu, elde edilen *S. aureus* izolatlarından da 14'ünün (%17,2) enterotoksijenik özellikte olduğu tespit edilmiştir. Çiğ süt örneklerine ait izolatların %13,7'sinin, peynir örneklerine ait izolatların %24'ünün, terayağı örneklerine ait izolatların %25'inin *sea*, *seb*, *sec* ve *sed* genlerinden en az birini taşıdığı, ancak dondurma örneklerine ait izolatların bu genlerden hiçbirine sahip olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca çalışmada enterotoksijenik izolatlarda %64,28 oranla en çok *sea* geni varlığı bildirilmiştir. Ankara'da yapılan bir araştırmada 225 et örneğinden (75 sığır eti, 75 koyun eti, 75 tavuk eti) elde edilen 114 *S. aureus* izolatından 80'inin (%70,17) enterotoksijenik karakterde olduğu saptanmıştır. Enterotoksijenik izolatlardan 66'sının (%82,5) klasik enterotoksin genlerinden *sea*, *sec* ve *sed*'den en az birini, 26'sının ise (%32,5) *seg*, *seh*, *sei* ve *selj* genlerinden bir veya birkaçını taşıdığı araştırmacılar tarafından tespit edilmiştir. Aynı çalışmada klasik enterotoksin genlerinden %70 oranla en çok *sea* geninin, diğer enterotoksin genlerinden de %15 oranla *seh* geninin varlığı saptanmıştır (Özdemir ve Keyvan, 2016). Saka ve Terzi Gülel (2018)

tarafından Samsun'da yapılan çalışmada manda sütü ve süt ürünlerinden elde edilen 99 *S. aureus* izolatının 12'sinin klasik enterotoksin genlerinden en az birini taşıdığı belirlenmiştir. Enterotoksijenik izolatlardan 5'inin (%41,6) *sea* genini, 2'sinin (%16,6) *sec* genini, 1'nin (%8,3) *sed* genini ve 1'nin (%8,3) de *see* genini taşıdığı, 3 izolatta da *sec* ve *sed* geninin beraber bulunduğu, ancak izolatların hiçbirinde *seb* genine rastlanılmadığı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Jorgensen ve ark (2005b) tarafından yapılan bir araştırmada çiğ süt ve süt ürünlerinden elde edilen 225 adet *S. aureus* izolatından 127'sinin enterotoksin genlerinden (*sea-see*, *seg-selj*) en az bir veya daha fazlasına sahip olduğu saptanmıştır. İzolatların %38,7 oranla en çok *sec* genini sentezlediği bildirilmiştir. Aynı çalışmada enterotoksijenik izolatlardan 2'sinde *sea*, 2'sinde *seb*, 4'ünde *sed*, 19'unda *seg*, 11'inde *sei*, 10'unda *seh* ve 4'ünde *selj* geni tespit edilirken, izolatların hiçbirinde *see* geni varlığı belirlenmemiştir. Bununla birlikte 127 enterotoksijenik izolattan sadece 5'inde *seg* ve *sei* genlerinin birlikte bulunduğu gözlemlenmiştir. Bania ve ark (2006) tarafından yapılan çalışmada ise 50 adet *S. aureus* izolatından 27'sinin (%54) enterotoksijenik özellikte olduğu, enterotoksijenik izolatların 9'unun klasik enterotoksin genlerine, 18'inin ise bu genler dışındaki enterotoksin genlerine (*seg*, *seh*, *sei*, *selj*, *sek*, *sel*, *sem*, *sen*, *seo*, *sep*, *seq*, *seu*) sahip olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada enterotoksijenik izolatlardan 3'ünün *seg* ve *sei* genlerini bir arada taşıdığı, 14 izolatın *seh* genini, 3 izolatın *selj* genini, 8 izolatın ise *sep* genini sentezleyebildiği bildirilmiştir. İtalya'da yapılan bir araştırmada 1634 gıda örneğinden 209'unun *S.aureus* ile kontamine olduğu, elde edilen izolatlardan ise 125'inin (%59,8) klasik enterotoksin genlerinden bir veya daha fazlasını sentezleyebildiği tespit edilmiştir. Enterotoksijenik izolatlardan %33,6'sının *sed*, %18,4'ünün *sea*, %15,2'sinin *sec*, %6,4'ünün *seb* ve %0,8'nin *see* genlerine sahip oldukları saptanmıştır (Normanno ve ark, 2007a). Pereira ve ark (2009) tarafından yapılan araştırmada çeşitli kaynaklardan izole edilen (süt ve süt ürünü, et ve et ürünü, gıda ile temas eden yüzey) 148 adet *S. aureus* izolatından 101'inin (%69) *sea-see*, *seg-selj* enterotoksin genlerinden en az birini taşıdığı belirlenmiştir. Enterotoksijenik izolatlardan 51'inde (%51,5) *seg* ve *sei* genlerinin beraber bulunduğu, 23'ünün (%23) ise *sea*, *seg* ve *sei* genlerini aynı anda taşıdığı, ancak izolatlardan hiçbirinin *selj* genine sahip olmadığı yapılan analizler sonucunda tespit edilmiştir. Brezilya'da tank sütü ve peynir örneklerinin incelendiği bir araştırmada tank sütü örneklerinden 96 adet, peynir örneklerinden de 70 adet olmak üzere toplam 166 adet *S. aureus* izolatı elde edilmiştir. Tank sütü izolatlarından 41'inin, peynir izolatlarından da 50'sinin en az bir enterotoksin geni taşıdığı, izolatlardan 78'inin yeni tanımlanan enterotoksin genlerine sahip olduğu bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada 91 adet enterotoksijenik izolattan 29'unda *seg* ve *sei*

genlerinin birlikte bulunduğu saptanmıştır (Arcuri ve ark, 2010). Polonya’da yapılan bir araştırmada ise çiğ süt örneklerinden elde edilen 77 adet *S. aureus* izolatının 5’inin klasik enterotoksin genlerine sahip olduğu, enterotoksijenik izolatların 3’ünün *sec* genini, 2’sinin ise *sea* genini taşıdığı bildirilmiştir (Korpysa-Dzirba ve Osek, 2011). Portekizde yapılan bir araştırmada gıda sektöründe çalışan 162 personelin ellerinden svap örneği alınmış, örneklerin 18’inden *S. aureus* izole edilmiş, elde edilen izolatlarda klasik enterotoksinlere ait genlerin yanında *seg*, *seh*, *sei* ve *selj* genlerinin varlığı da araştırılmış, izolatlardan 10’unun enterotoksijenik karakterde olduğu tespit edilmiştir (Castro ve ark, 2016).

Çalışmada elde edilen enterotoksijenik *S. aureus* oranının Aydın ve ark (2011a), Özdemir ve Keyvan (2016), Jorgensen ve ark (2005b), Bania ve ark (2006), Normanno ve ark (2007a), Pereira ve ark (2009), Arcuri ve ark (2010) ile Castro ve ark (2016) tarafından tespit edilen oranlardan düşük, Gücükoğlu ve ark (2012), Saka ve Terzi Gülel (2018) ile Korpysa-Dzirba ve Osek (2011) tarafından elde edilen oranlardan ise yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca burada rapor edilen çalışma ile benzer şekilde Aydın ve ark (2011a), Bania ve ark (2006) ile Arcuri ve ark (2010) da yapmış oldukları araştırmalarında elde ettikleri enterotoksijenik *S. aureus* izolatlarının yeni tanımlanmış enterotoksin genlerine sahip olma oranının klasik enterotoksin genlerinden daha fazla olduğunu belirlemişlerdir. Çoğu araştırmaların bulguları klasik enterotoksin genleri açısından değerlendirildiğinde en çok *sea* genine rastlanıldığı bildirilmiştir. Ancak bu çalışmada olduğu gibi Normanno ve ark (2007a) tarafından yapılan araştırmada da klasik enterotoksin genlerinden en çok *sed* geni belirlenmiştir. Bununla birlikte gıda maddesinin tipi ile ilişkili olarak diğer enterotoksin genlerinin de yüksek düzeyde olduğu çalışmalar mevcuttur. Burada rapor edilen çalışma ile benzer şekilde Aydın ve ark (2011a), Jorgensen ve ark (2005b) ile Korpysa-Dzirba ve Osek (2011) tarafından yapılan araştırmalarda süt ve süt ürünlerinde klasik enterotoksin genlerinden en çok *sec* geninin varlığı tespit edilmiştir. Gıdalardan elde edilen enterotoksijenik *S. aureus* izolatlarında *see* geni nadiren bildirilmiştir. Ancak bu çalışmada olduğu gibi Saka ve Terzi Gülel (2018), Jorgensen ve ark (2005b) ile Normanno ve ark (2007) yapmış oldukları araştırmalarda *see* geni varlığını tespit etmişlerdir. Genel olarak *seg* ve *sei* genleri arasında korelasyon olduğu bilinmektedir. Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirildiğinde bu korelasyonun görüldüğü, aynı korelasyonun Aydın ve ark (2011a), Bania ve ark (2006), Pereira ve ark (2009) ile Arcuri ve ark (2010) tarafından da tespit edildiği belirlenmiştir. Bu çalışmanın bulguları ile diğer araştırmacıların çalışmaları sonucu elde ettikleri bulguların arasında farklılıkların başta örnek tipleri ve sayıları olmak üzere, bölgesel farklılıklardan, kontaminasyon kaynaklarından (hayvan, insan vb.), laboratuvar

uygulanan analiz metodları ile enterotoksin genlerinin ekspresyonu üzerine etkili çevresel ve diğer faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Enterotoksijenik *S. aureus* suşları tarafından üretilen enterotoksinler ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesi gıda intoksikasyonlarına neden olabilmektedir. Bu zehirlenmelerden sorumlu gıdalar arasında hayvansal kaynaklı gıdalar başta olmak üzere salatalar, pastacılık ürünleri, pişmiş yemekler ve sandviç gibi tüketime hazır gıdalar bulunmaktadır. Kontaminasyon gıdaya uygulanan ısıl işlemden sonra personel ve alet-ekipmanla olabileceği gibi hayvansal kaynaklı gıdalarda gıdanın elde edildiği hayvandan da kaynaklanabilmektedir. Genellikle Stafilokokal gıda intoksikasyonlarına enterotoksin A ve D tiplerinin neden olduğu bildirilmesine rağmen, gıdanın çeşidi ile ilişkili olarak diğer toksinler de yüksek düzeyde tespit edilebilmektedir. Özellikle süt ve süt ürünlerinde *sec* ve *seh* genlerine sıklıkla rastlanılmakla birlikte yapılan araştırmalarda benzer şartlarda ekspresyonlarının baskılandığı tespit edilmiştir. Ancak ekspresyonu *agr* bağımlı olan *sec* geni ile ekspresyonu *agr* bağımlı olmayan *seh* geni arasındaki ilişki henüz kanıtlanamamıştır (Jorgensen ve ark, 2005b; Normanno ve ark, 2007b; Ortega ve ark, 2010; Valihrach ve ark, 2014; Basanisi ve ark, 2017).

Stafilokokal gıda intoksikasyonlarından genellikle çiğ ya da yeterli ısıl işlem görmemiş veya ısıl işlem sonrası kontaminasyona uğramış süt ve süt ürünleri sorumlu tutulmaktadır. Ancak daha öncede belirtildiği üzere enterotoksin genlerinin ekspresyonu; etkenin bulunduğu faz (logaritmik faz, durağan faz), gıdanın yapısı, ortamın pH'sı, NaCl konsantrasyonu ve rekabetçi flora gibi birçok faktöre bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Özellikle starter kullanılan, olgunlaştırmaya bırakılan peynirlerde enterotoksin genlerinin ekspresyonunun baskılanabildiği bildirilmiştir (Duquenne ve ark, 2010; Cretenet ve ark, 2011; Valihrach ve ark, 2014).

Stafilokokal enterotoksin genlerinin hemen hemen tümü plazmidler, profajlar, *S. aureus* patojenite adaları ve stafilokokal kaset kromozomu gibi mobil genetik elemanların üzerinde tekli veya çoklu olarak bulunmaktadır. Bu durumun enterotoksin genlerinin kombinasyonunda rol oynayabileceği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Omoe ve ark, 2002; Argudin ve ark, 2010; Umeda ve ark, 2017). Genel olarak birçok çalışmada *seg* ve *sei* genlerinin bir arada bulunduğu ifade edilmektedir (Jorgensen ve ark, 2005b; Bania ve ark, 2006; Pereira ve ark, 2009; Aydın ve ark, 2011a; Basanisi ve ark, 2017). Bu kombinasyonun nedeni ise *seg* ve *sei* genlerinin aynı *egc* üzerinde yer almaları olarak açıklanmaktadır (Omoe ve ark, 2002). Benzer durumun *sed* ve *selj* toksin genleri için de aynı plasmid tarafından taşındığından geçerli olabileceği düşünülmektedir (Zhang ve ark, 1998; Jorgensen ve ark, 2005b; Bania ve ark, 2006). Burada rapor edilen tez çalışmasında da söz konusu *seg+sei*

kombinasyonu ile karşılaşılmasına ve klasik enterotoksin genlerinden en çok *sed* tespit edilmesine rağmen, hiçbir izolatta *selj* geni varlığı belirlenememiştir. Bu farklılığın pH, redoks potansiyeli, NaCl konsantrasyonu gibi faktörlerden, örnek tipinden ve kullanılan analiz yöntemlerinden kaynaklandığı kanısına varılmıştır.

Çalışmada çeşitli örneklerden izole edilen 92 adet *S. aureus* izolatının 66'sının (%71,7) farklı antibiyotik gruplarına karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. İzolatlardan 60 adedinin (%65,3) penisiline dirençli olduğu belirlenmiştir. Penisilin direnç düzeyini %22,8 ile oksasilin, %18,4 ile klindamisin, %11,9 ile eritromisin, %9,8 ile sefoksitin, siprofloksasin ve fusidik asit, %7,7 ile daptomisin, %6,6 ile tetrasiklin ve fosfomisin dirençliliğinin takip ettiği saptanmıştır. Ayrıca linezolide karşı 4 adet (%4,3), teikoplanin, vankomisin ile trimetoprim/sulfametoksazole karşı ise 3'er adet (%3,2) ve gentamisine karşı 1 adet (%1) izolatın dirençli olduğu belirlenmiş, ancak çalışma kapsamında tigesikline karşı dirençli *S. aureus* izolatına rastlanılmamıştır.

