

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ DOKTORA PROGRAMI

**AYDIN İLİNDE ÇEŞİTLİ NOKTALARDA SATIŞA SUNULAN
TULUM VE BEYAZ PEYNİRLERDE *STAPHYLOCOCCUS
AUREUS* VARLIĞININ VE KLASİK ENTEROTOKSİN
GENLERİNİN BELİRLENMESİ**

ALİCAN TAŞÇIOĞLU
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ergün Ömer GÖKSOY

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-20004 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2022

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim sürecinde; bilgi birikimi, emeği, sabrı, Őefkatli yaklaşımı ve her konudaki desteği ile hep yanımda olan, ahlaki ve insani değerleri ile de örnek aldığım kıymetli danışmanım Sayın Prof. Dr. Ergün Ömer GÖKSOY'a, eğitim sürecim boyunca verdikleri katkılar ve destekleri için Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Filiz KÖK'e, Dr. Öğr. Üyesi Devrim BEYAZ'a ve Dr. Öğr. Üyesi Sadık BÜYÜKYÖRÜK'e, lisansüstü eğitim sürecimin tamamında yardımlarını hiçbir şekilde esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Pelin KOÇAK KIZANLIK'a, Dr. Öğr. Üyesi Cemil ŐAHİNER'e ve yardımlarından dolayı yüksek lisans öğrencisi Diyetisyen Fadime ACAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sırasında moleküler analizlerin yapımında laboratuvar imkanlarını sunan Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatımın bütün döneminde, maddi ve manevi her konuda verdiği sonsuz destek ile daima yanımda olan annem Yıldız KARADAŐ TAŐŐIOĐLU'na, babam Mehmet Gürcan TAŐŐIOĐLU'na, abim Doç. Dr. Mertcan TAŐŐIOĐLU'na ve desteğini esirgemeyen Öğr. Gör. Mustafa Seçkin AYDIN'a ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Peynir Hakkında Genel Bilgiler	4
2.1.1. Dünyada ve Türkiye’de Peynirin Üretim ve Tüketim Verileri	5
2.1.2. Türkiye’de Üretilen Yöresel Peynirler	7
2.1.3. Peynir Üretimi	9
2.1.3.1. Peynirin Pıhtılaşması	9
2.1.3.2. Peynir Üretim Basamakları	11
2.1.3.3. Tulum Peyniri	12
2.1.3.4. Beyaz Peynir	14
2.1.4. Peynir Üretiminde Hijyen ve HACCP Uygulamaları	16
2.1.5. Mikroorganizmaların Peynirleri Kontamine Etme Şekilleri	18
2.2. <i>S. aureus</i>	19
2.2.1. <i>S. aureus</i> ’un Gelişimine ve Enterotoksin Oluşumuna Etki Eden Faktörler	20

2.2.1.1. Su Aktivitesi	22
2.2.1.2. pH Etkisi	22
2.2.1.3. Atmosfer Etkisi	22
2.2.1.4. Sıcaklık Etkisi	22
2.2.1.5. Sodyum Klorür Etkisi	23
2.2.2. <i>S. aureus</i> 'un Virulens Faktörleri	23
2.2.2.1. Kapsül	23
2.2.2.2. Hücre Duvarı	24
2.2.2.3. Yüzey Proteinleri	24
2.2.2.4. Enzimler ve Toksinler	24
2.2.2.4.1. Stafilokokal Enterotoksinler	27
2.2.3. Stafilokokal Gıda İntoksikasyonlarının ve Gıda Alanında <i>S. aureus</i> 'un Yayılım Durumu	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1. Gereç	35
3.2. Yöntem	35
3.2.1. Standart Bakteriyoloji ile <i>S. aureus</i> 'un İzole Edilmesi	35
3.2.2. <i>S. aureus</i> 'un İdentifike Edilmesi	36
3.2.2.1. Gram Boyama	36
3.2.2.2. Katalaz Testi	37
3.2.2.3. Lam Koagulaz Testi	38
3.2.2.4. Tüp Koagulaz Testi	38
3.2.2.5. DNaz Testi	39
3.2.2.6. Mannitol Fermantasyon Testi	40
3.2.2.7. Lateks Aglütinasyon Testi	41
3.2.2.8. Otomatize İdentifikasyon Cihazı ile İdentifikasyon	42

3.2.3. <i>S. aureus</i> 'un Genotipik Olarak İdentifike Edilmesi	43
3.2.3.1. DNA Ekstraksiyonu	43
3.2.3.2. <i>S. aureus</i> 'un PCR ile Tanımlanma Aşamaları	43
3.2.3.2.1. <i>nuc</i> ve <i>16S rRNA</i> Geninin Multipleks PCR Yöntemi ile Tespit Edilmesi	44
3.2.3.2.2. <i>coa</i> Geninin PCR Yöntemi ile Tespit Edilmesi	45
3.2.3.3. <i>S. aureus</i> 'un Klasik Enterotoksin Genlerinin Belirlenmesi	47
3.2.3.4. PCR ile Elde Edilen Örneklerin Agaroz Jel Elektroforez ile Görüntülenmesi	50
4. BULGULAR	51
4.1. Peynir Örneklerinin <i>S. aureus</i> ile Kontaminasyon Düzeyleri	53
4.2. <i>S. aureus</i> Kontaminasyonu Tespit Edilen Örneklerde Enterotoksin Genlerinin Varlığı	54
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	64
KAYNAKLAR	65
ÖZ GEÇMİŞ	80

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
®	: Kayıtlı Tescilli Marka
°C	: Santigrat Derece
AB	: Avrupa Birliği
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
a_w	: Water Activity (Su Aktivitesi)
bp	: Base Pair (Baz çifti)
CaCl₂	: Kalsiyum Klorür
CDC	: Hastalık Kontrol ve Engelleme Merkezi (The Centers for Disease Control and Prevention)
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DNaz	: Deoksiribonükleaz
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ECDC	: Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (European Centre for Disease Prevention and Control)
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority)
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HACCP	: Hazard Analysis and Critical Control Points (Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları)
HCl	: Hidroklorik Asit
kDa	: Kilodalton
M	: Molarite
MgCl₂	: Magnezyum Klorür

µl	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
µm	: Mikrometre
MRSA	: Methicillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>)
N	: Normalite
NaCl	: Sodyum Klorür
NB	: Nutrient Broth
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
pmol	: Pikomol
PVA	: Panton Valentine Lökosidin
RNA	: Ribo Nükleik Asit
rpm	: Revolutions Per Minute (Dakikadaki Dönme Sayısı)
SE	: Staphylococcal Enterotoxin (Stafilokokal Enterotoksin)
SEI	: Staphylococcal Enterotoxin Like Toxin (Stafilokokal Enterotoksin Benzeri Toksin)
SpA	: Stafilokokal Protein A
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
TSA	: Tryptone Soya Agar
TSST-1	: Toxic Shock Syndrome Toxin-1 (Toksik Şok Sendromu Toksin-1)
™	: Tescilli Marka
USK	: Ulusal Süt Konseyi
UV	: Ultraviyole Işık

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Türkiye'deki yöresel peynir haritası	8
Şekil 2.	Rennetin kazein miselleri üzerindeki etkisi	10
Şekil 3.	Genel peynir üretimi aşamaları	11
Şekil 4.	İzmir tulum peyniri üretimi ile ilgili aşamalar	13
Şekil 5.	Beyaz peynir üretimi ile ilgili aşamalar	15
Şekil 6.	Enterotoksijenik <i>S. aureus</i> suşları tarafından üretilen enterotoksin intoksikasyon mekanizması	30

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	<i>S. aureus</i> kolonilerinin Baird Parker Agar'da oluşan tipik görünümü	36
Resim 2.	Katalaz testi uygulanan pozitif örneğin görüntüsü	37
Resim 3.	Lam koagulaz testi uygulanan pozitif örneğin görüntüsü	38
Resim 4.	Tüp koagulaz testi uygulanan pozitif örneğin görüntüleri	39
Resim 5.	DNaz testi uygulanan pozitif örneklerin görüntüleri	40
Resim 6.	Mannitol fermantasyon testi uygulanan pozitif (sarı renk) ve negatif (kırmızı renk) örneğin görüntüleri	41
Resim 7.	Lateks aglütinasyon testi uygulanan pozitif örneğin test ve kontrol görüntüleri	42
Resim 8.	<i>16S rRNA</i> geni ile birlikte <i>nuc</i> geni tespit edilmiş olan örneklerin elektroforez görüntüsü	51
Resim 9.	<i>coa</i> geni tespit edilmiş olan örneklerin elektroforez görüntüsü	52
Resim 10.	<i>S. aureus</i> enterotoksin tespit edilmiş olan örneklerin elektroforez görüntüsü	55

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.	Dünyada peynir üretiminde lider ülkeler	6
Tablo 2.	Türkiye’de yıllara göre peynir üretim miktarları	6
Tablo 3.	Dünyada peynir tüketimi	7
Tablo 4.	<i>S. aureus</i> ’un üremesi ve toksin üretmesi için gerekli fizyolojik koşullar ...	21
Tablo 5.	Bazı Stafilokokal Enterotoksinler (SE) ve özellikleri	29
Tablo 6.	ABD’de 2015-2017 yıllarında bildirilmiş olan stafilokokal gıda intoksikasyonları ile ilgili veriler	31
Tablo 7.	AB’de 2018-2020 yıllarında bildirilmiş olan stafilokokal gıda intoksikasyonları ile ilgili veriler	32
Tablo 8.	<i>nuc</i> ve <i>16S rRNA</i> geni için kullanılmış olan primerler	44
Tablo 9.	<i>nuc</i> ve <i>16S rRNA</i> geni için mastermiks hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve hacimleri	44
Tablo 10.	<i>nuc</i> ve <i>16S rRNA</i> geni için gerçekleştirilen PCR işlemlerine ait parametre değerleri	45
Tablo 11.	<i>coa</i> geni için kullanılmış olan primerler	46
Tablo 12.	<i>coa</i> geni için mastermiks hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve hacimleri	46
Tablo 13.	<i>coa</i> geni için gerçekleştirilen PCR işlemlerine ait parametre değerleri	47
Tablo 14.	<i>S. aureus</i> enterotoksin genleri için oluşturulan PCR seti	47
Tablo 15.	<i>S. aureus</i> enterotoksin Set 1 için kullanılmış olan primerler	48
Tablo 16.	<i>S. aureus</i> enterotoksin Set 1 için mastermiks hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve hacimleri	49
Tablo 17.	<i>S. aureus</i> enterotoksin Set 1 için gerçekleştirilen PCR işlemlerine ait parametre değerleri	49

Tablo 18.	<i>S. aureus</i> ile kontamine olan peynir örneklerinin dağılımları	53
Tablo 19.	İncelenen peynir örneklerinin <i>S. aureus</i> ile olan kontaminasyon düzeyleri	53
Tablo 20.	Enterotoksin geni tespit edilen <i>S. aureus</i> izolatlarının incelenen peynir örneklerine göre dağılımları	54
Tablo 21.	Tespit edilen örneklere ait <i>S. aureus</i> izolatlarında enterotoksin genlerinin varlığı	56

ÖZET

AYDIN İLİNDE ÇEŞİTLİ NOKTALARDA SATIŞA SUNULAN TULUM VE BEYAZ PEYNİRLERDE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* VARLIĞININ VE KLASİK ENTEROTOKSİN GENLERİNİN BELİRLENMESİ

Taşcıoğlu A. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2022.

Amaç: Bu çalışma, Aydın ilinin çeşitli ilçelerindeki farklı mandıralarda üretilip satışa sunulan tulum ve beyaz peynirlerde *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) varlığının araştırılması ve izole edilen izolatlardan klasik stafilokokal enterotoksin genlerinin (*sea - see*) belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada 2021 yılında Aydın ilinin çeşitli ilçelerindeki (Çine, Efeler, İncirliova, Köşk, Kuşadası, Nazilli, Söke) farklı mandıralarda üretilen ve satışa sunulan 100 adet peynir örneği (50 tulum peyniri, 50 beyaz peynir) steril poşetler içerisinde, soğuk zincir altında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Laboratuvarına getirilerek *S. aureus* ve klasik enterotoksin genlerinin varlığı yönünden incelemeye tabi tutulmuştur.

Bulgular: Çalışma kapsamında incelenen 100 adet peynir örneğinin 18 tanesinin *S. aureus* ile kontamine olduğu tespit edilmiştir ve 18 örneğin 18'inin (%100) PCR ile doğrulanması gerçekleştirilmiştir. Analizleri yapılan 50 adet tulum peyniri örneklerinden 9'unun (%18) ortalama 4,92 log kob/g düzeyinde, 50 adet beyaz peynirin 9'unun (%18) ortalama 5,56 log kob/g düzeyinde, tüm peynir örneklerinin ortalama 5,24 log kob/g düzeyinde *S. aureus* ile kontaminasyonu tespit edilmiştir. Tulum peyniri örneklerine ait *S. aureus* izolatlarından 4 tanesinin (%44,4), beyaz peynir örneklerinden 2 tanesinin (%22,2), toplamda ise 6 tanesinin (%33,3) klasik enterotoksin genlerinden (*sea, seb, sec, sed, see*) en az birine sahip olduğu belirlenmiştir. Toplamda izole edilen 6 enterotoksijenik izolatta 3 tane *sea*, 3 tane *sed* ve 2 tane *seb* geni bulunmuştur. Peynir izolatlarının hiçbirinde *sec* ve *see* genlerinin varlığı saptanmamıştır.

Sonuç: İncelenen peynir örneklerinin *S. aureus* ile çeşitli düzeylerde kontamine olduğu tespit edilmiştir ve *S. aureus* içeren peynir izolatlarının bir kısmının klasik enterotoksin genlerini taşıdığı belirlenmiştir. İncelenen peynirlerde gıda hijyeninin yeterli düzeyde olmadığı, örneklerde belirlenen enterotoksinlerin gıda zehirlenmelerine sebebiyet verebileceği ve halk sağlığı açısından tehdit oluşabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: Beyaz peynir, Halk sağlığı, Stafilokokal enterotoksin, *Staphylococcus aureus*, Tulum peyniri.

ABSTRACT

DETERMINATION OF PRESENCE OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN TULUM AND WHITE CHEESE AND CLASSICAL ENTEROTOXIN GENES SOLD IN VARIOUS POINTS OF AYDIN PROVINCE

Taşcıoğlu A. Aydın Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences, Department of Food Hygiene and Technology (Veterinary), PhD Thesis, Aydın, 2022.

Objective: This study was carried out to investigate the presence of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) in tulum and white cheese produced and sold in different dairy farms in various districts of Aydın and to determine the classical staphylococcal enterotoxin genes (*sea - see*) in isolated strains.

Material and Methods: In this study, 100 cheese samples (50 tulum cheese, 50 white cheese) produced and offered for sale in different dairy farms in various districts of Aydın (Çine, Efeler, İncirliova, Köşk, Kuşadası, Nazilli, Söke) in 2021 were packed in sterile bags, and brought to Aydın Adnan Menderes University Faculty of Veterinary Medicine Department of Food Hygiene and Technology Laboratory under cold chain and examined for the presence of *S. aureus* and classical enterotoxin genes.

Results: Eighteen of 100 cheese samples examined within the scope of the study were found to be contaminated with *S. aureus*, and 18 of 18 samples (100%) were confirmed by PCR. 9 of 50 tulum cheese samples (18%) were analyzed at an average of 4.92 log cfu/g, 9 of 50 white cheeses (18%) were at an average of 5.56 log cfu/g, and contamination of all cheese samples with *S. aureus* was determined at an average level of 5.24 log cfu/g. It was determined that 4 of the *S. aureus* isolates of tulum cheese samples (44.4%), 2 of the white cheese samples (22.2%), and 6 of them in total (33.3%) had at least one of the classical enterotoxin genes (*sea, seb, sec, sed, see*). In total, it was determined that 6 enterotoxigenic isolates carried 3 of the *sea*, 3 of the *sed*, and 2 of the *seb* genes. The presence of *sec* and *see* genes was not detected in any of the cheese isolates.