Bulgular ürün grupları açısından değerlendirildiğinde ise tank sütü örneklerinden elde edilen 49 adet *S. aureus* izolatından 26'sında (%53) antibiyotik direncinin çeşitli düzeylerde olduğu belirlenmiştir. İzolatlarda penisiline dirençlilik düzeyi %48,9 iken, oksasiline %18,3, klindamisinde ve fusidik asitte %12,2, sefoksitinde %10,2, eritromisin, tetrasiklin fosfomisinde %8,1, siprofloksasin ve daptomisinde %6,1'dir. Bununla birlikte gentamisine, linezolide, teikoplanine, vankomisine, trimetoprim/sulfametoksazole karşı birer izolat direnç göstermiştir. Ayrıca izolatlardan 1'inde (%2) siprofloksasine, 3'ünde (%6,1) ise eritromisine karşı orta düzeyde dirençlilik saptanmıştır.

Tulum peyniri örneklerinden elde edilen 17 adet *S. aureus* izolatının tamamının en az bir antibiyotiğe dirençli olduğu tespit edilmiştir. İzolatlarda belirlenen dirençlilik düzeyi penisilinde %88,3, oksasiline %52,9, klindamisinde %41,1, eritromisinde %23,6 iken, linezolid, daptomisin ve siprofloksasinde %17,6, sefoksitin, teikoplanin, vankomisin, tetrasiklin, fosfomisin ve trimetoprim/sulfametoksazolde %11,7, fusidik asitte %5,8'dir. İzolatlardan 1'inde (%6) tetrasikline, 5'inde (%29,4) ise eritromisine karşı orta düzeyde dirençlilik saptanmıştır. Ayrıca tüm izolatların gentamisin ve tigesikline duyarlı olduğu belirlenmiştir.

Tavuk eti örneklerine ait 12 adet izolattan 10'ununda çeşitli düzeylerde farklı gruplardan antibiyotiklere karşı direnç tespit edilmiştir. İzolatlardan 8 adedinin (%66,7) penisiline dirençli olduğu belirlenmiştir. Penisilin direnç düzeyini %25 ile siprofloksasin, %16,6 ile sefoksitin, oksasilin, eritromisin ve klindamisin, %8,3 ile daptomisin ve fusidik asit dirençliliğinin takip ettiği saptanmıştır. Ayrıca izolatlardan 1'inde (%8,3) siprofloksasine,

4'ünde (%33,3) ise eritromisine karşı orta düzeyde dirençlilik saptanmıştır. Tüm izolatların gentamisin, linezolid, teikoplanin, vankomisin, tetrasiklin, tigesiklin, fosfomisin ve trimetoprim/sulfametoksazole duyarlı olduğu belirlenmiştir.

Karkas örneklerinden elde edilen 8 adet *S. aureus* izolatında penisilin direnç düzeyi %100 iken, klindamisininde %25, oksasilin, eritromisin ve fusidik asit direnç düzeyi %12,5 olarak tespit edilmiştir. İzolatlardan 3'ünün eritromisine orta düzeyde duyarlı olduğu saptanmıştır. İzolatların tamamının sefoksitin, gentamisin, siprofloksasin, linezolid, daptomisin, teikoplanin, vankomisin, tetrasiklin, tigesiklin, fosfomisin ve trimetoprim/sulfametoksazole duyarlı olduğu yapılan analizler sonucu görülmüştür.

Alet-ekipman örneklerine ait 4 adet *S. aureus* izolatının 3'ünün (%75) penisiline dirençli olduğu, dirençli izolatlardan 1'inin aynı zamanda eritromisine orta düzeyde dirençli gösterdiği, personele ait 2 adet *S. aureus* izolatının ikisinin de penisiline dirençli olduğu belirlenmiştir. Hem alet-ekipmana ait dirençli izolatların hem de personel izolatlarının antibiyogram analizlerinde değerlendirilen diğer antibiyotiklere duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

Sudağidan ve Aydın (2008) tarafından yapılan bir araştırmada 120 adet et ve et ürünü (dana kıyma, dana eti, tavuk eti, hindi eti, çiğ hamburger köftesi ve sucuk) örneğinden elde edilen 9 adet *S. aureus* izolatından 5'inde penisilin, penisilin dirençli izolatlardan 1'inde eritromisin direnci belirlenmiştir. İncelenen izolatların hiçbirinde vankomisin, teikoplanin ve gentamisin direnci tespit edilmemiştir. Aydın ve ark (2011b) çeşitli gıda örneklerini inceledikleri çalışmada elde ettikleri 142 *S. aureus* izolatında (16 adet et izolatı, 8 adet et ürünü izolatı, 64 adet çiğ süt izolatı, 54 adet süt ürünü izolatı) antibiyotiklere dirençliliği incelemişler, izolatların sırasıyla en fazla %70,4 ile penisilin, %23,2 ile linezolid, %16,1 ile eritromisin, %15,4 ile tetrasikline, %13,3 ile trimetoprim/sulfametoksazol, %9,1 ile fusidik asit, %8,4 ile klindamisin, %7 ile gentamisin, %0,7 ile teikoplanine dirençli olduklarını tespit etmişlerdir. Bununla birlikte izolatların %25,3'ünün klindamisine, %19'unun fusidik asite, %16,9'unun teikoplanine, %12,6'sının tetrasikline, %2,1'inin trimetoprim/sulfametoksazole, %0,7'sinin gentamisine orta düzeyde dirençli oldukları bildirilmiştir. Aynı çalışmada çiğ süt örneklerine ait 64 adet *S. aureus* izolatında belirlenen penisilin direnci %82,8 düzeyinde iken, bu düzeyi %34,3 ile linezolid, %29,6 ile eritromisin, %18,75 ile tetrasiklin, fusidik asit ve trimetoprim/sulfametoksazol, %14 ile klindamisin, %10,9 ile gentamisin takip etmiştir. Ayrıca izolatların tümünün oksasilin, sefoksitin ve vankomisine duyarlı olduğu belirlenmiştir. Can ve Çelik (2012) tarafından yapılan bir araştırmada beyaz ve tulum peyniri örneklerinden elde edilen 12 adet *S. aureus* izolatından 10'unun (%83,3) en az bir antibiyotığe dirençli

olduğu tespit edilmiştir. *S. aureus* izolatlarının %16,6 düzeyinde oksasiline, %8,3 düzeyinde klindamisin, eritromisin ve tetrasikline dirençli, %41,6 düzeyinde eritromisine, %25 düzeyinde klindamisin ve teikoplanine, %16,6 düzeyinde tetrasikline orta düzeyde dirençli olduğu, tüm izolatların gentamisin ve vankomisine direnç göstermedikleri belirlenmiştir. Ankara’da yapılan bir araştırmada süt ve süt ürünlerine (süt, peynir, dondurma) ait 70 adet *S. aureus* izolatında penisilin dirençlilik düzeyi %97,1 iken, tetrasiklinde %54,3, eritromisinde %45,7, gentamisinde %41,4, trimetoprim/sulfametoksazolde %30 olarak bildirilmiştir. Aynı çalışmada tüm izolatların siprofloksasine duyarlı olduğu saptanmıştır (Gündoğan ve Avcı, 2014). Keyvan ve Özdemir (2016) tarafından yapılan araştırmada sığır karkaslarından elde edilen 22 adet *S. aureus* izolatından %54,5’inin tetrasikline, %40,9’unun eritromisine, %22,7’sinin trimetoprim/sulfametoksazole, %18,1’inin oksasiline, %13,6’sının sefoksitine, %4,5’inin gentamisine dirençli olduğu, izolatlardan hiçbirinin vankomisine direnç göstermediği yapılan analizler sonucunda belirlenmiştir. Can ve ark (2017) tarafından yapılan araştırmada 160 adet çeşitli gıda örneğinden (çiğ süt, peynir, tavuk eti, dana kıyma) elde ettikleri 40 *S. aureus* izolatından (25 adet çiğ süt izolatı, 4 peynir izolatı, 11 tavuk eti izolatı) 39’unun (%97,5) çeşitli düzeylerde en az bir antibiyotige karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. İzolatların penisilin direnci %95, tetrasiklin direnci %30, eritromisin direnci %20, siprofloksasin direnci %12,5, sefoksitin direnci %2,5 olarak bildirilmiştir. İzolatlardan hiçbirinin gentamisin, oksasilin ve vankomisine karşı dirençli olmadığı belirlenmiştir. Örnek grupları değerlendirildiğinde çiğ süt ile peynir örneklerinden elde edilen izolatların tamamının penisiline dirençli olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte çiğ süt örneklerine ait izolatların tetrasiklin direnç düzeyinin %28, eritromisin direnç düzeyinin ise %16 olduğu belirlenmiştir. Tavuk eti örneklerine ait izolatlardan 9’unun (%81,8) penisiline dirençli olduğu tespit edilmiştir. Penisilin direnç düzeyini, %45,4 ile tetrasiklin ve siprofloksasin, %36,3 ile eritromisin, %9,9 ile sefoksitin dirençliliğinin takip ettiği yapılan antibiyogram testleri sonucu saptanmıştır. İzolatlardan 2’sinin (%18,1) siprofloksasine orta düzeyde dirençli olduğu bildirilmiştir. Kayseri’de süt ve süt ürünleri ile et ve et ürünleri örneklerinden (çiğ süt, koyun peyniri, sütlü tatlı, tavuk eti, pastırma, sosis, salam, sucuk) elde edilen 95 adet *S. aureus* izolatında antibiyotik dirençliliği araştırılmış, izolatların penisilin direnci %81,1, tetrasiklin direnci %28,4, vankomisin direnci %18,9, eritromisin direnci %17,9, gentamisin ve sefoksitin direnci ise %9,4 olarak bildirilmiştir (Hızlısoy ve ark, 2018).

İtalya’da yapılan bir araştırmada 42 tavuk eti örneğinin 12’sinden, 68 dana eti örneğinin ise 20’sinden *S. aureus* izole edilmiştir. Yapılan analizler sonucu tavuk eti örneklerine ait izolatlarda %66,6 düzeyinde oksasilin, %25 düzeyinde penisilin, %16,6

düzeyinde gentamisin, %8,3 düzeyinde eritromisin, klindamisin, tetrasiklin ve trimetoprim/sulfametoksazol direnci belirlenirken, tüm izolatların teikoplanin ve vankomise duyarlı olduğu saptanmıştır. Dana eti örneklerine ait izolatlarda ise oksasilin direnç düzeyi %30 iken, bu düzeyi %25 ile eritromisin, klindamisin ve tetrasiklin, %10 ile penisilin, %5 ile gentamisin takip etmiş, izolatların tamamının teikoplanin, vankomisin ve trimetoprim/sulfametoksazole duyarlı olduğu bildirilmiştir (Pesavento ve ark, 2007). Portekiz’de yapılan bir araştırmada çeşitli kaynaklardan izole edilen (süt ve süt ürünü, et ve et ürünü, gıda ile temas eden yüzey) 148 adet *S. aureus* izolatlarında antibiyotik dirençliliği araştırılmış, izolatların %85’inin antibiyogramı yapılan antibiyotiklerden en az birine dirençli olduğu tespit edilmiştir. Penisilin direncinin %73, oksasilin direncinin %38, eritromisin direncinin %5, gentamisin direncinin %2 ve tetrasiklin direncinin %0,7 düzeyinde olduğu, izolatlardan hiçbirinin siprofloksasin ve vankomisine direnç göstermediği bildirilmiştir (Pereira ve ark, 2009). Pu ve ark (2011) tarafından ABD’de yapılan araştırmada dana ve domuz eti örneklerinden 152 adet *S. aureus* izolatu elde edilmiştir. Yapılan antibiyogram testi sonucu izolatların %71 düzeyinde penisiline, %67 düzeyinde tetrasikline, %30 düzeyinde eritromisine, %18 düzeyinde klindamisine, %14 düzeyinde oksasiline, %13 düzeyinde siprofloksasine ve %3 düzeyinde gentamisine dirençli oldukları, ancak tüm izolatların daptomisin, linezolid, tigesiklin, vankomisin ve trimetoprim/sulfametoksazole duyarlı oldukları bildirilmiştir. He ve ark (2013) çeşitli gıda örneklerinden (süt, tavuk eti, domuz karkası, domuz eti) izole ettikleri 29 adet *S. aureus* izolatında tetrasiklin direnç düzeyini %86,2 olarak tespit etmiştir. Bu düzeyi %51,7 ile eritromisin, %44,8 ile klindamisin, %31 ile siprofloksasin, %20,7 ile gentamisin, %13,8 ile trimetoprim/sulfametoksazolün takip ettiğini belirtmiştir. İzolatların tamamının ise oksasilin, sefoksitin, teikoplanin, vankomisin, linezolid, tigesiklin ve daptomisine duyarlı olduğunu saptamıştır.

Tan ve ark (2014) gıda üretim hattında çalışan personelin ellerinden alınan örneklerde *S. aureus* varlığını ve antibiyotik duyarlılıklarını araştırmışlar ve yapılan analizler sonucu 179 adet *S. aureus* izole etmişlerdir. İzolatların 148’inde çeşitli antibiyotiklere karşı direnç saptanmıştır. Dirençli izolatların %53,3’inin penisiline, %0,68’sinin tetrasikline dirençli, %1,35’inin siprofloksasine ve %4,05’inin tetrasikline orta düzeyde dirençli oldukları, hiçbir izolatın da gentamisin ve trimetoprim/sulfametoksazole direnç göstermediği bildirilmiştir. Gowda ve ark (2017) tarafından yapılan bir araştırmada 4 farklı sığır mezbahasından karkas, parça et, alet-ekipman, personel eli, hava ve sudan alınan örneklerden toplam 389 adet *S. aureus* izole edilmiştir. İzolatların 148’inin (%38) penisiline dirençli olduğu tespit edilmiştir.

Penisilin direnç düzeyini %24,4 ile tetrasiklin, %14,9 ile eritromisin, %11,3 ile oksasilin ve %8,5 ile vankomisin dirençliliğinin takip ettiği belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında elde edilen antibiyotik dirençli *S. aureus* izolatlarının oranının Pesavento ve ark (2007), Pereira ve ark (2009) ile Tan ve ark (2014) tarafından tespit edilen oranlar ile benzer, Sudağıdan ve Aydın (2008) tarafından belirlenen orandan yüksek, Aydın ve ark (2011b), Can ve Çelik (2012), Keyvan ve Özdemir (2016) ile Can ve ark (2017) tarafından elde edilen oranlardan ise düşük olduğu gözlemlenmiştir. Burada rapor edilen tez çalışmasında bütün örnek gruplarına ait *S. aureus* izolatlarının araştırma kapsamında incelenen 16 adet antibiyotikten en çok penisiline direnç gösterdiği (%65,3) tespit edilmiştir. Benzer şekilde Sudağıdan ve Aydın (2008), Pereira ve ark (2009), Aydın ve ark (2011b), Pu ve ark (2011), Gündoğan ve Avcı (2014), Tan ve ark (2014), Can ve ark (2017), Gowda ve ark (2017) ile Hızlısoy ve ark (2018) yapmış oldukları araştırmalarda *S. aureus* izolatlarının en çok penisiline dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Penisilin direncindeki bu durumun, penisilin en eski antibiyotiklerden biri olması, dolayısıyla beşeri ve veteriner hekimlikte uzun zamandır yaygın olarak kullanılması, *S. aureus* izolatları içerisinde β -laktamaz üreten suşların bulunması ile penisilin direncinin plazmidik olması nedeniyle suşlar arasında hızla yayılmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Aydın ve ark, 2011b). Çalışmada belirlenen tetrasiklin direnç düzeyinin Pu ve ark (2011), He ve ark (2013), Gündoğan ve ark (2014), Keyvan ve Özdemir (2016), Can ve ark (2017), Gowda ve ark (2017) ile Hızlısoy ve ark (2018) tarafından belirlenen düzeylerden oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir. Geniş spektrumlu tetrasiklinler hayvanlarda ve insanlarda meydana gelen bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bulgular arasındaki farklılıkların araştırmaların yapıldıkları coğrafi bölgelere, veteriner hekimlerin tedavilerde kullandıkları antibiyotik seçimlerine ve ülkelerin antibiyotik kullanım politikalarına bağlı olarak şekillendiği kanısına varılmıştır. Çalışmada 1 adet tank sütü örneğine ait *S. aureus* izolatında, 2 adet de tulum peyniri örneğine ait *S. aureus* izolatında vankomisin dirençliliği tespit edilmiştir. Vankomisin dirençli *S. aureus* izolatlarının bulunması Gowda ve ark (2017) ile Hızlısoy ve ark (2018) tarafından yapılan araştırmaların sonuçları ile örtüşmektedir. Ancak yukarıda belirtilen vankomisin direnci araştırılan diğer çalışmalarda elde edilen *S. aureus* izolatlarının tümünün vankomisine duyarlı olduğu belirlenmiştir. Çalışmalar arasındaki farklılıkların örnek tiplerine, kullanılan analiz yöntemlerine, coğrafi bölgelere, tedavilerdeki antibiyotik seçimleri gibi faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Özellikle MRSA kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde önemli bir yere sahip olan vankomisine karşı direnç gelişimi tüm dünyada halk sağlığı açısından büyük bir tehdit olarak görülmektedir. Bununla birlikte çoğu araştırmada *S.*

aureus izolatlarının vankomisine duyarlı bulunması söz konusu durum için oldukça iyi olarak değerlendirilse de, kontrolsüz antibiyotik kullanımları ve vankomisin direnç mekanizması göz önünde bulundurularak antibiyotik seçimlerinde daha dikkatli olunması gerekliliği unutulmamalıdır.

Çalışmanın bulguları ülkemizde yapılan diğer çalışmaların bulguları (Sudağdan ve Aydın, 2008; Aydın ve ark, 2011b; Can ve Çelik, 2012; Gündoğan ve ark, 2014; Keyvan ve Özdemir, 2016; Can ve ark, 2017; Hızlısoy ve ark, 2018) ile karşılaştırıldığında direnç düzeyleri arasında farklılıklar olmakla birlikte, en yüksek direnç düzeyinin diğer çalışmalarda da bildirildiği gibi penisiline ait olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmalarda diğer antibiyotiklerle kıyaslandığında gentamisin, trimetoprim/sulfametoksazol, vankomisin, teikoplanin direncinin daha düşük düzeylerde olduğu görülmüştür. Çalışmalar arasındaki farklılıkların ülkemizde bölgesel olarak veteriner hekimlikte hastalıkların tedavisinde farklı antibiyotiklerin kullanımı ve kullanım alışkanlıklarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Örnek gruplarına göre değerlendirme yapıldığında tank sütü ve peynir örneklerine ait *S. aureus* izolatlarının sahip oldukları direnç düzeylerinden penisilin direncinin Aydın ve ark (2011b) ile Can ve ark (2017) tarafından tespit edilen düzey ile benzer olduğu görülmüştür. Tank sütü izolatlarına ait klindamisin ve fusidik asit direnç düzeyleri ile Aydın ve ark (2011b) tarafından çiğ süt izolatlarına ait elde edilen direnç düzeyleri arasında benzerlik olmasına rağmen linezolid, eritromisin, gentamisin, tetrasiklin ve trimetoprim/sulfametoksazol direnç düzeylerinin farklı olduğu tespit edilmiştir. Aynı şekilde Can ve ark (2017) tarafından çiğ süt izolatlarına ait belirtilen tetrasiklin ve eritromisin direnç düzeyleri burada rapor edilen çalışmanın bulgularından yüksek bulunmuştur. Tulum peyniri izolatlarındaki oksasilin, klindamisin, eritromisin ve tetrasiklin direnç düzeylerinin ise Can ve Çelik (2012) tarafından belirlenen düzeylerden yüksek olduğu görülmüştür.

Burada rapor edilen çalışmada tavuk eti izolatlarına ait direnç düzeylerinin pensilin, eritromisin ve tetrasiklin açısından Pesavento ve ark (2007) tarafından belirlenen düzeyden yüksek, ancak Can ve ark (2017) tarafından tespit edilen düzeyden düşük olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte vankomisin ve teikoplanin dirençliliğinin tespit edilmemesi diğer iki çalışma ile benzerlik teşkil etmektedir.

Karkas izolatlarına ait klindamisin direnç düzeyi ile vankomisin, teikoplanin ve trimetoprim/sulfametoksazol duyarlılığının Pesavento ve ark (2007) tarafından belirtilen bulgular ile benzer olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte çalışmada belirlenen oksasilin ve eritromisin direnç düzeyinin Keyvan ve Özdemir (2016) ile Pesavento ve ark (2007) tarafından belirlenen düzeylerden düşük olduğu görülmüştür. Ayrıca her iki çalışmada da

gentamisin ve tetrasiklin direnci tespit edilmiş, ancak burada rapor edilen çalışmada karkas izolatlarında bu antibiyotiklere karşı gelişen bir dirence rastlanılmamıştır.

Çalışma kapsamında mezbahada kullanılan alet-ekipman örnekleri ile personel örneklerinden elde edilen izolatlarda yüksek oranda penisilin direnci saptanmış olup, bu durum Tan ve ark (2014) ile Gowda ve ark (2017) tarafından elde edilen bulgularla benzerlik göstermiştir. Bununla birlikte Tan ve ark (2014) tarafından yapılan araştırmada da gentamisin ve trimetoprim/sulfametoksazol direncine rastlanılmamıştır. Ancak burada rapor edilen çalışmada izolatların oksasilin, tetrasiklin, eritromisin ve vankomisin duyarlı olması söz konusu iki araştırma ile farklılık teşkil etmektedir.

Genel olarak değerlendirildiğinde çalışmalar arasındaki farklılıklarda coğrafi farklılıklar başta olmak üzere, hayvan türleri, tedavi amaçlı antibiyotik kullanım tercihleri ve sıklığı, hayvanlarda antibiyotik kullanıma geçmişleri, örneklerin elde edildikleri işletmelerin hijyenik durumu, örneğin niteliği ve sayısı, kullanılan analiz yöntemleri, gıda güvenliğine ilişkin yasal düzenlemeler gibi birçok faktörün rol oynadığı düşünülmektedir.

Antibiyotik direnci dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunudur. Tarımda, hayvan ve insanların tedavisinde antibiyotiklerin uzun süredir sıklıkla, kontrolsüz ve yanlış kullanılması nedeniyle bakteriler tarafından çoğu antibiyotiğe direnç gelişmiştir. Önce penisiline karşı başlayan ve daha sonra diğer antibiyotik çeşitlerinde de ortaya çıkan direnç problemi zamanla antibiyotik kullanımı ve etkinliği açısından hem sağlık hem de ekonomik kayıplara neden olan endişe verici boyutlara ulaşmıştır. Konu ile ilgili yapılan araştırmalarda antibiyotik dirençliliğinin insanlara taşınmasında gıdaların önemli bir araç olduğu belirtilmiş, bu durumun da gıdalarda bulunan antibiyotik kalıntıları, dirençli gıda patojenlerinin transferi ya da gıdanın mikroflorasında bulunan dirençli suşların sindirim sistemine girmesi sonucu hem patojenik hem de patojenik olmayan bakterilere direnç transferi ile mümkün olabileceği bildirilmiştir. *S. aureus* suşlarının ekzopolisakkarit yapıda bir bariyer üretmeleri (biyofilm oluşumu), ilaçların hareketlerini sınırlayan mikroapselerdeki konumları ve yapısal özellikleri nedeniyle antibiyotik tedavisine sıklıkla direnç gösterdikleri bilinmektedir. Hayvansal gıda kaynaklı izolatlar değerlendirildiğinde süt ve süt ürünlerinde en çok β -laktam grubu antibiyotiklere, özellikle de penisiline karşı direnç geliştiği gözlemlenmiştir. Bu durumun mastitis tedavisinde β -laktamların uzun süre, yaygın ve kontrolsüz kullanımına bağlı şekillendiği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Penisilinden sonra sıklıkla rastlanan bir diğer direnç ise tetrasiklin direncidir. Geniş spektrumlu olan tetrasiklinler *S. aureus* kaynaklı enfeksiyonlarda yaygın şekilde kullanıldığından direnç gelişimi kaçınılmaz olmuştur. Bu nedenle etkene karşı spesifik antibiyotik seçimi, hem tedavinin daha etkin olmasında hem de

direncin bakteriler arasında yayılımlarının önlenmesinde büyük rol oynamaktadır. Örnek gruplarına ait direnç profillerinin arasındaki farkın örneklerin elde edildiği hayvan türlerinde farklı antibiyotik gruplarının kullanılmasından kaynaklanabileceği kanısına varılmıştır. Örneğin tavuk etlerine ait izolatların direnç profili değerlendirildiğinde diğer örnek gruplarına ait izolatlardan daha yüksek oranda siprofloksasin ve eritromisine direnç gösterdiği, aynı durumun diğer çalışmalarda da geçerli olduğu görülmüştür. Şekillenen bu direnç profili farkının kanatlı hayvan çiftliklerinde tedavi edici ve profilaktik amaçlı söz konusu antibiyotiklerin yaygın şekilde kullanılmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Özellikle gıdalarda antibiyotik dirençli *S. aureus* izolatlarının bulunuşunun gıdaların çiftlikten çatala kadar gelen süreçte hijyen şartlarının yeteri kadar sağlanamaması sonucu şekillendiği, dolayısıyla gıda sektöründe çalışan personelin hijyen alışkanlıklarının, kullanılan alet-ekipman temizliğinin ve personelin taşıyıcılık durumunun antibiyotik direncinin yaygınlaşmasında büyük rol oynadığı bilinmektedir (Gündoğan ve ark, 2006; Pesavento ve ark, 2007; Pereira ve ark, 2009; Aydın ve ark, 2011b; Gouvea ve ark, 2015; Can ve ark, 2017; Mund ve ark, 2017). Ayrıca birçok ülkede yapılan araştırmaların ortaya koyduğu bulguların sonucu olarak günümüzde, antibiyotik dirençliliğinin kontrol altına alınması için başta WHO ve FAO olmak üzere ulusal ve uluslararası organizasyonlar bir çok global strateji çalışması ve sörveyans programını uygulamaya koyarak antibiyotik dirençliliğinin azaltılması ile ilgili çeşitli çalışmalarda bulunmaktadır.

Çalışmada çeşitli örnek gruplarından elde edilen 92 adet *S. aureus* izolatında fenotipik metisilin dirençliliğini tespit etmek amacıyla CLSI'da (2017) belirtildiği şekilde sefoksitin ve oksasilin dirençliliği değerlendirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda *S. aureus* izolatlarından 9'unda (%9,8) sefoksitin, 21'inde (%22,8) ise oksasilin direnci tespit edilmiştir. Ayrıca sefoksitin direnci gösteren izolatların tamamının oksasiline de dirençli olduğu belirlenmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen tüm izolatlarda *mecA* geni varlığı araştırılmış, izolatlardan 13'ünün (%14,1) bu geni taşıdığı tespit edilmiştir. Bulguların örnek gruplarına göre dağılımı değerlendirildiğinde, 49 adet tank sütü örneğine ait izolattan 7'sinde (%14,3), 17 adet tulum peyniri örneğine ait izolattan 3'ünde (%17,6), 12 adet tavuk eti örneğine ait izolattan 2'sinde (%16,6) ve 8 adet karkas örneğine ait izolattan 1'inde (%12,5) *mecA* geni varlığı belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda *mecA* geni taşımayan 79 adet izolatta PCR yöntemi ile *mecC* geni varlığı araştırılmış, ancak izolatların hiçbirinde *mecC* genine rastlanılmamıştır. MRSA olarak tespit edilen 13 adet izolattan 5'inin aynı zamanda 2 ve 2'den fazla farklı antibiyotik çeşidine direnç gösterdiği saptanmıştır.