Conclusion: It was determined that the cheese samples examined were contaminated with *S. aureus* at various levels and some of the cheese isolates containing *S. aureus* were found to

carry classical enterotoxin genes. It has been concluded that the food hygiene in the cheese samples examined is not at a sufficient level, that the enterotoxins determined in the samples may cause food poisoning and may pose a threat to public health.

Keywords: Public health, Staphylococcal enterotoxin, *Staphylococcus aureus*, Tulum cheese, White cheese.

1. GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 19 Mayıs 2022 tarihinde yayımlanmış olduğu gıda güvenliği ile ilgili raporda, her yıl 10 kişiden yaklaşık olarak 1 tanesinin kontamine olmuş gıdaları tükettikten sonra hastalandığı ve bununla birlikte yılda yaklaşık 420.000 insanın öldüğü belirtilmektedir. Raporda güvenli olmayan gıdaların gıda zehirlenmelerine ve kanser gibi hastalıklara sebebiyet verebildiği belirtilirken, gıda kaynaklı zehirlenmelerin ve hastalıkların sağlık sistemlerini zorlayabileceği, ulusal ekonomilere zarar vererek kalkınmayı engelleyebileceğinden bahsedilmektedir (DSÖ, 2022).

S. aureus, su ve hava gibi doğal çevrede, insanların, memeli hayvanların ve kuşların derilerinde ve mukoza zarının doğal florasında bulunmaktadır ve böylece etken çok çeşitli kaynaklardan gıdalara bulaşabilmektedir. Özellikle insanlar taşıyıcı olarak etkeni gıdalara bulaştırabilmektedirler. Bu şekilde olan bulaşma; gıda işçileri tarafından gıdaların hazırlanması esnasında deri yolu ile gıdaya temas edilmesi, öksürme ve solunum yolu damlacığının gıdaya bulaşması aracılığı ile gerçekleşebilmektedir. Gıda işletmelerinde kullanılan kontamine durumdaki alet ve ekipmanlar aracılığı ile de gıdalara bulaşma oluşabilmektedir (Sağlam ve Şeker, 2016; Park ve Seo, 2019; Tarris ve diğerleri, 2021).

Gıda kaynaklı zehirlenmelerin en yaygın nedenlerinden bir tanesi *S. aureus*'dur. Stafilokokal gıda zehirlenmesi, *S. aureus* tarafından üretilen enterotoksinlerin kontamine durumda olduğu gıdaların tüketilmesi ile gerçekleşmektedir. Etkenin gıdada çoğalması ve toksin üretilmesi ile birlikte gıdanın kalitesinde herhangi bir değişiklik oluşmamaktadır. Enterotoksinler ısı, asitlik veya ışınlama gibi çevresel stres koşullarına karşı oldukça direnç göstermektedirler. Bu nedenle, gıdaların ısıtılması gibi ısı işlemler ile birlikte etkenin kendisi inaktive edilse bile enterotoksinler aktif bir biçimde gıdada kalabileceğinden dolayı gıda zehirlenmelerine yol açabilmektedirler (Bibek ve Bhunia, 2021; Etter ve diğerleri, 2022).

Süt ve süt ürünleri, et ve et ürünleri ve yumurta ürünleri gibi yüksek protein içeren gıdalar ile salatalar, unlu mamuller, sandviç gibi gıda ürünleri *S. aureus*'un gelişebilmesi için uygun ortam oluşturarak stafilokokal gıda zehirlenmesine sebebiyet verebilmektedirler. Enterotoksin içeren gıdanın tüketilmesi ile birlikte ani bir şekilde başlayan karın ağrısı ve mide bulantısı ile kusma, ishal gibi semptomlar görülebilmektedir (Fetsch ve diğerleri, 2014; Tayar ve Hecer, 2015).

Yüksek besin değerine, kendine özgü lezzete ve aromaya sahip olan, hem gıda sektörü hem de tüketiciler için önemli bir süt ürünü olan peynirlerin yapısı, mikroorganizmaların gelişmesi için elverişli bir ortam sağlayabilmektedir. Peynirlerin neden olduğu gıda zehirlenmelerinin önemli bir kısmını da *S. aureus* oluşturmaktadır. Peynir üretiminde kullanılan çiğ sütler, üretimde kullanılan kontamine durumdaki alet ile ekipmanlar, gıda ile teması olan personeller ve peynir işletmesinde yeterli hijyenik koşulların sağlanamaması gibi etkenler de peynire *S. aureus* bulaşmasına neden olabilmektedirler (Baran ve diğerleri, 2017; Johler ve diğerleri, 2018; Güngören ve diğerleri, 2022).

S. aureus tarafından üretilen stafilokokal enterotoksinler arasında klasik enterotoksinler (SEA, SEB, SEC, SED, SEE) ve yeni tanımlanmış olan bazı enterotoksinler bulunmaktadır. Klasik enterotoksinler genellikle stafilokokal gıda zehirlenmeleri ile ilişkilendirilmektedir (Johler ve diğerleri, 2015, Zeaki ve diğerleri, 2019).

Gıda kaynaklı patojenlerin konvansiyonel yöntemlerle tespit edilme süresi uzun sürebilmektedir. Konvansiyonel yöntemler ile birlikte son yıllarda moleküler biyoloji yöntemlerinin gelişmesi sonucunda, gıda kaynaklı patojenlerin tespit edilmesi için moleküler düzeyde tespit etme ve karakterize etme yöntemleri kullanılmaktadır. *S. aureus*'un tespitinin yapılabilmesi için bu yöntemlerden biri olan Polimeraz Zincir Reaksiyonundan (Polymerase Chain Reaction - PCR) sıklıkla yararlanılmaktadır (Zhao ve diğerleri, 2020).

S. aureus, dünyadaki gıda kaynaklı hastalık tahminlerinde sıklıkla bahsedilmekte ve dünya çapındaki büyük gıda zehirlenmesi salgınlarında temel etken olarak tanımlanmaktadır. Diğer yandan bireylerde stafilokokal gıda zehirlenmelerinin hastaneye yatmadan çözülebileceği düşünülebildiğinden dolayı, birçok vakanın bildirilmemesinin olağan bir durum olduğu düşünülebilir. Stafilokokal gıda zehirlenmeleri çoğu zaman yaşamı tehdit eden bir hastalığa dönüşmezken, bu zehirlenmelerin fazlaca yaşanması ekonomiye ciddi zarar vermekte ve üretimde ciddi kayıplara sebep olmaktadır (Fisher ve diğerleri, 2018).

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority - EFSA) ve Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (European Centre for Disease Prevention and Control - ECDC) tarafından yayımlanan Avrupa Birliği'nde 2019 yılında gıdaların neden oldukları intoksikasyon raporu incelendiğinde, stafilokokal intoksikasyonların hastaneye en fazla yatış sayısına neden olan patojenler içinde 7. sırada olduğu tespit edilmektedir. Aynı raporda kontrolleri gerçekleştirilen gıda örnekleri arasında bulunan peynir numunelerinin stafilokokal enterotoksin taşıdığı bildirilmiştir (EFSA ve ECDC, 2021).

Peynirlerdeki *S. aureus* varlığının ve etkenin hastalığa sebebiyet veren enterotoksinlerinin tespiti, halk sağlığı ve gıda güvenliği açısından oldukça önemlidir. Bu bağlamda, gerçekleştirilen tez çalışmasında Aydın ilinin çeşitli ilçelerindeki farklı mandıralarda üretilip satışa sunulan tulum ve beyaz peynirlerde *S. aureus* varlığının araştırılması ve izole edilen izolatlardan temel stafilokokal enterotoksin genlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Peynir Hakkında Genel Bilgiler

Peynir; süt, yağsız veya kısmen yağsız süt, krema, peynir altı suyu kreması, yayık altı gibi materyallerin ya da bunların karışımlarının peynir mayası olarak adlandırılan proteolitik enzimler veya organik asitler aracılığı ile pıhtılaştırılması, pıhtıdan peynir altı suyunun ayrılması ve pıhtının farklı şekillerde işlenmesi sonucunda oluşan bir ürün olarak tanımlanmaktadır (nc, 2020; Bisig ve Everett, 2021).

Peynir retim sürecinde sütün tüketim veya raf ömrünü uzatmak için gerekli olan dehidrasyon ve fermantasyon işlemleri yer almaktadır. Peynir retimindeki fermantasyon ile birlikte sütün temel bileşenlerinin korunması sağlanmaktadır. İçeriğinde temel süt proteini olan kazein ile birlikte, laktoz, kalsiyum fosfat, peynir altı suyu ve tuz gibi bileşenler bulunmakla birlikte peynir, kendine has bir tada ve aromaya sahiptir (Gürsoy ve Budak, 2019; Bisig ve Everett, 2021).

İnsan hayatında besin olarak önemli yer tutan süt ürünlerinden biri olan peynirin üretimi ve tüketimi çok geçmiş yıllara dayanmaktadır (Bylund, 2015; Keum, 2019). Peynir yapımının ilk olarak tarih öncesi çağlarda, günümüzden yaklaşık 9500 yıl önce Mezopotamya'nın Bereketli Hilal (Fertile Crescent) olarak adlandırılan, Dicle ve Fırat nehirleri arasında kalan Orta Doğu bölgesi çevresinde yapıldığına ve peynirin o dönemden miras kaldığına inanılmaktadır (Keum, 2019). Bisig ve Everett (2021) ise peynirin keşfini yaklaşık 8000 yıl öncesine dayandırmaktadır. Buna göre, Irak topraklarındaki bölgede yaşayan göçebeler tarafından kullanım ömrü arttırılmak istenen sütün, geviş getiren bir hayvanın midesinde tutularak yolculuk esnasında çalkalanması ve ısıya maruz kalması sonucu pıhtılaşıp peynir altı suyundan ayrılmasıyla peynirin keşfedildiği düşünülmektedir (Bisig ve Everett, 2021).

mlek kullanmaya başlayan avcı toplayıcılar ve ilk tarım toplumları diyetlerinde önemli bir yere koydukları süt ve süt ürünlerini hızla benimsemişlerdir. Sütün işlenmesi sonucu ortaya çıkan peynirin, sütle karşılaştırıldığında daha geç bozulması ve daha kolay taşınabilir özellikte olmasının yanı sıra daha rahat sindirilebilir olması peynirin insan beslenmesinde ilk dönemlerde önemli bir besin maddesi olarak yer almasını sağlamıştır (Salque ve diğerleri, 2013).

Laktik asit bakterileri sütü asitleştirmek yoluyla diğer bakteriler için elverişli olmayan koşullar oluşturmuş ve ilk zamanlar bu bakterilerle kontamine olan sütün, hayvan midelerinden yapılmış saklama kaplarında pıhtılaşması sonucunda peynirin ilk versiyonu olarak da anılan krem peynir haline gelmiştir. Bir anlamda asit ortam, sütün içerisinde yer alan proteinlerin pıhtılaşmasına sebep olmuştur. Birkaç yüz yıl sonra pıhtılaştırıcı enzimlerin insanlar tarafından keşfedilmesiyle beraber peynirde ekşilik azalmış ve sütün çeşitli bakteri, maya ve küflerle doğal bir etkileşime girmesi sonucu olgunlaşmasıyla peynirde çok farklı tatların ortaya çıkması sağlanmıştır (Johnson, 2001).

Peynir, ilk çağlardan günümüze kadar olan süre içerisinde Anadolu’da da üretilmektedir. Osmanlı İmparatorluğunun kuruluş yıllarında, hayvancılık ile uğraşan göçebe halkın yaşamında peynirin önemli bir yere sahip olduğu düşünülmektedir (Gürsoy ve Budak, 2019).

Peynirlerin tat ve özellikleri, üretildiği yerlerdeki iklimlere göre de farklılık göstermektedir. Türkiye’de tuzlu peynirlerin üretim ve tüketiminin yoğunlukta olduğu, diğer yandan Avrupa’da üretilen peynirlerin bulunulan bölge iklimi itibari ile daha az tuzlu olduğu söylenebilmektedir. Farklı türde birçok faydalı bakteri ve enzim içeriği ile birlikte tuz içeriği az olan peynirlerin tatları da büyük ölçüde farklılaşmaktadır (HASEKAP, 2019).

Protein, vitaminler ve mineraller bakımından oldukça zengin bir besin ögesi olan peynir, uzun süre muhafaza edilebilen ve geleneksel anlamda farklı metotlar ile üretilebilen bir üründür. Dünyada birçok peynir çeşidi üretilmekle birlikte, üretim aşamasındaki farklılıklar ve kullanılan ham madde üretilecek olan peynirin türünü belirlemektedir (Erkmen ve Aydemir, 2020; Çetinkaya, 2021). Türkiye’de 8 Şubat 2015 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanmış olan Türk Gıda Kodeksi (TGK) Peynir Tebliği’nde peynirler sertlik derecelerine göre, olgunlaşma durumu ve yöntemine göre, süt yağı miktarına göre, nem ve tuz içeriklerine göre sınıflandırılmışlardır (TGK, 2015).

2.1.1. Dünyada ve Türkiye’de Peynirin Üretim ve Tüketim Verileri

Ulusal Süt Konseyi’nin (USK) 2021 yılında yayımlanmış olduğu “2020 Süt Sektörü Raporu, Dünya ve Türkiye’de Süt Sektörü İstatistikleri” adlı raporda, dünyada toplam peynir üretim miktarının 23 milyon tonun üzerinde olduğundan bahsedilmektedir. Ülkelerin peynir üretim ve tüketim miktarlarında ise farklılıklar bulunmaktadır. Tablo 1’de dünyada peynir üretiminde lider ülkeler ve üretim miktarlarıyla ilgili bilgiler verilmektedir (USK, 2021).

Tablo 1. Dünyada peynir üretiminde lider ülkeler (USK, 2021).

Ülkeler	2019 Yılı Üretim Miktarı (Milyon Ton)
Avrupa Birliği (AB), AB-28	9,6
Amerika Birleşik Devletleri (ABD)	6,0
Brezilya	1,0
Türkiye	0,7
Arjantin	0,6
Meksika	0,5
Mısır	0,4

Tablo 1’de gösterildiği üzere Türkiye 2019 yılında 0,7 milyon ton peynir üretimi ile AB ülkeleri ve ABD’nin ilk 2 sırayı paylaştığı listede Brezilya’dan sonra dünyada 4. sırada yer almaktadır.

Türkiye’de 2018-2021 yılları arasında gerçekleşen peynir üretim miktarlarına ait bilgiler Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Türkiye’de yıllara göre peynir üretim miktarları 2018-2021 (TUIK, 2022).

Yıllar	Üretim Miktarı (İnek Peyniri)	Üretim Miktarı (*Diğer Peynir)	Toplam Üretim (Ton)
2021	735.733	27.533	763.266
2020	739.774	27.173	766.947
2019	671.497	28.106	699.603
2018	722.715	33.397	756.112

*Diğer Peynir (Koyun, Keçi, Manda ve Karışık Sütten Elde Edilen Peynir)

Tablo 2 incelendiğinde 2018 yılında 756.112 ton olarak gerçekleştirilen toplam peynir üretimi 2019 yılına gelindiğinde 699.603 ton olarak gerçekleşmiş ve yıllık bazda %8,08 azalmıştır. 2020 yılında toplam 766.947 ton peynir üretimi gerçekleşmiş olup bir önceki yıla

göre %9,62 artış görülmüştür. 2021 yılında ise toplam 763.266 ton peynir üretimi gerçekleşmiş olup bir önceki yıla göre %0,48 azalma görülmüştür.

Tablo 3'te dünyada peynir tüketim miktarları ile ilgili bilgiler verilmektedir (USK, 2021).