Ankara’da yapılan bir araştırmada incelenen beyaz ve tulum peyniri örneklerinden elde edilen 12 adet *S. aureus* izolatından 2 adet (%16,6) tulum peyniri örneğine ait izolatın hem fenotipik olarak oksasilin dirençli olduğu hem de *mecA* genine sahip olduğu bildirilmiştir (Can ve elik, 2012). Gücükoğlu ve ark (2013) antibiyotik duyarlılık profilini fenotipik olarak belirlemedikleri 35 *S. aureus* izolatından sadece 1’inde (%2,8) *mecA* geninin varlığını tespit etmişlerdir. Özpinar ve Gümüşsoy (2013) tulum peyniri örneklerinden elde ettikleri 61 adet *S. aureus* izolatından 9’unun oksasiline, 8’inin ise sefoksitine dirençli olduğunu, bununla birlikte 10 (%16,3) *S. aureus* izolatının *mecA* geni taşıdığını belirlemişlerdir. Doğan ve ark (2016) 177 adet *S. aureus* izolatından 45 adedinin (%25,4) fenotipik olarak sefoksitin ve oksasiline dirençli olduğunu, söz konusu dirençli izolatların tamamının *mecA* geni taşıdığını tespit etmiştir. Aynı çalışmada izolatların tamamında *mecC* geni varlığı araştırılmış ancak hiçbirinde *mecC* varlığı belirlenmemiştir. zdemir ve Keyvan (2016) 225 adet et örneğinden (75 sığır eti, 75 koyun eti, 75 tavuk eti) 114 adet *S. aureus* izolatı elde etmiştir. İzolatların 26’sının (%22,8) sefoksitine, 18’inin (%15,7) oksasiline dirençli olduğu, ancak izolatlardan hiçbirinin *mecA* genine sahip olmadığı bildirilmiştir. Balıkesir’de yapılan bir araştırmada 175 adet tank sütü ve süt ürünü (beyaz peynir, kaşar peyniri, tulum peyniri, mihaliç peyniri, sepet peyniri, lor peyniri, yoğurt ve tereyağı) rneğinden 17 adet *S. aureus* izole edilmiştir. İzolatlardan 2 adet tank sütü örneğine, 1 adet de tulum peyniri örneğine ait toplam 3 izolatın oksasilin ile sefoksitine dirençli olduğu, aynı izolatların lateks test sonuçlarına göre de fenotipik olarak MRSA oldukları tespit edilmiştir. Ancak yapılan analizler sonucu sadece tulum peyniri örneğine ait izolatın *mecA* geni taşıdığı bildirilmiştir (Ektik ve ark, 2017).

Pereira ve ark (2009) Portekiz’de yaptıkları bir araştırmada çeşitli gıda örneklerinden elde ettikleri 148 adet *S. aureus* izolatının 56’sının (%38) fenotipik olarak oksasilin dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Ancak yapılan analizler sonucu oksasilin dirençli izolatlardan sadece 1’inde (%0,67) *mecA* geni varlığı belirlenmiştir. Kreausukon ve ark (2012) tarafından yapılan araştırmada 384 adet tank sütü örneğinden elde edilen 36 adet (%9,3) MRSA izolatının fenotipik olarak oksasiline dirençli olduğu, fenotipik direnç görülen izolatların tamamının *mecA* genine sahip olduğu tespit edilmiştir. Krupa ve ark (2014) incelemiş oldukları kloaka ve tavuk eti örneklerinden izole ettikleri 263 *S. aureus* izolatından 3 adet kloaka örneğine ait izolatın, 1 adet de tavuk eti örneğine ait izolatın hem oksasilin ve sefoksitine fenotipik olarak dirençli olduğunu, hem de *mecA* geni taşıdığını tespit etmiştir. Ayrıca elde edilen izolatların hiçbirinde *mecC* geni varlığı belirlenmemiştir. Oklahoma’da yapılan bir araştırmada tavuk ve hindi etlerinden elde edilen 168 adet *S. aureus* izolatından 52 adet izolatın sefoksitine, 80 adet izolatın da oksasiline dirençli olduğu tespit edilmiştir. Aynı

çalışmada sefoksitin ve oksasilin dirençli 12 izolatta *mecA* geni varlığı belirlenmiş, diğer izolatlarda da fenotipik metisilin direncini doğrulamak amacıyla *mecC* geni varlığı araştırılmıştır. Ancak izolatların hiçbirinde *mecC* geni varlığı saptanmamıştır (Abdalrahman ve ark, 2015). Jamali ve ark (2015) incelemiş oldukları süt ve süt ürünü örneklerine ait 328 adet *S. aureus* izolatından 53 (%16,2) adedinin hem fenotipik olarak oksasiline dirençli olduğunu hem de fenotipik direnç görülen izolatların *mecA* genine sahip olduklarını ifade etmiştir. Basanisi ve ark (2017) tarafından yapılan bir araştırmada 3760 adet süt ve süt ürünü örneğinden elde edilen 484 (%12,9) *S. aureus* izolatından 40'ının MRSA olduğu tespit edilmiştir. MRSA olarak belirlenen izolatların tamamının oksasilin dirençli olduğu, kromojenik agarda doğrulandığı ve *mecA* geni taşıdığı bildirilmiştir. Giacinti ve ark (2017) 286 adet koyun tank sütü örneğinden 153'ünün *S. aureus* ile kontamine olduğunu tespit etmiştir. *S. aureus* pozitif olan örneklerden elde edilen 679 adet izolattan 104 izolatın sefoksitine duyarlı olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada sefoksitin dirençli izolatlardan 1 izolatın *mecA*, bir izolatın da *mecC* genine sahip olduğu bildirilmiştir. Pekana ve Green (2018) toplam 1200 adet çiğ süt ve karkas svap örneğinden 134 adet *S. aureus* izole etmiştir. İzolatların 82'sinde fenotipik olarak oksasilin direnci belirlenmesine rağmen, sadece 1 izolatta *mecA* geni varlığı tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında tespit edilen *mecA* geni oranı Can ve Çelik (2012), Özpınar ve Gümüşsoy (2013) ile Jamali ve ark (2015) tarafından tespit edilen oranlar ile benzer, Gücükoğlu ve ark (2013), Özdemir ve Keyvan (2016), Ektik ve ark (2017), Pereira ve ark (2009), Kreausukon ve ark (2012), Abdalrahman ve ark (2015), Basanisi ve ark (2017) ile Pekana ve Green (2018) tarafından belirlenen oranlardan yüksek, ancak Doğan ve ark (2016) tarafından elde edilen orandan ise düşük bulunmuştur. Çalışmalar arasındaki farklılıkların örneklerin elde edildiği hayvanların antibiyotik kullanım geçmişleri, coğrafi farklılıklar, örnek sayısı ve niteliği, kullanılan analiz yöntemleri, örneklerin üretildiği ortam ve kullanılan alet-ekipman hijyeni, üretimdeki personel ile depolama ve satış aşamalarındaki hijyen koşulları gibi nedenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yukarıda belirtilen çalışmalarda da olduğu gibi MRSA prevalansı farklı ülkelerde ve aynı ülke içindeki bölgeler arasında dahi farklılıklar gösterebilmektedir. Bu farklılıklar bölgedeki veteriner hekimlerin antibiyotik tercihleri ve kullanım alışkanlıklarından, konu ile ilgili ulusal politikalar ve düzenlenmelerden kaynaklanabilmektedir.

MRSA Dünya çapında önemli bir halk sağlığı problemi olarak görüldüğünden, MRSA prevalansının hızlı ve güvenilir yöntemlerle tespiti büyük önem taşımaktadır. Burada rapor edilen tez çalışmasında *S. aureus* izolatlarında fenotipik metisilin dirençliliğini tespit etmek

amacıyla CLSI'da (2017) belirtildiği şekilde sefoksitin ve oksasilin dirençliliği değerlendirilmiş, bununla birlikte izolatların tamamında *mecA* geni varlığı araştırılmıştır. *S. aureus* izolatlarından 9'unda (%9,7) sefoksitin, 21'inde (%22,8) ise oksasilin direnci belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucu *mecA* geni tespit edilen 13 izolatın 9'unda fenotipik olarak hem sefoksitin hem de oksasilin direnci gözlemlenmiş, ancak 4 izolatta söz konusu her iki antibiyotiğe de fenotipik olarak direnç tespit edilmemiştir. Ayrıca *mecA* geni tespit edilmeyen izolatlarda *mecC* geni varlığı araştırılmış ancak izolatların hiçbirinde *mecC* genine rastlanılmamıştır. Fenotipik olarak oksasilin dirençli ancak *mecA* geni taşımayan 12 adet izolatta şekillenen bu durumun β -laktamazın aşırı sentezlenmesinden (borderline dirençlilik) ya da PBP'lerin yapısında meydana gelen mutasyonlardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu doğrultuda çalışmanın bulguları ile Abdalrahman ve ark (2015) tarafından elde edilen bulgular örtüşmektedir. Ancak burada rapor edilen çalışmadan farklı olarak Krupa ve ark (2014), Giacinti ve ark (2017) ile Pekana ve Green (2018) yapmış oldukları çalışmalarda *blaZ* geni varlığını da araştırdıklarından dolayı β -laktamaz sentezi ile ilgili durumu da bildirmişlerdir. Çeşitli araştırmacılar da fenotipik direnç bulguları ile genotipik direnç bulguları arasındaki farklılıkların fenotipik direncin şekillenmesinde rol oynayan β -laktamazın aşırı sentezlenmesi, nokta mutasyonlar ve biyofilm oluşumundan da kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir (Pereira ve ark, 2009; Fessler ve ark, 2010; McCallum ve ark, 2010; Peacock ve Paterson, 2015; Hızlısoy ve ark, 2018).

Çalışma kapsamında elde edilen *mecA* geni taşıyıp, fenotipik olarak sefoksitin ve oksasiline duyarlı olduğu tespit edilen 4 adet izolatın heterojen metisilin direncine sahip olduğu düşünülmektedir. Bilindiği üzere heterojen metisilin direncinde koloniyi oluşturan bakteriler *mecA* genini taşımalarına rağmen, direnç fenotipik olarak 10 bakteriden birinde tespit edilebilmektedir. Bu durumdan da *mec* bölgesi dışında bulunan *fem* genleri veya dirençten sorumlu regülatör genler sorumlu tutulmaktadır. Bu genlerin inaktivasyonu veya genlerde şekillenebilecek mutasyonlar sonucu hücre duvarı yapısı değişiklik göstermekte, dolayısıyla metisilin direncinde farklılıklar görülebilmektedir. Örneğin homojen direnç tipinde peptidoglikan tabakadaki ana peptidler normal peptid konfigürasyonuna sahiptir. Ancak heterojen direnç tipinde ortamdaki glisin miktarına bağlı olarak peptidoglikan zinciri normal koşullarda olması gereken iki alanin rezidüsü yerine, iki glisin rezidüsü ile son bulmaktadır. Bu durumun da metisilin direncinde azalmaya ve homojen fenotipin heterojen fenotipe dönüşmesine neden olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bu direnç tipi pH, sıcaklık, NaCl konsantrasyonu, inkübasyon süresi gibi çevresel faktörlerden de etkilenmekte ve saha

izolatlarında heterojen direnç ile sıklıkla karşılaşılmaktadır (Chambers, 1997; Chongtrakool ve ark, 2006; McCallum ve ark, 2010; Foster, 2017).

MRSA'lar direkt temas yoluyla bulaşabilmesinin yanı sıra hayvansal kökenli gıdaların tüketimi yoluyla da bulaşabilmektedir. Gıda hijyeni ve personel hijyenin yetersiz olması bulaşma potansiyelini arttırmaktadır. MRSA'nın hayvansal kaynaklı gıdalarda tespit edilmesi tüketiciler ve özellikle de immün sistemi baskılanmış bireyler için risk teşkil etmektedir. İmmün sistemi baskılanmış bireylerde, spesifik ve spesifik olmayan immün yanıtlar, gastrointestinal sistemde MRSA'nın kolonizasyonunun engellenmesinde yeterli olamamakta ve MRSA kaynaklı sistemik enfeksiyonlar görülebilmektedir (Normanno ve ark, 2007b; Pu ve ark, 2011; Basanisi ve ark, 2017).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada çeşitli kaynaklarda (tank sütü, tulum peyniri, tavuk eti, sığır karkası, alet-ekipman ve personel) farklı düzeylerde *S. aureus* kontaminasyonu tespit edilmiş, elde edilen izolatların yarıya yakının enterotoksijenik özellikte olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte izolatların klasik enterotoksinlerin yanında, yeni tanımlanan enterotoksin genlerini de taşıdıklarının görülmesi bu tip enterotoksinlerin de potansiyel olarak gıda intoksikasyonlarına neden olabileceğini göstermiştir. Ayrıca çalışmada elde edilen *S. aureus* izolatlarının çoğunun farklı antibiyotik gruplarına karşı dirençli olduğu saptanmış, yapılan analizler sonucunda da gıda örneklerinde MRSA tespit edilmiştir. Bu durum aynı zamanda MRSA'nın gıda aracılı transferinin mümkün olabileceğini göstermektedir. Elde edilen sonuçların ışığında, etkenin enterotoksijenik özellikleri ve antibiyotik direnç profili değerlendirildiğinde, halk sağlığı açısından önemli problemler oluşturabilecek potansiyele sahip olduğu görülmüştür.

S. aureus hayvansal gıdalara hayvan kaynaklı (mastitis vb), hayvanların kesilmesi ve işlenmesi sırasında enfekte personel tarafından veya gıda hazırlama işlemi sırasında çapraz kontaminasyonla bulaşabilmektedir. Kontaminasyonunu takiben etken uygun ortam koşulları sağlandığında hızla gelişerek toksin oluşturmakta ve toksin içeren gıdaların tüketilmesine bağlı olarak intoksikasyon meydana gelebilmektedir. Bununla birlikte, antibiyotiklerin yoğun bir şekilde ve bilinçsiz kullanımı *S. aureus*'un antibiyotiklere karşı direnç kazanmasını hızlandırmakta olup, bu durumun her geçen gün dünya çapında ciddi sağlık sorunlarına neden olabileceği öngörülmektedir.

S. aureus kaynaklı intoksikasyonları önlemek ve antibiyotik dirençliliğini azaltmak amacıyla gıdalarda “çiftlikten çatala” prensibi göz önüne alınarak, tüm üretim hattı boyunca etkin bir biçimde ön gereksinim programları ile birlikte HACCP sistemi eksiksiz olarak uygulanmalıdır. Konu ile ilgili olarak sektörde çalışan personel ile birlikte tüketicilere de çeşitli eğitim programları düzenlenerek, farkındalık sağlanmalıdır. Sadece *S. aureus*'un değil tüm gıda patojenlerinin neden olduğu enfeksiyon ve intoksikasyonlar ile söz konusu etkenlerin antibiyotik direnç profillerinin belirlenip gerekli önlemlerin ve düzeltici faaliyetlerin yapılması için ülkemizde konu ile ilgili sörveyans sistemi oluşturulmalıdır. Bununla birlikte MRSA'nın gıdalar yoluyla insanlara geçişi göz önünde bulundurularak, Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde (2011) hayvansal gıdalarda MRSA'nın da aranması gerektiği önerilmektedir. Yoğun antibiyotik kullanımı ve buna bağlı direnç problemleri ile ilgili olarak hekimlik alanlarında antibiyotik direnç sorunu üzerinde entegre tarama sistemleri oluşturulmalıdır. Ayrıca direnç gelişiminin önlenmesi için insan

preparatları hayvanların tedavisinde kullanılmamalıdır. Direnç özelliklerinin moleküler epidemiyolojisinin yeterli düzeyde açıklanabilmesi için daha fazla sayıda moleküler çalışmaların yapılması desteklenmeli ve direnç olgusunun kontrolü için stratejiler geliştirilip uygulanmaya konulmalıdır. Bununla birlikte antibiyotiklerin yoğun ve bilinçsiz kullanımının önlenmesi ve gerekli kontrollerin yapılarak, kalıntı izleme programlarının etkin olarak sürdürülmesi sağlanmalıdır. Özellikle antibiyotik tedavisi gereken hastalıklarda antibiyogram testleri uygulanıp, etkili antibiyotik seçilerek gereksiz kullanımın önüne geçilmelidir.

KAYNAKLAR

- Abdalrahman LS, Stanley A, Wells H, Fakhr MK.** Isolation, virulence, and antimicrobial resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) strains from Oklahoma retail poultry meats. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2015, 12, 6148-6161.
- Abunna F, Abriham T, Gizaw F, Beyene T, Feyisa A, Ayana D, Mamo B, Duguma R.** Staphylococcus: Isolation, identification and antiicrobial resistance in dairy cattle farms, municipal abattoir and personel in and around Asella, Ethiopia. *Journal of Veterinary Science and Technology* 2016, 7(6), 1-7.
- Adams MR, Moss MO.** Food Microbiology (3rd ed). Cambridge, RSC Publishing, 2008, 252-256.
- Akbar A, Anal AK.** Prevalence and antibiogram study of *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* in poultry meat. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2013, 3(2), 163-168.
- Al-Bahry SN, Mahmoud IY, Al-Musharafi SK, Sivakumar N.** *Staphylococcus aureus* contamination during food preparation, processing and handling. *International Journal of Chemical Engineering and Applications* 2014, 5(5), 388-392.
- Alvarez-Suarez ME, Otero A, Garcia-Lopez ML, Santos JA.** Microbiological examination of bulk tank goat's milk in the Castilla y Leon Region in Northern Spain. *Journal of Food Protection* 2015, 78(12), 2227-2232.
- Aman MJ.** Superantigens of a superbug: Major culprits of *Staphylococcus aureus* disease? *Virulence* 2017, 8(6), 607-610.
- Arcuri EF, Angelo FF, Guimaraes MFM, Talon R, Borges MF, Leroy S, Loiseau G, Lange CC, Andrade NJ, Montet D.** Toxigenic status of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine raw milk and Minas frescal cheese in Brazil. *Journal of Food Protection* 2010, 73(12), 2225-2231.
- Argudin MA, Mendoza MC, Rodicio MR.** Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins* 2010, 2, 1751-1773.
- Atasever İ.** Et ve Balık Kurumu Erzurum Et Kombinasyonu Sığır Kesim Hattında Mikrobiyolojik Tehlike Analizi, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum 2006, 50.
- Aydın A, Aksu H, Arun OO.** Hygienic properties of food handlers and equipment in food production and sales units. *Medycyna Weterynaryjna* 2007, 63(9), 1067-1070.

Aydın A, Sudagidan M, Muratoglu K. Prevalence of Staphylococcal enterotoxins, toxin genes and genetic-relatedness of foodborne *S. aureus* strains isolated in the Marmara Region of Turkey. *International Journal of Food Microbiology* 2011a, 148, 99-106.

Aydın A, Muratoglu K, Sudagidan M, Bostan K, Okuklu B, Harsa S. Prevalence and antibiotic resistance of foodborne *Staphylococcus aureus* isolates in Turkey. *Foodborne Pathogens and Disease* 2011b, 8(1), 63-69.

Aydın A, Sudağidan M. Gıda mikrobiyolojisinde moleküler biyolojik tekniklerin kullanımı ve tiplendirme yöntemleri. *Türkiye Klinikleri Gıda Hijyeni ve Teknolojisi* 2016, 2(1), 1-9.

Baird-Parker AC. Staphylococci and their classification. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1965, 128(1), 4-25.

Bacak M, Gönülalan Z, Ertaş N. Bir kesimhanede sığır kesim hattı, HACCP planının mikrobiyolojik indikatörler yönünden değerlendirilmesi. *Manas Journal of Engineering* 2014, 2(2), 23-29.

Baker MD, Acharya KR. Superantigens: Structure-function relationships. *International Journal of Medical Microbiology* 2004, 293, 529-537.

Bakhtary F, Sayevand HR, Remely M, Hippe B, Hosseini H, Haslberger AG. Evaluation of bacterial contamination sources in meat produce line. *Journal of Food Quality* 2016, 39, 750-756.

Balaban N, Rasooly A. Staphylococcal enterotoxins. *International Journal of Food Microbiology* 2000, 61, 1-10.

Bania J, Dabrowska A, Bystron J, Korzekwa K, Chrzanowska J, Molenda J. Distribution of newly described enterotoxin-like genes in *Staphylococcus aureus* from food. *International Journal of Food Microbiology* 2006, 108, 36-41.

Basanisi MG, Nobili G, La Bella G, Russo R, Spano G, Normanno G, La Salandra G. Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from sheep and goat cheeses in southern Italy. *Small Ruminant Research* 2016, 135, 17-19.

Basanisi MG, La Bella G, Nobili G, Franconieri I, La Salandra G. Genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from milk and dairy products in South Italy. *Food Microbiology* 2017, 62, 141-146.

Becker K, Skov RL, Eiff CV. Staphylococcus, Micrococcus and other catalase-positive cocci. In: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Funke G, Landry ML, Richter SS, Warnock DW (eds), *Manual of Clinical Microbiology*. 11th ed. ASM Press, Washington, 2015, s 354-382.

- Belay N, Rasooly A.** Staphylococcus aureus growth and enterotoxin A production in an anaerobic environment. *Journal of Food Protection* 2002, 65(1), 199-204.
- Benkerroum N.** Staphylococcal enterotoxins and enterotoxin-like toxins with special reference to dairy products: An overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2017, 57, 1-28.
- Bergdoll MS, Crass BS, Reiser RF, Robbins RN, Davis JP.** A new staphylococcal enterotoxin, enterotoxin F, associated with toxic shock syndrome *Staphylococcus aureus* isolates. *Lancet*, 1981, 2, 1017-1021.
- Beyene T, Hayishe H, Gizaw F, Beyi AF, Abunna F, Mammo B, Ayana D, Waktole H, Abdi RD.** Prevalence and antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus* in dairy farms, abattoir and humans in Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Research Notes*, 2017, 10(171), 1-9.
- Bhandare SG, Sherikar AT, Paturkar AM, Waskar VS, Zende RJ.** A comparison of microbial contamination on sheep/goat carcasses in a modern Indian abattoir and traditional meat shops. *Food Control* 2007, 18, 854-858.
- Bhatia A, Zahoor S.** *Staphylococcus aureus* enterotoxins: A review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 2007, 1(2), 188-197.
- Bhunja AK.** Foodborne Microbial Pathogens, Mechanisms and Pathogenesis. New York, Springer, 2008, 125-134.
- Bianchi DM, Gallina S, Bellio A, Chiesa F, Civera T, Decastelli L.** Enterotoxin gene profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from milk and dairy products in Italy. *Letters in Applied Microbiology* 2013, 58, 190-196.
- Bingöl EB, Çetin Ö, Çolak H, Hampikyan H.** Presence of enterotoxin and verotoxin in Turkish cheeses sold in İstanbul. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2012, 36(4), 424-432.
- Bokarewa MI, Jin T, Tarkowski A.** *Staphylococcus aureus*: staphylokinase. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 2006, 38, 504-509.
- Boyle-Vavra S, Daum RS.** Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the role of Panton-Valentine leukocidin. *Laboratory Investigation* 2007, 87, 3-9.
- Brakstad OG, Aasbak K, Maeland JA.** Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the nuc gene. *Journal of Clinical Microbiology* 1992, 30(7), 1654-1660.
- Bridson EY.** Oxoid Manual. Basingstoke, Oxoid Limited, 1998, 144.
- Bukowski M, Wladyka B, Dubin G.** Exfoliative toxins of *Staphylococcus aureus*. *Toxins* 2010, 2, 1148-1165.

Can HY, Çelik TH. Detection of enterotoxigenic and antimicrobial resistant *S. aureus* in Turkish cheeses. *Food Control* 2012, 24, 100-103.

Can HY, Elmalı M, Karagöz A. Molecular typing and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw milk, cheese, minced meat, and chicken meat samples. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* 2017, 37(2), 175-180.

Carfora V, Caprioli A, Marri N, Sagrafoli D, Boselli C, Giacinti G, Giangolini G, Sorbara L, Dottarelli S, Battisti A, Amatiste S. Enterotoxin genes, enterotoxin production, and methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from milk and dairy products in Central Italy. *International Dairy Journal* 2015, 42, 12-15.

Castro A, Santos C, Meireles H, Silca J, Teixeira P. Food handlers as potential sources of dissemination of virulent strains of *Staphylococcus aureus* in the community. *Journal of Infection and Public Health* 2016, 9,153-160.

Castro A, Palhau C, Cunha S, Camarinha S, Silva J, Teixeira P. Virulence and resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from food. *Acta Alimentaria* 2017, 46(2), 231-237.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks, United States, 2012, Annual Report. US Department of Health and Human Services, CDC, Atlanta, Georgia, 2014, s. 1-8.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks, United States, 2013, Annual Report. US Department of Health and Human Services, CDC, Atlanta, Georgia, 2015, s. 1-7.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks, United States, 2014, Annual Report. US Department of Health and Human Services, CDC, Atlanta, Georgia, 2016, s. 1-6.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks, United States, 2015, Annual Report. US Department of Health and Human Services, CDC, Atlanta, Georgia, 2018, s. 1-8.

Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clinical Microbiology Reviews* 1997, 10 (4),781-791.

Chavakis T, Preissner KT, Hermann M. The anti-inflammatory activities of *Staphylococcus aureus*. *Trends in Immunology* 2007, 28(9), 408-418.

Chongtrakool P, Ito T, Ma XX, Kondo Y, Trakulsomboon S, Tiensasitorn C, Jamklang M, Chavalit T, Song JH, Hiramatsu K. Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*) typing of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in 11 Asian

countries: a proposal for a new nomenclature for SCC_{mec} elements. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2006, 50(3), 1001-1012.

Cizman M. The use and resistance to antibiotics in the community. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2003, 21, 297-307.

Clarke SR, Foster SJ. Surface adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Advances in Microbial Physiology* 2006, 51, 51-58.

Clinical Laboratory Standards Institute (M11) (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Vol. 27th Informational Supplement, Pennsylvania Wayne, 2017.

Crago B, Ferrato C, Drews SJ, Svenson LW, Tyrrell G, Louie M. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) in food samples associated with foodborne illness in Alberta, Canada from 2007 to 2010. *Food Microbiology* 2012, 32, 202-205.

Cretenet M, Nouaille S, Thouin J, Rault L, Stenz L, François P, Hennekinne JA, Piot M, Maillard MB, Fauquant J, Loubiere P, Le Loir Y, Even S. *Staphylococcus aureus* virulence and metabolism are dramatically affected by *Lactococcus lactis* in cheese matrix *Environmental Microbiology Reports* 2011, 3(3), 340-351.

Comission Regulation. Microbial criteria for foodstuffs. Official Journal of the European Union 15 November 2005, 2073/2005.

Cottagnoud P. Cellular and molecular aspect of drug of the future: meropenem. *Cellular and Molecular Life Science* 2002, 59(11), 1928-1933.

Cuny C, Layer F, Strommenger B, Witte W. Rare occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC130 with a Novel *mecA* homologue in humans in Germany. *Plos One* 2011, 6(9), 1-5.

Çakıcı N, Demirel Zorba NN, Akçalı A. Gıda endüstrisi çalışanları ve Stafilokokal gıda zehirlenmeleri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2015, 72(4), 337-350.

Çakır O. Erzincan Tulum Peynirlerinin Bazı Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özelliklerinin Tespiti ile Bu Örneklerde Koagulaz (+) *S. aureus* ve *E.coli* O157: H7'nin Aranması, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum 2011, 53.

Das D, Saha SS, Bishayi. Intracellular survival of *Staphylococcus aureus*: correlating production of catalase and superoxide dismutase with levels of inflammatory cytokines. *Inflammation Research* 2008, 57, 340-349.