Tablo 3. Dünyada peynir tüketimi (USK, 2021).

Ülkeler	2019 Yılı Tüketim Miktarı (Milyon Ton)
Avrupa Birliği (AB), AB-28	9,8
Amerika Birleşik Devletleri (ABD)	5,7
Brezilya	1,0
Rusya	0,7
Türkiye	0,6
Meksika	0,5
Kanada	0,5
Mısır	0,4
Arjantin	0,4

Tablo 3'te gösterildiği üzere Türkiye 2019 yılında AB ülkelerinin ilk sırada olduğu listede 0,6 milyon ton peynir tüketimi ile dünyada 5. sırada yer almaktadır.

Türkiye'de en fazla tüketilen süt ürünlerinden birisi peynirdir. 2019 yılında kişi başı peynir tüketiminin 17,5 kilogram olarak gerçekleştiği tahmin edilmektedir. Beyaz peynir, Türkiye'de üretilen peynir çeşitleri arasında en çok üretilip en çok da tüketilen peynir çeşidi olarak ilk sırada yer almaktadır (Ataseven, 2021).

2.1.2. Türkiye'de Üretilen Yöresel Peynirler

Yöresel peynirler, üretildikleri toplumun tarihinin ve kültürünün kanıtı niteliğindedirler. Her yöresel peynir kendine özgü duyuşal özelliklere sahiptir. Bu özellikler çevre, iklim, sütün elde edildiği hayvanın cinsi, sütün bileşimi, uygulanan ısıl işlem, üretim yöntemi, üretimde

kullanılacak olan katkı maddesi gibi çeşitli faktörlere bağlı bulunmaktadır. Türkiye’de de yöresel peynir çeşitliliğinin oluşmasında bu faktörlerden söz edilebilmekte iken peynirin üretimi sonrasında taze hali ile tüketilmesi veya belirli bir süre olgunlaştırılması da peynirin üretildiği yörede kendine özgü kültürel mirasın oluşmasını sağlayan önemli faktörler arasında yer almaktadır (Licitra, 2010; Saygılı ve diğerleri, 2020).

Coğrafi konumundan ötürü Anadolu, farklı kültürlerin bir araya geldiği ve geleneksel lezzetlerin harmanlandığı bir merkez olarak değerlendirilmektedir. Bununla birlikte doğal bitki örtüsü ve canlı hayvan sayısının fazla olması gibi faktörler ile birlikte Türkiye’de üretilen peynir çeşidinin oldukça fazla olduğu belirtilmektedir (Kamber, 2007; Ataseven, 2021). Büyük bir çoğunluğunu inek sütünden elde edilen peynirlerin oluşturduğu Türkiye’de en çok tercih edilen peynir çeşitleri beyaz peynir, kaşar peyniri, tulum peyniri ve yöresel peynirler olarak sıralanabilmektedir (Saygılı ve diğerleri, 2020).

Türkiye’de illere göre sınıflandırılmış olan yöresel peynir çeşitliliği Şekil 1’de gösterilmiştir (Hastaoğlu ve diğerleri, 2021).



Şekil 1. Türkiye’deki yöresel peynir haritası (Hastaoğlu ve diğerleri, 2021).

Hastaoğlu ve diğerlerinin 2021 yılında yapmış olduğu çalışmada, Türkiye’nin farklı coğrafi bölgelerine ait 75 peynir çeşidinin üretimi ve özellikleri araştırılmıştır. Türkiye’de peynirlerin bölgeden bölgeye ve ilden ile farklı çeşitlerde olmasının nedeninin, süt inekçiliğinin değişik şekillerde yapıyor olmasından ve coğrafi bölgelerin birbirinden farklı özelliklere sahip

olmasından kaynaklı olduğu belirtilmiştir. Yöresel olarak üretilen peynirlerin isimlendirilmesinde ise üretildiği yörenin, ilçenin ya da ilin isminden de yararlanıldığı bildirilmiştir (Hastaoğlu ve diğerleri, 2021).

2.1.3. Peynir Üretimi

2.1.3.1. Peynirin Pıhtılaşması

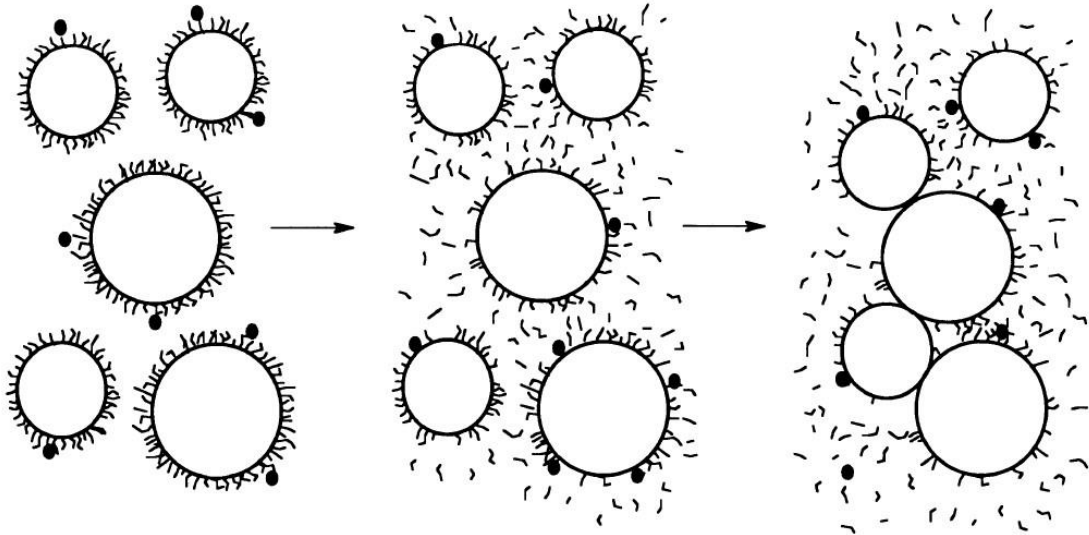
Süt yaklaşık %3,5 oranında protein içeriğine sahiptir. Kazein, süt proteinlerinin yaklaşık %80'ini oluştururken, serum proteinleri %15'lik kısmını oluşturmaktadır. Sütün yapısındaki protein ve kalsiyum fosfat kompleksinden oluşan koloidal partiküller kazein miselleri olarak adlandırılmaktadır. Kazein misellerinin kuru kütesinin %93'ünü temsil eden protein fraksiyonu alfa (α) s1 kazein, alfa (α) s2 kazein, beta (β) kazein ve kapa (κ) kazein olarak adlandırılan dört ayrı bileşenden meydana gelmektedir. Misellerin geri kalan kısmı ise koloidal kalsiyum fosfat veya misel kalsiyum fosfat olarak adlandırılan inorganik yapılardan oluşmaktadır (Tuncel, 2005; Kruif ve diğerleri, 2012).

Kazein, süt endüstrisi açısından oldukça önemli ve değerli bir bileşendir. Dünyada üretilmekte olan peynirlerin büyük bir kısmı başta kazein olmak üzere süt proteinlerinin proteolitik enzimler aracılığı ile pıhtılaştırılması sonucunda üretilmektedir. Üretilmekte olan peynirlerin büyük bir çoğunluğu peynir mayası olarak adlandırılan rennet ile pıhtılaştırma işlemi sonucunda yapılmaktadır (Özer ve Hayaloğlu, 2011; Kruif ve diğerleri, 2012).

Rennet ile pıhtılaştırma işlemi öncelikle enzimatik aşama ile birlikte başlamakta, kümeleşme aşaması (agregasyon) ile devam etmekte ve son olarak jelleşme aşaması ile tamamlanmaktadır. Enzimatik aşama, yapısında 169 adet aminoasit bulunmakta olan kapa (κ) kazeinin fenilalanin ve metiyonin (105. ve 106. aminoasit) arasındaki bağın, rennette bulunan kimozin enzimi sayesinde parçalanması ile başlamaktadır. Böylece kapa (κ) kazein, para-kapa (κ) kazein ve glikomakropeptit adı altında iki ayrı kısma ayrılmaktadır. 105.-169. bağlardan oluşan glikomakropeptit, hidrofildir ve rennetleme işlemi ile birlikte misellerin yüzeyinden ayrılarak süt serumu içine geçer. 1.-105. bağlardan oluşan para-kapa (κ) kazein, kazein misellerini ayrı tutmak için gerekli kuvveti sağlayamayacak kadar hidrofobiktir ve misellerin yüzeyinde tutunur. Bu durum misel stabilitesinin bozulmasına ve pıhtılaşma için uygun bir

zeminin yaratılmasına neden olmaktadır. Kümeleşme aşaması esnasında, enzim etkisi ile parçalanmış ve stabilitesi bozulan kazein miselleri, serbest halde bulunmakta olan iyon halindeki kalsiyum varlığı ile bir araya gelerek görülebilir biçimde pıhtılar oluştururlar. Jelleşme aşaması ile birlikte, bir araya gelen kazein miselleri büyüyerek birleşmeye devam eder ve protein ağını oluşturur. Peynire işlenecek süte uygulanan ısıl işlemin derecesi, serum proteinlerinin denatürasyonuna ve sütün yapısında iyon halinde bulunan kalsiyum miktarında değişimlere sebebiyet verdiği için, misellerin kümeleşmesinde önem arz etmektedir (Dalglish, 1993; Koçak ve Seydim, 2011; Ettelaie ve diğerleri, 2014).

Şekil 2’de rennetin kazein miselleri üzerindeki etkisi şematik olarak gösterilmiştir.



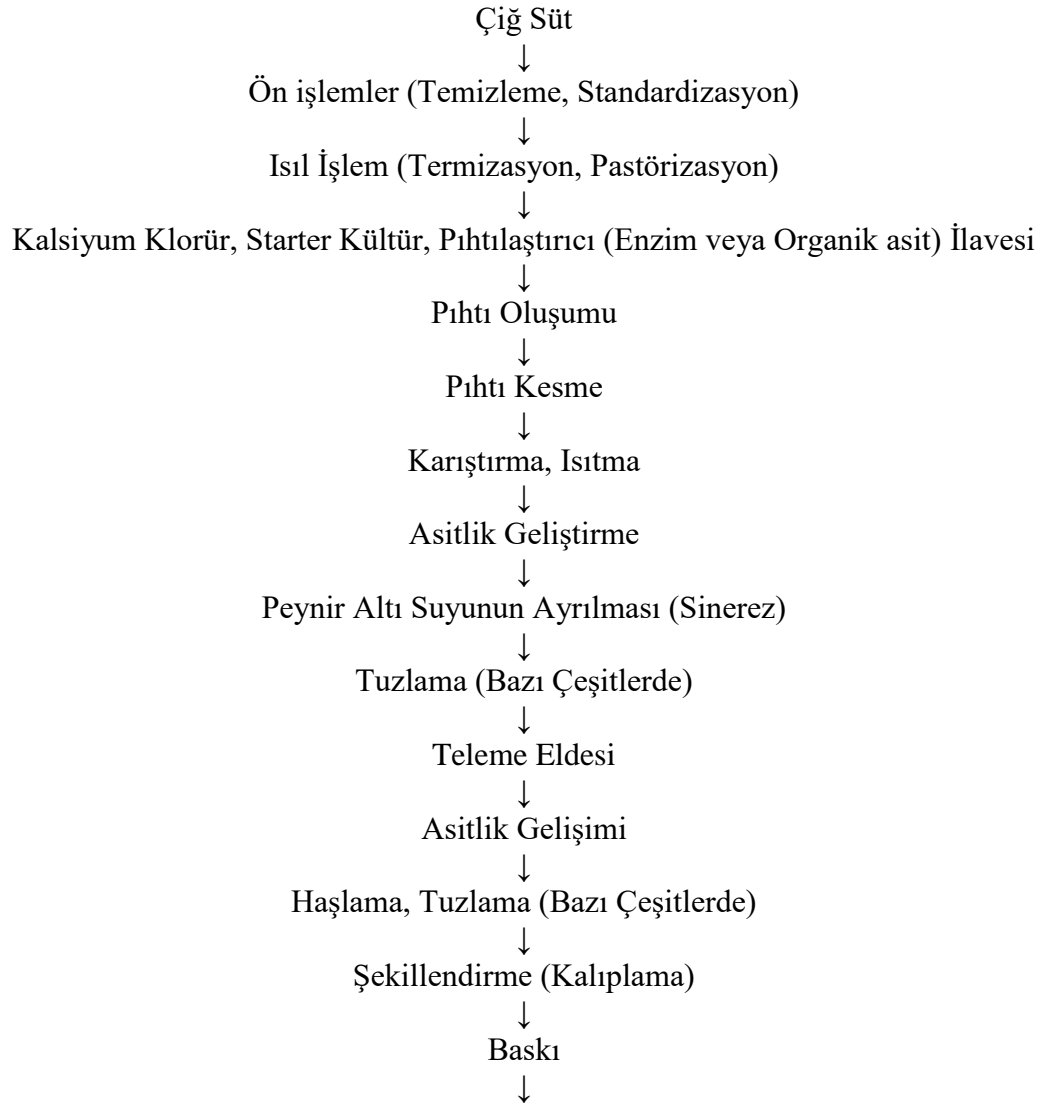
Şekil 2. Rennetin kazein miselleri üzerindeki etkisi (Dalglish, 1993).

Şekil 2’de üç farklı kısım gösterilmektedir. İlk kısımda misellerin stabilitesi bozulmamış ve rennet henüz eklenmiştir. Ok yönünde devam eden ikinci kısımda enzimatik aşama gerçekleşmiş ve misel stabilitesi bozulmaya başlamış, ok yönünde devam eden üçüncü kısımda ise kazein miselleri bir araya gelerek kümeleşmeye başlamıştır.

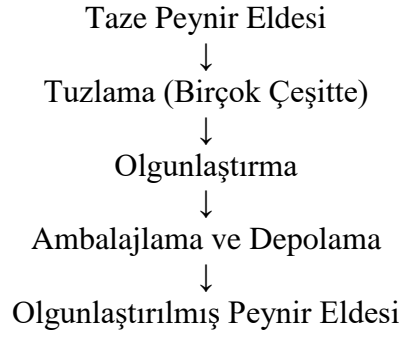
2.1.3.2. Peynir Üretim Basamakları

Türkiye’de kendine özgü üretim şekli olan birçok peynir çeşidi bulunmaktadır. Bu peynirler genel anlamda sütün pıhtılaştırılması, pıhtının kesilmesi, peynir altı suyunun ayrılması ve pıhtıya şekil verilmesi işleminden oluşan aşamalar uygulanarak üretilmektedir. Tuzlama ve olgunlaştırma aşamaları da bulunmakta olan bazı peynirlerden söz edilebilmekte iken bazı peynirler ise tuzsuz ya da olgunlaştırılmadan taze olarak üretilip tüketime sunulmaktadır (Gürsoy ve Budak, 2019).

Türkiye’de üretilmekte olan peynirler ile ilgili genel üretim aşamaları Şekil 3’te verilmiştir (Gürsoy ve Budak, 2019).



Şekil 3. Genel peynir üretimi aşamaları (Gürsoy ve Budak, 2019).



Şekil 3. Genel peynir üretimi aşamaları (Gürsoy ve Budak, 2019) (devam).

Şekil 3’te belirtilen genel peynir üretimi aşamalarında bazı farklılıkların bulunduğu peynirler de üretilmektedir. Türkiye’de yaygın olarak üretilen peynir çeşitlerinden biri olan lor peyniri ve lor peynirine benzer peynirlerin üretim tekniği, ısı işlem etkisi ile birlikte peynir altı suyunda bulunan serum proteinlerinin denatüre edilip çöktürülmesi ve peynir altı suyundan ayrılması yöntemi ile gerçekleştirilmektedir (Tanış ve diğerleri, 2021; Kavaz ve diğerleri, 2012). Türkiye’de yaygın olarak üretilen peynir çeşitlerinden bir diğeri olan kaşar peyniri, üretiminde kullanılan teknik nedeniyle plastik teleme (pasta filata) tipi peynir olarak tanımlanmaktadır. Bu üretim tekniğinde belirli bir düzeyde fermantasyona tabi tutulan teleme, bu işlemin ardından sıcak su ile haşlanıp yoğrulmaktadır (Kamber, 2007; Kavak ve Karabıyık, 2019).