- Daugherty S, Low MG.** Cloning, expression, and mutagenesis of phosphatidylinositol-specific phospholipase C from *Staphylococcus aureus*: a potential staphylococcal virulence factor. *Infection and Immunity* 1993, 61(12), 5078-5089.
- De Oliveira LP, Soares e Barros LS, Silva VC, Cirqueira MG.** Study of *Staphylococcus aureus* in raw and pasteurized milk consumed in the Reconcavo area of the State of Bahia, Brazil. *Journal of Food Processing and Technology* 2011, 2(6), 1-5.
- Demir P, Erkan S, Öksüztepe G.** Elazığ’da satılan Şavak tulum peynirlerinin mikrobiyolojik kalitesi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2018, 7(1), 15-20.
- Deurenberg R, Stobberingh EE.** The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infection, Genetics and Evolution* 2008, 8, 747-763.
- Di Giannatale E, Prencipe V, Tonelli A, Marfoggia C, Migliorati G.** Characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food for human consumption. *Veterinaria Italiana* 2011, 47(2), 165-173.
- Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM.** Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbial Reviews* 2000, 13(1), 16-34.
- Doğan E, Kılıç A, Türütoğlu H, Öztürk D, Türkyılmaz S.** Screening of *Staphylococcus aureus* isolates for *mecA* and *mecC* genes carriage. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2016, 63, 389-391.
- Doyle ME, Hartmann FA, Lee Wong AC.** Methicillin-resistant staphylococci: implications for our food supply? *Animal Health Research Reviews* 2012, 13, 157-80.
- Duquenne M, Fleurot I, Aigle M, Darrigo C, Borezee-Durant E, Derzelle S, Bouix M, Deperros-Lafarge V, Delacroix-Buchet A.** Tool for quantification of staphylococcal enterotoxin gene expression in cheese. *Applied and Environmental Microbiology* 2010, 76(5), 1367-1374.
- Ektik N.** Balıkesir İlinde Süt ve Süt Ürünlerindeki Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus*’un Prevalansı ve Antibiyotik Dirençliliği, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir 2015, 71.
- Ektik N, Gökmen M, Çıbık R.** The prevalence antibiotic resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in milk and dairy products in Balıkesir, Turkey. *Journal of Hellenic Veterinary Medical Society* 2017, 68(4), 613-620.
- Erdoğan Ö.** Microbiological properties of boneless sheep meat in Kahramanmaraş. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2005, 29, 145-150.
- Erol İ.** Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Ankara, Pozitif Matbaacılık, 2007, 135-144.

- Erol İ.** Yeni ve yeniden önem kazanan gıda kaynaklı bakteriyel zoonozların epidemiyolojisi. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi* 2016, 87(2), 63-76.
- Erol İ, İşeri Ö.** Stafilokokal enterotoksinler. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2004, 51, 239-245.
- Ertaş N, Gönülalan Z.** Kayseri ilinde satılan çiğ sütlerde *Staphylococcus aureus* ve enterotoksinlerinin varlığı üzerine araştırmalar. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi* 2010, 24(1), 11-15.
- Ertaş N, Gönülalan Z, Yıldırım Y.** Detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxins in sheep cheese and dairy desserts by multiplex PCR technique. *International Journal of Food Microbiology* 2010, 142, 74-77.
- European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC).** The European union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012. *EFSA Journal* 2014, 12(2), 285-288.
- European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC).** The European union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks in 2013. *EFSA Journal* 2015a, 13(1), 133-136.
- European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC).** The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks in 2014. *EFSA Journal* 2015b, 13(12), 158-159.
- European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC).** The European union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA Journal* 2016, 14(12), 198-199.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).** Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.1. 2018.
- Fagundes H, Barchesi L, Filho AN, Ferreira LM, Oliveira CAF.** Occurrence of *Staphylococcus aureus* in raw milk produced in dairy farms in Sao Paulo state, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* 2010, 41, 376-380.
- Fessler A, Scott C, Kadlec K, Ehrlich R, Monecke S, Schwarz S.** Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from cases of bovine mastitis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2010, 65, 619-625.
- Fisher EL, Otto M, Cheung GYC.** Basis of virulence in enterotoxin-mediated staphylococcal food poisoning. *Frontiers in Microbiology* 2018, 9, 1-18.
- Fitzgerald JR.** Livestock-associated *Staphylococcus aureus*: origin evolution and public health threat. *Trends in Microbiology* 2012, 20(4), 192-198.

Foster TJ. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and futures prospects. *FEMS Microbiology Reviews* 2017, 41, 430-449.

Founou LL, Founou RC, Essack SY. Antibiotic resistance in the food chain: a developing country perspective. *Frontiers in Microbiology* 2016, 7, 1-19.

Garcia-Alvarez L, Holden MT, Lindsay H, Webb CR, Brown DFJ, Curran MD, Walpole E, Brooks K, Pickard DJ, Teale C, Parkhill J, Bentley SD, Edwards GF, Girvan EK, Kearns AM, Pichon B, Hill RLR, Larsen AR, Skov R, Peacock SJ, Maskell DJ, Holmes MA. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *The Lancet Infectious Disease* 2011, 11, 595-603.

Ge B, Mukherjee S, Mukherjee S, Hsu CH, Davis JA, Tran TTT, Yang Q, Abbott JW, Ayers SL, Young SR, Creary ET, Womack NA, Zhao S, McDermott PF. MRSA and multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. retail meats, 2010-2011. *Food Microbiology* 2017, 62, 289-297.

Giacinti G, Carfora V, Caprioli A, Sgrafoli D, Marri N, Giangolini G, Amoroso R, Lurescia M, Stravino F, Dottarelli S, Feltrin F, Franco A, Amatiste S, Battisti A. Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying *mecA* or *mecC* and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in dairy sheep farms in central Italy. *Journal of Dairy Science* 2017, 100, 1-7.

Gouvea R, Santos FF, Aquino MHC, Pereira VL. Fluoroquinolones in industrial poultry production, bacterial resistance and food residues: a review. *Brazilian Journal of Poultry Science* 2015, 17(1), 1-10.

Gowda TKG, Latha C, Sunil B, Van Damme I. Occurrence and antibiotic susceptibility of *Listeria* species and *Staphylococcus aureus* in cattle slaughterhouses of Kerala, South India. *Foodborne Pathogens and Disease* 2017, 14(10), 1-7.

Göksoy EÖ, Kırkan Ş, Kök F. Microbiological quality of broiler carcasses during processing in two slaughterhouses in Turkey. *Poultry Science* 2004, 83, 1427-1432.

Gutiérrez D, Delgado S, Vázquez-Sánchez D, Martínez B, López Cabo M, Rodríguez A, Herrera JJ, García P. Incidence of *Staphylococcus aureus* and analysis of associated bacterial communities on food industry surfaces. *Applied and Environmental Microbiology* 2012, 78(24), 8547-8554.

Gücükoğlu A, Kevenk TO, Uyanık T, Çadırcı O, Terzi G, Alisharlı M. Detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in raw milk and dairy products by multiplex PCR. *Journal of Food Science* 2012, 77, 620-623.

- Gücüköğlü A, Çadırcı Ö, Terzi G, Kevenk TO, Alişarlı M.** Determination of enterotoxigenic and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in ice cream. *Journal of Food Science* 2013, 78(5), 738-741.
- Gündoğan N, Çıtak S, Turan E.** Slime production, DNase activity and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk, pasteurised milk and ice cream samples. *Food Control* 2006, 17, 389-392.
- Gündoğan N, Ataol Ö.** Et örneklerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilokokların biyofilm üretimi ve DNaz aktivitelerinin belirlenmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2012, 69(3), 135-142.
- Gündoğan N, Avcı E.** Occurrence and antibiotic resistance of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in raw milk and dairy products in Turkey. *International Journal of Dairy Technology* 2014, 67(4), 562-569.
- Güran HS, Kahya S.** Species diversity and pheno and genotypic antibiotic resistance patterns of Staphylococci isolated from retail ground meats. *Journal of Food Science* 2015, 80(6), 1291-1298.
- Güven K, Mutlu MB, Gülbandılar A, Çakır P.** Occurrence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products consumed in Turkey. *Journal of Food Safety*, 201, 30, 196-212
- Haghkhah M.** Study of Virulence Factors of *Staphylococcus aureus*, PhD Thesis, University of Glasgow, Glasgow 2003, 95.
- Hanson BM, Dressler AE, Harper AL, Scheibel RP, Wardyn SE, Roberts LK, Kroeger JS, Smith TC.** Prevalance of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on retail meat in Iowa. *Journal of Infection and Public Health* 2011, 4, 169-174.
- Hart ME, Hart MJ, Roop AJ.** Genotypic and phenotypic assessment of hyaluronidase among type strains of a select group of staphylococcal species. *International Journal of Microbiology* 2009, 2009, 1-8.
- Hassan A, Hiko A, Bogale K, Abera B, Tsegaye B.** Antimicrobial resistance profiles of *Staphylococcus aureus* isolates along Asella Municipal Beef Abattoir Line, South Eastern Ethiopia. *Journal of Veterinary Science & Technology* 2018, 9(3), 1-5.
- He W, Liu Y, Qi J, Chen H, Zhao C, Zhang F, Li H, Wang H.** Food-animal related *Staphylococcus aureus* multidrug-resistant ST9 strains with toxin genes. *Foodborne Pathogens and Disease* 2013, 10(9), 782-788.

Hennekinne JA, Ostyn A, Guiller F, Herbin S, Pruffer AL, Dragacci S. How should staphylococcal food poisoning outbreaks be characterized? *Toxins* 2010, 2, 2106-2116.

Hennekinne JA, De Buyser ML, Dragacci S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiology Reviews* 2012, 36, 815-836.

Hennekinne JA. *Staphylococcus aureus* as a leading cause of foodborne outbreaks worldwide. In: Fetsch A (ed), *Staphylococcus aureus*. Academic Press, Cambridge, 2018, s 129-146.

Henry R. *Staphylococcus*. *Emerging Infectious Disease* 2013, 19(9), 1553.

Hızlısoy H, Ertuş Onmaz N, Karadal F, Al S, Yıldırım Y, Gönülalan Z, Kılıç H. Antibiotic resistance gene profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from foods of animal origin. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2018, 24(2), 243-249.

Holzinger D, Duncan JA, Geldon L, Mysore V, Nippe N, Taxman DJ, Broglie PM, Marketon K, Austermann J, Vogl T, Foell D, Nieman S, Peters G, Roth J, Löffler B. *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidin induces an inflammatory response in human phagocytes via the NLRP3 inflammasome. *Journal of Leukocyte Biology* 2012, 92, 1-13.

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(4), 1083-1089.

Hu DL, Nakane A. Mechanisms of staphylococcal enterotoxin-induced emesis. *European Journal of Pharmacology* 2014, 722, 95-107.

Hu DL, Wang L, Fang R, Okamura M, Ono HK. *Staphylococcus aureus* enterotoxins. In: Fetsch A (ed), *Staphylococcus aureus*. Academic Press, Cambridge, 2018, s 39-55.

Huseby M, Shi K, Brown CK, Digre J, Mengistu F, Seo KS, Bohach GA, Schlievert PM, Ohlendorf DH, Earhart CA. Structure and biological activities of beta toxin from *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology* 2007, 189(23), 8719-8726.

ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). Poultry and poultry products. In: *Microorganisms in Foods. 6. Microbiol Ecology of Food Commodities*. 2nd ed. Blackie Academic & Professionals, London, 2005, s 107-156.

Ikeda T, Morimoto Y, Makino SI, Yamaguchi K. Surveillance of *Staphylococcus aureus* in cheese produced in Hokkaido. *Journal of Food Protection* 2006, 69(3), 516-519.

ISO-International Standardization Organization. ISO 18593, Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs, Switzerland, 2004.

- Jamali H, Paydar M, Radmehr B, Ismail S, Dadrasnia A.** Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. *Food Control* 2015, 54, 383-388.
- Jay JM, Loessner MJ, Golden AD.** Modern Food Microbiology (7th ed), Springer, New York, 2005, 545-560.
- Jensen SO, Lyon BR.** Genetics of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus*. *Future Microbiology* 2009, 4(5), 565-582.
- Jorgensen HJ, Mork T, Rorvik LM.** The occurrence of *Staphylococcus aureus* on a farm with small-scale production of raw milk cheese. *Journal of Dairy Science* 2005a, 88, 3810-3817.
- Jorgensen HJ, Mork T, Hogasen HR, Rorvik LM.** Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in bulk milk in Norway. *Journal of Applied Microbiology* 2005b, 99, 158-166.
- Kadariya J, Smith TC, Thapaliya D.** *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal food-borne disease: An ongoing challenge in public health. *Biomed Research International* 2014, 1-9.
- Kaneko J, Kamio Y.** Bacterial two-component and hetero-heptameric pore forming cytolytic toxins: structures, pore-forming mechanism, and organization of the genes. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 2004, 68(5), 981-1003.
- Kav K, Çol R, Ardiç M.** Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from white-brined Urfa Cheese. *Journal of Food Protection* 2011, 74(11), 1788-1796.
- Kaya S.** Antibiyotikler. In: Kaya S, Pirinçci, Bilgili A (eds), Veteriner Hekimliğinde Farmakoloji. 4. Baskı. Medisan, Ankara, 2007, s 269-391.
- Keyvan E, Özdemir H.** Sığır karkaslarında *Staphylococcus aureus*'un varlığı, enterotoksijenik özellikleri ve antimikrobiyel dirençliliği. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2016, 63, 17-23.
- Kızanlık PK, Göksoy EG.** Microbiological quality evaluation of various types of cheese. *Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University* 2018, 15(2), 86-93.
- Kim C, Milheirico C, Gardete S, Holmes MA, Holden MTG, Lencastre H, Tomasz A.** Properties of a novel PBP2a protein homolog from *Staphylococcus aureus* strain LGA251 and its contribution to the β -lactam resistant phenotype. *The Journal of Biological Chemistry* 2012, 287(44), 36854-36863.
- Kreusikon K, Fetsch A, Kraushaar B, Alt K, Müller K, Krömker V, Zessin KH, Kasbohrer A, Tenhagen BA.** Prevalence, antimicrobial resistance, and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from bulk tank milk of dairy herds. *Journal of Dairy Science* 2012, 95, 4382-4388.