Bölüm 2.1.2’de de belirtildiği üzere Türkiye’de üretilmekte olan çeşitli peynir tipleri bulunmaktadır. Tez çalışmasında tulum peyniri ve beyaz peynir materyal olarak kullanılacağından dolayı yalnızca adı geçen peynirlerle ilgili üretim bilgisi verilecektir.

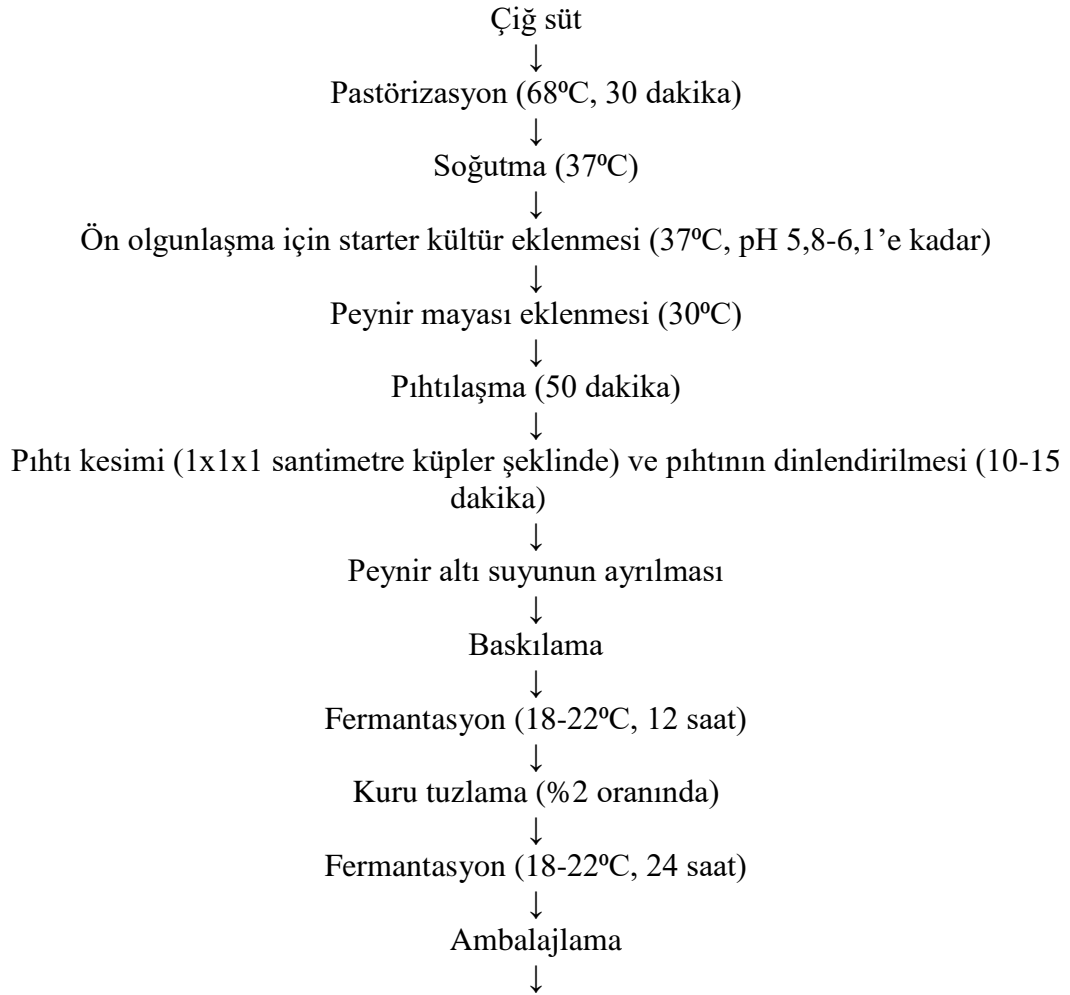
2.1.3.3. Tulum Peyniri

Tulum peyniri; kolay ufalanabilen, yağ içeriği yüksek olan ve keskin bir kokuya sahip olan bir peynir çeşidi olarak tanımlanmaktadır. Tulum peynirleri farklı üretim yöntemleri ve farklı olgunlaştırılma koşulları nedeniyle Erzincan, İzmir ve Kargı gibi il ya da ilçelere ait isimlerle anılmaktadır. Genellikle çiğ süttten üretilen tulum peynirleri geleneksel olarak koyun, keçi gibi hayvanların derisinden yapılan tulumlarda, obruk, mağara gibi soğuk ortamlarda ya da soğuk hava depolarında olgunlaştırıldıktan sonra tüketime sunulabilmektedirler (Tekinşen ve Akar, 2017; Arslaner ve Türkmen, 2020).

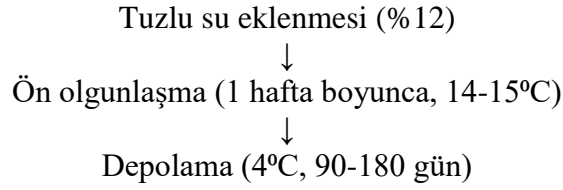
Tulum peyniri geleneksel olarak koyun ya da keçi derisinin iç astarına konulmakta, bazı yöresel uygulamalarda ise dış deri tıraşlandıktan sonra ters çevrilerek iç kısma doldurulmaktadır. Günümüzde üretimde hijyeni iyileştirmek üzerine yapılan çalışmalar ile birlikte endüstriyel tulum peyniri üretiminde hayvan tulumu yerine gıda üretimine uygun plastik malzemeler kullanılabilir (Bayar ve Özrenk, 2011).

İzmir tulum peyniri Türkiye’de Ege bölgesinde, özellikle İzmir, Aydın, Manisa, Muğla ve Denizli illerinde oldukça fazla miktarda üretilmektedir. Olgunlaşma esnasında içerisinde salamura bulunan teneke kutular kullanıldığından dolayı bu peynire teneke tulum peyniri ya da salamuralı tulum peyniri adı da verilmektedir (Akpınar ve diğerleri, 2017; Yerlikaya ve Akbulut, 2019).

İzmir tulum peyniri ile ilgili üretim basamakları Şekil 4’te verilmiştir (Yerlikaya ve Akbulut, 2019).



Şekil 4. İzmir tulum peyniri üretimi ile ilgili aşamalar (Yerlikaya ve Akbulut, 2019).



Şekil 4. İzmir tulum peyniri üretimi ile ilgili aşamalar (Yerlikaya ve Akbulut, 2019) (devam).