Koluman A, Unlu T, Dikici A, Tezel A, Akcelik EN, Burkan ZT. Presence of *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal enterotoxins in different foods. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University* 2011, 17(A), 55-60.

Koosha RZ, Fooladi AAI, Hosseini HM, Aghdam EM. Prevalence of exfoliative toxin A and B genes in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical specimens. *Journal of Infection and Public Health* 2014, 7, 177-185.

Korpysa-Dzirba W, Osek J. Identification of genes encoding classical staphylococcal enterotoxins in *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 2011, 55, 55-58.

Krupa P, Bystron J, Bania J, Podkowik M, Empel J, Mroczkowska A. Genotypes and oxacillin resistance of *Staphylococcus aureus* from chicken and chicken meat in Poland. *Poultry Science* 2014, 93, 3179-3186.

Küçükçetin A, Milci S. *Staphylococcus aureus* ile kontamine olan peynirlerden kaynaklanan gıda zehirlenmeleri. *Gıda* 2008, 33(3), 129-135.

Ladhani S. Understanding the mechanism of action of the exfoliative toxins of *Staphylococcus aureus*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 2003, 39, 181-189.

Le Loir Y, Baron F, Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research* 2003, 2(1), 63-76.

Lim SK, Nam HM, Park HJ, Lee HS, Choi MJ, Jung SC, Lee JY, Kim YC, Song SW, Wee SH. Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in raw meat in Korea. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 2010, 20(4), 775-778.

Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Clinical Investigation* 2003, 111(9), 1265-1273.

Lynch RA, Phillips ML, Elledge BL, Hanumanthaiah S, Boatright DT. A preliminary evaluation of the effect of glove use by food handlers in fast food restaurants. *Journal of Food Protection* 2005, 68(1), 187-90.

Mariutti RB, Tartaglia NR, Seyffert N, Castro TLP, Arni RK, Azevedo VA, Le Loir Y, Nishifuji K. Exfoliative toxins of *Staphylococcus aureus*. In: Enany S (ed), *The Rise of Virulence and Antibiotic Resistance in Staphylococcus aureus*. Intech Open, Londra, 2017, s 127-143.

McCallum N, Berger-Bachi B, Senn MM. Regulation of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Microbiology* 2010, 300, 118-129.

- Mehrotra M, Wang G, Johnson WM.** Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin-1, and methicillin resistance. *Journal of Clinical Microbiology* 2000, 38(3), 1032-1035.
- Moon DC, Tamang MD, Nam HM, Jeong JH, Jang GC, Jung SC, Park YH, Lim SK.** Identification of Livestock-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* isolates in Korea and molecular comparison between isolates from animal carcasses and slaughterhouse workers. *Foodborne Pathogen and Disease* 2015, 12(4), 327-333.
- Moreillon P, Que YA, Glauser MP.** *Staphylococcus aureus*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. Elsevier, Philadelphia, 2005, s 2321-2351.
- Mund MD, Khan UH, Tahir U, Mustafa BE, Fayyaz A.** Antimicrobial drug residues in poultry products and implications on public health: A review. *International Journal of Food Properties* 2017, 20(7), 1433-1446.
- Muratoğlu K, Çetin Ö, Çolak H.** Besin Kaynaklı hastalıkların epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri Gıda Hijyeni ve Teknolojisi* 2015, 1(3), 1-8.
- Müştak HK, Esenal ÖM.** *Staphylococcus aureus* ekzotoksinleri. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* 2008, 19, 69-74.
- Myles IA, Datta KD.** *Staphylococcus aureus*:an introduction. *Seminars in Immunopathology* 2012, 34(2), 181-184.
- Nassasra GIA.** Sütlerde Bulunan Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus*'un PCR Yöntemi ile Tespit Edilmesi ve SCCmec Tiplendirilmesi, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 2011, 124.
- Neuhaus FC, Baddiley J.** A continuum of anionic charge: structures and functions of D-alanyl-teichoic acids in gram-positive bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2003, 67(4), 686-723.
- Niyonzima E, Bora D, Ongol MP.** Assessment of beef meat microbial contamination during skinning, dressing, transportation and marketing at a commercial abattoir in Kigali city, Rwanda. *Pakistan Journal of Food Sciences* 2013, 23(3), 133-138.
- Normanno G, Firinu A, Virgilio S, Mula G, Dambrosio A, Decastelli L, Mioni R, Scuota S, Bolzoni G, Poggiu A, Di Giannatale E, Salinetti AP, La Salandra G, Bartoli M, Zuccon F, Pirino T, Sias S, Parisi A, Quaglia NC, Celano GV.** Coagulase-positive Staphylococci and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. *International Journal of Food Microbiology* 2005, 98, 73-79.

Normanno G, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia NC, Corrente M, Parisi A, Santagada G, Firinu A, Crisetti E, Celano GV. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. *International Journal of Food Microbiology* 2007a, 115, 290-296.

Normanno G, Corrente M, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia NC, Parisi A, Greco G, Bellacicco AL, Virgilio S, Celano GV. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in foods of animal origin product in Italy. *International Journal of Food Microbiology* 2007b, 117, 219-222.

Omoe K, Ishikawa M, Shimoda Y, Hu DL, Ueda S, Shinagawa K. Detection of *seg*, *seh*, and *sei* genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *S. aureus* isolates harboring *seg*, *seh* or *sei* genes. *Journal of Clinical Microbiology* 2002, 40(3), 857-862.

Omoe K, Imanishi K, Hu DL. Characterization of novel staphylococcal enterotoxinlike toxin type P. *Infection and Immunity* 2005, 73(9), 5540-5546.

Oniciuc EA, Nicolau AI, Hernandez M, Rodriguez-Lazaro D. Presence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the food chain. *Trends in Food Science and Technology* 2017, 61, 49-59.

Ono HK, Sato'o Y, Narita K, Naito I, Hirose S, Hisatsune J, Asano K, Hu DL, Omoe K, Sugai M, Nakane A. Identification and characterization of a novel staphylococcal emetic toxin. *Applied and Environmental Microbiology* 2015, 81(20), 7034-7040.

O'Riordan K, Lee JC. *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides. *Clinical Microbiology Reviews* 2004, 17(1), 218-234.

Ortega E, Abriouel H, Lucas R, Gálvez A. Multiple roles of *Staphylococcus aureus* enterotoxins: pathogenicity, superantigenic activity, and correlation to antibiotic resistance. *Toxins* 2010, 2, 2117-2131.

O'Seaghda M, Schooten CJ, Kerrigan SW, Emsley J, Silverman GJ, Cox D, Lenting PJ, Foster TJ. *Staphylococcus aureus* protein A binding to von Willebrand factor A1 domain is mediated by conserved IgG binding regions. *The Febs Journal* 2006, 273, 4831-4841.

Oses SM, Luning PA, Jacxsens L, Santillana S, Jaime I, Rovira J. Microbial performance of food safety management systems implemented in the lamb production chain. *Journal of Food Protection* 2012, 75(1), 95-103.

Otto M. *Staphylococcus aureus* toxins. *Current Opinion in Microbiology* 2014, 17, 32-37.

- Özdemir H, Keyvan E.** Isolation and characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from beef, sheep and chicken meat. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2016, 63, 333-338.
- Özpinar N, Gümüşsoy KS.** Phenotypic and genotypic determination of antibiotic resistant and biofilm forming *Staphylococcus aureus* isolated in Erzincan tulum cheese. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2013, 19(3), 517-521.
- Palmqvist N, Foster T, Tarkowski A, Josefsson E.** Protein A is a virulence factor in *Staphylococcus aureus* arthritis and septic death. *Microbial Pathogenesis* 2002, 33, 239-249.
- Pamuk S, Yıldırım Y, Seker E, Gürler Z, Kara R.** A survey of the occurrence and properties of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus intermedius* in water buffalo milk and dairy products in Turkey. *International Journal of Dairy Technology* 2012, 65, 1-7.
- Papadopoulos P, Papadopoulos T, Angelidis AS, Boukouvala E, Zdragas A, Papa A, Hadjichristodoulou C, Sergelidis D.** Prevalence of *Staphylococcus aureus* and of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) along the production chain of dairy products in north-western Greece. *Food Microbiology* 2018, 69, 43-50.
- Paulin S, Horn B, Hudson JA.** Factors influencing Staphylococcal enterotoxin production in dairy products. *Environmental Science and Research* 2011, 15-25.
- Paterson GK, Harrison EM, Holmes MA.** The emergence of *mecC* methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends in Microbiology* 2014, 22(1), 42-47.
- Peacock SJ, Moore CE, Justice A, Kantzanou M, Story L, Mackie K.** Virulent combinations of adhesin and toxin genes in natural populations of *Staphylococcus aureus*. *Infection and Immunity* 2002, 70(9), 4987-4996.
- Peacock SJ, Paterson GK.** Mechanisms of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annual Review of Biochemistry* 2015, 84, 577-601.
- Peetermans M, Verhamme P, Vanassche T.** Coagulase activity by *Staphylococcus aureus*: A potential target for therapy? *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 2015, 41(4), 433-444.
- Pekana A, Green E.** Antimicrobial resistance profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from meat carcasses and bovine milk in abattoirs and dairy farms of the Eastern Cape, South Africa. *International Journal of Environmental Research Public Health* 2018, 15, 1-13.
- Peles F, Wagner M, Varga L, Hein I, Rieck P, Gutser K, Kereszturi P, Kardos G, Turcsanyi I, Beri B, Szabo A.** Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine milk in Hungary. *International Journal of Food Microbiology* 2007, 118, 186-193.

- Pereira V, Lopes C, Castro A, Silva J, Gibbs P, Teixeira P.** Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal. *Food Microbiology* 2009, 26, 278-282.
- Pesavento G, Duccib B, Comodo N, Lonostro A.** Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat: A research for methicilin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Food Control* 2007, 18, 196-200.
- Pettersson H, Forsberg G.** Staphylococcal enterotoxin H contrasts closely related enterotoxins in species reactivity. *Immunology* 2002, 106, 71-79.
- Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE.** Staphylococcal Enterotoxins. *Toxins* 2010, 2, 2177-2197.
- Podpecan B, Pengov A, Vadnjaj S.** The source of contamination of ground meat for production of meat products with bacteria *Staphylococcus aureus*. *Slovenian Veterinary Research* 2007, 44 (1/2), 25-30.
- Pu S, Wang F, Ge B.** Characterization of toxin genes and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from Louisiana retail meats. *Foodborne Pathogens and Disease* 2011, 8(2), 299-306.
- Qi Y, Miller KJ.** Effect of low water activity on Staphylococcal Enterotoxin A and B biosynthesis. *Journal of Food Protection* 2000, 63(4), 473-478.
- Riva A, Borghi E, Cirasola D, Colmegna S, Borgo F, Amato E, Pontello MM, Morace G.** Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in raw milk: prevalence, SCCmec typing, enterotoxin characterization, and antimicrobial resistance patterns. *Journal of Food Protection* 2015, 78(6), 1142-1146.
- Reygaert WC.** Antimicrobial resistance mechanisms of *S. aureus*. In: Mendez-Vilas A (ed), Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. Formatex Research Center, Spain, 2013, s 297-305.
- Rolinson GN.** Forty years β -lactam research. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1198, 41, 589-603.
- Saadat YR, Fooladi AAI, Shapouri R, Hosseini MM, Khiabani ZD.** Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in organic milk and cheese in Tabriz, Iran. *Iranian Journal of Microbiology* 2014, 6(5), 345-349.
- Saka E, Terzi Gülel G.** Detection of enterotoxin genes and methicillin-resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from water buffalo milk and dairy products. *Journal of Food Science* 2018, 83(6), 1716-1722.

- Sallam KI, Abd-Elghany SM, Elhadidy M, Tamura T.** Molecular characterization and antimicrobial resistance profile of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in retail chicken. *Journal of Food Protection* 2015, 78(10), 1879-1884.
- Sancak B.** *Staphylococcus aureus* ve antibiyotik direnci. *Mikrobiyoloji Bülteni* 2011, 45(3), 565-576.
- Sancak B.** MRSA direnç mekanizmaları: Dünyada ve Türkiye’de epidemiyolojisi. *Ankem Dergisi* 2012, 26(2), 38-47.
- Sandel MK, McKillip JL.** Virulence and recovery of *Staphylococcus aureus* relevant to the food industry using improvements on traditional approaches. *Food Control* 2004, 15, 5-10.
- Schlegelová J, Nápravníková, Dendis M, Horváth, Benedík J, Babák V, Klímová E, Navrátilová P, Šusutácková.** Beef carcass contamination in a slaughterhouse and prevalence of resistance to antimicrobial drugs in isolates of selected microbial species. *Meat Science* 2004, 66, 557-565.
- Seo KS, Bohach GA.** *Staphylococcus aureus*. In: Doyle MP, Beuchat LR (eds), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. 4th ed. ASM Press, Washington, 2013, s 547-574.
- Sergelidis D, Angelidis AS.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a controversial food-borne pathogen. *Letters in Applied Microbiology* 2017, 64, 409-418.
- Sharif S, Singh M, Kim SJ, Schaefer J.** *Staphylococcus aureus* peptidoglycan tertiary structure from carbon-13 spin diffusion. *Journal of the American Chemical Society* 2009, 131, 7023-7030.
- Silverside JA, Lappin E, Ferguson AJ.** Staphylococcal toxic shock syndrome: mechanisms and management. *Current Infectious Disease Reports* 2010, 12, 392-400.
- Spaulding AR, Salgado-Pabon W, Kohler PL, Horswill AR, Leung DYM, Schlievert PM.** Staphylococcal and Streptococcal superantigen exotoxins. *Clinical Microbiology Reviews* 2013, 26(3), 442-447.
- Sudağdan M, Aydın A.** Screening virulence properties of staphylococci isolated from meat and meat products. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift* 2008, 95, 128-134.
- Swoboda JG, Campbell J, Meredith TC, Walker S.** Wall teichoic acid function, biosynthesis, and inhibition. *ChemBiochem* 2010, 11(1), 35-45.
- Şahin S, Kalın R, Arslanbaş E, Moğulkoç MN.** Satışa sunulan tavuk etlerinde bazı bakteri ve indikatör mikroorganizmaların belirlenmesi. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences* 2017, 7(1), 47-56.
- Tan SL, Lee HY, Mahyudin NA.** Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from food handler’s hands. *Food Control* 2014, 44, 203-207.

Tang JN, Kang MS, Chen HC, Shi XM, Zhou R, Chen J, Du YW. The staphylococcal nuclease prevents biofilm formation in *Staphylococcus aureus* and other biofilm-forming bacteria. *Science China Life Sciences* 2011, 54(9), 863-869.

Tang Y, Larsen J, Kjeldgaard J, Andersen PS, Skov R, Ingmer H. Methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* from retail meat in Denmark. *International Journal of Food Microbiology* 2017, 249, 72-78.

Tanih NF, Sekwadi E, Ndip RN, Bessong PO. Detection of pathogenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* from cattle and pigs slaughtered in abattoirs in Vhembe District, South Africa. *The Scientific World Journal* 2015, 1-8

Tekinşen OC. Süt Ürünleri Teknolojisi (3rd ed). Konya, Selçuk Üniversitesi Basım Evi, 2000, 217-218.

Topal M, Uslu Şenel G, Arslan Topal EI, Öbek E. Antibiyotikler ve kullanım alanları. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2015, 31(3), 121-127.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, T.C. Resmi Gazete, 29 Aralık 2011, sayı, 28157.

TSE-Türk Standartları Enstitüsü. TS 6582-1 EN ISO 6888-1, Gıda ve hayvan yemlerinin-mikrobiyolojisi-koagülaz-pozitif Stafilokokların (*Staphylococcus aureus* ve diğer türler) sayımı İçin yatay metod-bölüm 1: Baird-parker agar besiyeri kullanarak, Ankara, 2001.

TSE-Türk Standartları Enstitüsü. TSE EN ISO 17604, Gıda ve hayvan yemleri mikrobiyolojisi-Mikrobiyolojik analiz için karkasdan numune alma, Ankara, 2016.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, T.C. Resmi Gazete, 29 Aralık 2011, sayı, 28157.

Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS). Koagülaz testi, Ankara, 2015.

Umeda K, Nakamura H, Nishina K, Yamamoto N, Yasufuku K, Hirai Y, Hirayama T, Goto K, Hase A, Ogasawara J. Molecular and epidemiological characterization of staphylococcal foodborne outbreak of *Staphylococcus aureus* harboring seg, sei, sem, sen, seo, and selu genes without production of classical enterotoxins. *International Journal of Food Microbiology* 2017, 256, 30-35.

United Kingdom Standards for Microbiology Investigations. Deoxyribonuclease test-UK standards for microbiology investigation, London, 2014.

Üçüncü M. A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi 2. Cilt (2nd ed). İzmir, Ege Üniversitesi Meta Basımevi, 2004, 905-915.

Ünal S. MRSA problemi. *ANKEM Dergisi* 2009, 23(2), 1-12.

- Valihrach L, Alibayov B, Zdenkova K, Demnerova K.** Expression and production of staphylococcal enterotoxin C is substantially reduced in milk. *Food Microbiology* 2014, 44, 54-59.
- Wang X, Tao X, Xia X, Yang B, Xi M, Meng J, Zhang J, Xu B.** *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in retail raw chicken in China. *Food Control* 2013, 29, 103-106.
- Weidenmaier C, Peschel A, Xiong YQ, Kristian SA, Dietz K, Yeaman MR, Bayer AS.** DltABCD- and MprF-mediated cell envelope modifications of *Staphylococcus aureus* confer resistance to platelet microbicidal proteins and contribute to virulence in a rabbit endocarditis model. *Infection and Immunity* 2005, 73(12), 8033-8038.
- Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL.** Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. New York, Lippincott Williams Wilkins, 2006, 623-671.
- Xu Z, Peters BM, Li B, Li L, Shirtliff ME.** Staphylococcal food poisoning and novel perspectives in food safety. In: Makun H (ed), Significance, Prevention and Control of Food Related Diseases. Intech Open, Londra, 2016, s 159-213.
- Yang F, Wang Q, Wang X, Wang L, Li X, Luo J, Zhang S, Li H.** Genetic characterization of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis cases in Northwest China. *Journal of Integrative Agriculture* 2016, 15(12), 2842-2847.
- Yıldırım Z, Ceylan Ş, Öncü N.** Tokat piyasasında satışı sunulan tavuk etlerinin mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi. *Akademik Gıda* 2015, 13(4), 304-316.
- Yılmaz İ, Gümüş T.** Sığır karkaslarının mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi. Türkiye 10. Gıda Kongresi, s 525-528, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.
- Yurdakul NE, Erginkaya Z, Ünal E.** Antibiotic resistance of Enterococci, coagulase negative Staphylococci and *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat. *Czech Journal of Food Sciences* 2013, 31(1), 14-19.
- Yüce A.** Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. *Klimik Dergisi* 2001, 14, 41-46.
- Zhang S, Iandolo JJ, Stewart GC.** The enterotoxin D plasmid of *Staphylococcus aureus* encodes a second enterotoxin determinant (sej). *FEMS Microbiology Letters* 1998, 168, 227-233.
- Zecconi A, Scali F.** *Staphylococcus aureus* virulence factors in evasion from innate immun defenses in human and animal diseases. *Immunology Letters* 2013, 150, 12-22.

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : KIZANLIK KOÇAK Pelin
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Emirdağ/AFYONKARAHİSAR-07.07.1987
Telefon : 0256 2470707-325
E-mail : pelin.kocak@adu.edu.tr
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	Devam Ediyor
Y. Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	2014
Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	2010

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2012-	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi	Araş. Gör.

AKADEMİK YAYINLAR

1.MAKALELER

Kocak Kızanlık P, Göksoy EO. Microbiological quality evaluation of various types of cheese. *Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University* 2018, 15(2), 86-93.

Koksal BH, Cengiz O, Ahsan U, Sevim O, Tatlı O, Beyaz D, Buyukyoruk S, Boyacioglu M, Kuter E, **Kocak Kızanlık P**, Kaya M. Effect of dietary prebiotics supplementation on growth performance, relative carcass and organ yields, gut microbiome, and blood malondialdehyde level of broilers subjected to post-hatch feed and water restriction. *European Poultry Science* 2018, 82.

Unsal C, Balkaya M, Unsal H, Beyaz D, **Kocak P**, Koc Yildirim E, Sahiner C. Short-term effects of the clinoptilolite on cecal microbiota of male Japanese Quail (*Coturnix Coturnix Japonica*). *Animal Health, Production and Hygiene* 2016, 5(1), 443-446.

Kocak P, Goksoy EO, Kok F, Beyaz D, Buyukyoruk S. Occurrence of Aflatoxin M1 in flavored UHT milk. *Veterinary Journal of Ankara University* 2015, 62(3), 217-222.

Kok F, Sahiner C, **Kocak P**, Goksoy EO, Beyaz D, Buyukyoruk S. Determination of microbiological quality of stuffed mussels sold in Aydın and İzmir. *Manas Journal of Engineering* 2015, 3(1), 70-76.

Buyukyoruk S, Beyaz D, Goksoy EO, Kok F, **Kocak P**. Microbiological evaluation of ready-to-eat sandwiches served near hospitals and schools. *Veterinary Journal of Ankara University* 2014, 61(3), 193-198.

Buyukyoruk S, Ayaz ND, Gencay YE, Beyaz D, **Kocak P**. Species distribution, molecular characteristics and vancomycin resistance gene profiles of Enterococcus sp isolates from farmhouse cheeses in western Turkey. *International Journal Of Dairy Technology* 2014, 67(1), 103-109.

2. PROJELER

Koçak Kızanlık P, Göksoy EO. Çeşitli kaynaklardan izole edilen *Staphylococcus aureus*'un bazı virulens özelliklerinin belirlenmesi. ADÜ, BAP VTF-17033.

Beyaz D, Büyükyörük S, **Koçak Kızanlık P**, Şahiner C, Göksoy EÖ, Kök F. Aydın ilinde tüketime sunulan çiğ süt, pastörize süt ve dondurmalarda *Yersinia enterocolitica* varlığının belirlenmesi. ADÜ, BAP VTF-15014.

Göksoy EÖ, Kök F, Beyaz D, Büyükyörük S, **Koçak Kızanlık P**, Şahiner C. Beyaz Peynir Üretiminde Kullanılan Süt Tipi ve Kültürlerin Peynirin Üretim Uygulamaları, Kompozisyonu, Duyusal Özellikleri ve Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerine Olan Etkileri. ADÜ, BAP VTF-14045.

Koçak P, Göksoy EO. Aydın ilindeki mandıralarda satışa sunulan beyaz, tulum, kaşar ve lor peynirlerinin mikrobiyolojik kalitesinin araştırılması. ADÜ, BAP VTF-12044.

3. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

Koçak Kızanlık P, Göksoy EÖ, Şahiner C, Kök F, Beyaz D, Büyükyörük S. Bakterilerde Çapraz Direnç. 7. Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, 4-8 Ekim 2017, Aydın.

Şahiner C, Kök F, **Koçak Kızanlık P**, Göksoy EÖ, Beyaz D, Büyükyörük S. İşlenmiş balık ürünü olarak surimi teknolojisi. 7. Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, 4-8 Ekim 2017, Aydın.

Koçak Kızanlık P, Göksoy EÖ, Şahiner C, Kök F, Beyaz D, Büyükyörük S. Sığır karkaslarında *Salmonella spp.* ve *Escherichia coli* O157:57 varlığı. 7. Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, 4-8 Ekim 2017, Aydın.

Koksal BH, Cengiz O, Sevim O, Tatlı O, Beyaz D, Buyukyoruk S, Boyacıoğlu M, Kuter E, **Kocak P**, Kaya M, Onol A. Effects of dietary prebiotic addition to diets on growth performance and intestinal microflora in broilers exposed to delay feed and water access after hatch. 4. International Poultry Meat Congress, s 220-226, 26-30 Nisan 2017, Antalya.

Göksoy EÖ, **Koçak P**, Şahiner C, Kök F, Beyaz D, Büyükyörük S. Determining the effects of hide cleanliness scores on contamination levels. Uluslararası Hayvansal Gıdalar Kongresi, s 301-302, 10-13 Kasım 2016, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti.

Goksoy EO, **Kocak P**, Sahiner C, Kok F, Beyaz D, Buyukyörük S, Demirpence H. The association between hide cleanliness scores and carcass contamination levels during slaughter procedures. 3rd International Vetistanbul Group Congress, s 50, 17-20 Mayıs 2016, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina.

Sahiner C, Kök F, **Kocak P**, Goksoy EO, Beyaz D, Buyukyörük S. Hazards of dioxins in foods. 3rd International Vetistanbul Group Congress, s 149-150, 17-20 Mayıs 2016, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina.

Kök F, Şahiner C, **Koçak P**, Göksoy EÖ, Beyaz D, Büyükyörük S. Aydın ve İzmir bölgesinde satışa sunulan midye dolmaların mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. 5. Gıda Güvenliği Kongresi, s 154, 7-8 Mayıs 2015, İstanbul.

B) Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler

Koçak P, Göksoy EÖ. Türkiye'nin Batı Ege Bölgesi'nde mandıralarda üretilip satışa sunulan beyaz, tulum, kaşar ve lor peynirlerinin mikrobiyolojik kalitesinin araştırılması. 6. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni ve Kongresi, s 188-189, 7-11 Ekim 2015, Van.

Koçak P, Şahiner C, Göksoy EÖ, Kök F, Beyaz D, Büyükyörük S. Aydın ilinde tüketilen bazı sütlü tatlıların mikrobiyolojik kalitelerinin araştırılması. 6. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni ve Kongresi, s 190-191, 7-11 Ekim 2015, Van.

Beyaz D, Büyükyörük S, Kök F, Göksoy EÖ, **Koçak P**. Aydın ilinde tüketime sunulan dondurmaların mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi. 5. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni ve Kongresi, s 87-88, 3-6 Nisan 2013, Antalya.

Büyükyörük S, Beyaz D, Göksoy EÖ, Kök F, **Koçak P**, Tuzcu N, Şahan Ö. Tahıl kökenli geleneksel bir türk içeceği olan bozanın fermantasyonu ve olgunlaştırılması aşamasında *Listeria monocytogenes*'in canlılığının belirlenmesi. 5. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni ve Kongresi, s 15-16, 3-6 Nisan 2013, Antalya.

Büyükyörük S, Ayaz ND, Gencay YE, Beyaz D, **Koçak P**. Türkiye'nin batısında ev yapımı peynirlerinden izole edilen enterokok türlerinin dağılımı, moleküler özellikleri ve vankomisin dirençli gen profillerinin belirlenmesi. 5. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni ve Kongresi, s 13-14, 3-6 Nisan 2013, Antalya.

Büyükyörük S, Beyaz D, Göksoy EÖ, Kök F, **Koçak P**. Aydın'da hastane ve okul çevresinde bulunan kafeteryalardan temin edilen tüketime hazır sıcak sandviçlerin mikrobiyolojik

değerlendirilmesi", 5. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni ve Kongresi, s 91-92, 3-6 Nisan 2013, Antalya.

Kök F, Göksoy EÖ, Beyaz D, Büyükyörük S, **Koçak P**. Lor ve çökelek peynirlerinde Aflatoksin M1 miktarının ELISA ile belirlenmesi. 5. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni ve Kongresi, s 187-188, 3-6 Nisan 2013, Antalya.

Koçak P, Göksoy EÖ. Aromalı UHT sütlerde Aflatoksin M1 varlığının ve miktarının belirlenmesi. 10. Ulusal Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Kongresi, 24-27 Eylül 2012, Aydın.

Tekgül Y, **Koçak P**, Göksoy EÖ, Kök F. Aydın ilinde satışa sunulan meyveli yoğurtların mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri. Süt Endüstrisinde Yenilikçi Yaklaşımlar Sempozyumu, s 119, 15-16 Kasım 2012, Denizli.