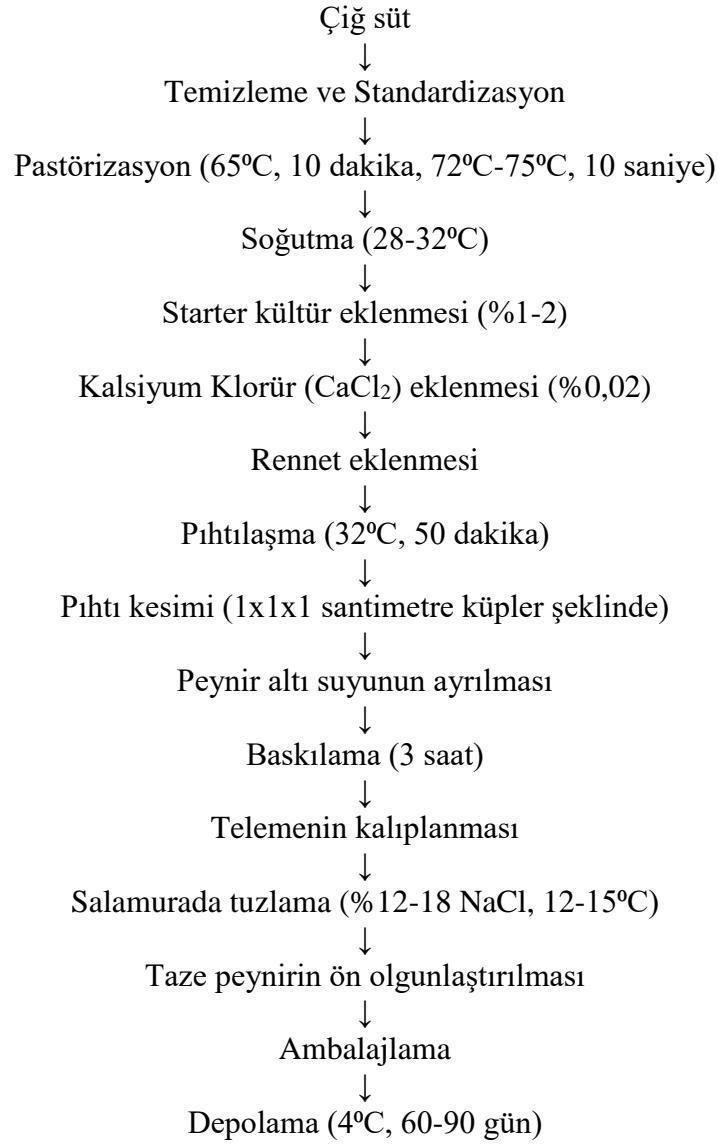
Genellikle tulum peyniri üretimi için süt pastörize edilmez ve mayalanma sıcaklığında fermente edilir. İzmir tulum peyniri üretiminde ise kullanılan süt pastörize edilmeden ya da yaklaşık 68°C’de 30 dakika süre ile pastörize edildikten sonra mayalanma sıcaklığına soğutularak 30°C’de rennet ilave edilir. Pıhtılaşma sonrası peynir altı suyu ayrımı ile oluşan pıhtı cendere bezine aktarılır ve baskılanır. Kalıplara ayrıldıktan sonra %2 oranında kuru tuzlama işlemi gerçekleştirilir. Kalıplar 2 saatte bir çevrilerek 18-22°C’de 24 saat bekletilir. Peynir kalıpları %12 tuzlu su içeren teneke kutulara doldurularak kapatılır ve 90-180 gün boyunca 4°C’de olgunlaştırılmaya bırakılır (Yerlikaya ve Akbulut, 2019).

2.1.3.4. Beyaz Peynir

Türkiye’de 8 Şubat 2015 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanmış olan Türk Gıda Kodeksi (TGK) Peynir Tebliği’nde beyaz peynir: “Ham maddenin peynir mayası kullanılarak pıhtılaştırılması ile elde edilen telemenin, tekniğine uygun olarak işlenmesiyle üretilen, üretim aşamalarındaki farklılıklara göre taze veya olgunlaştırılmış olarak tanımlanabilen, çeşidine özgü karakteristik özellikler gösteren salamuralı peynir” olarak tanımlanmaktadır (TGK, 2015).

Beyaz peynirin, klasik beyaz peynir ve taze (kültürlü) beyaz peynir olmak üzere 2 temel çeşidi bulunmaktadır. Herhangi bir starter kültür kullanılmadan çiğ süttten ya da termizasyon gibi pastörizasyon işlemine kıyasla düşük sıcaklıklarda ısıl işlem görmüş sütlerden üretilen çeşidine klasik beyaz peynir denilmektedir. Peynire işlenecek süte pastörizasyon uygulanıp starter kültür eklenilerek üretilen çeşidi ise taze (kültürlü) beyaz peynir olarak adlandırılmaktadır (Altuner ve diğerleri, 2020; Pamuksuz ve diğerleri, 2020).

Beyaz peynir ile ilgili üretim basamakları Şekil 5’te verilmiştir (Gürsoy ve Budak, 2019; Erkmen ve Aydemir, 2020).



Şekil 5. Beyaz peynir üretimi ile ilgili aşamalar (Gürsoy ve Budak, 2019; Erkmén ve Aydemir, 2020).

Çiğ süt kirlerinden arındırılıp yağ standardizasyonuna tabi tutulur. Süte 65°C’de 10 dakika ya da 72°C-75°C’de 10 saniye ısıtım işlemi uygulandıktan sonra 28-32°C’ye kadar soğutulur. Soğutulma işleminin ardından mayalama teknesine aktarılan süte %1-2 oranında olacak şekilde starter kültür ilave edilir ve 30 dakika bekletilir. Devamında süte kalsiyum klorür (CaCl₂) ilave edilerek karıştırılır ve ardından peynir mayası eklenir. Süt 32°C’de 50 dakika içerisinde pıhtılaşmaya bırakılır. Oluşan pıhtı, 1x1x1 santimetre küpler şeklinde parçalanır. Peynir altı suyu ayrılması ile birlikte cendere bezine sarılan teleme 3 saat boyunca baskıya alınır. Baskılamadan çıkan peynir telemesi kalıplara ayrılarak %12-18’lik salamurada 12-

15°C’de bekletilir. Ön olgunlaştırma işlemine tabi tutulan peynir kalıpları 4°C’de, 60-90 gün süre ile olgunlaşmaya bırakılır (Gürsoy ve Budak, 2019; Erkmén ve Aydemir, 2020).

2.1.4. Peynir Üretiminde Hijyen ve HACCP Uygulamaları

Türkiye’de Tarım ve Köyişleri Bakanlığı tarafından 26 Eylül 2008 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanmış olan Gıda Güvenliği ve Kalitesinin Denetimi ve Kontrolüne Dair Yönetmelik’te gıda güvenliği terimi: “Gıdalarda olabilecek fiziksel, kimyasal, biyolojik ve her türlü zararların bertaraf edilmesi için alınan tedbirler bütünü” olarak tanımlanmaktadır (TKB, 2008).

Sağlıklı gıda üretmek adına çiftlikten sofraya kadar gerçekleşen her bir aşamada, gıdalardan kaynaklı tehlikeler kontrol altına alınarak uygun üretim koşullarının oluşturulması gıda hijyeninin sağlanması ile gerçekleştirilebilmektedir. Gıda hijyeni, gıda güvenliğinin temelidir ve gıda hijyeni ile birlikte, üretimde kaliteyi düşüren etkenlerin ortadan kaldırılması ile sağlıklı bir gıda maddesinin üretimi ve gıdalarda gerçekleşebilecek her türlü bulaşmanın önlenmesi sağlanabilmektedir. Başta hastalık etkenleri olmak üzere, günümüzde gıdaların üretim aşamalarından tüketilmesine kadar olan süreçte sağlığa zararlı birçok etken gıdalara bulaşabilmektedir. Gıdalarda istenilmeyen herhangi bir maddenin bulunması anlamına gelen bulaşma, gıda hijyeninin temel konularından bir tanesidir. Gıdalarda bulaşma ile birlikte tüketici sağlığına zarar gelebileceğinden ötürü bulaşma, potansiyel bir tehlike olarak kabul edilmektedir. Bunun gibi tehlike yaratabilecek durumlar “İyi Üretim Uygulamaları” (Good Manufacturing Practices - GMP) adı verilen sistem ile en aza indirilmekte veya ortadan kaldırılmaktadır (Doğruer, 2004; Göktan ve Tunçel, 2012, 2014).

İyi üretim uygulamaları, gıda üretim süreçlerinde gıda güvenliği standartlarının karşıladığından emin olmak için yapılması ve yerine getirilmesi gereken koşulların tespitini yapan bir sistemdir. “İyi Hijyen Uygulamaları” (Good Hygiene Practices - GHP), gıda güvenliğini sağlamak için gıda zincirinin tüm adımlarında uygulanması ve sağlanması gereken hijyenik koşulların belirlenip takip edildiği bir sistemdir. Hem iyi üretim uygulamaları hem de iyi hijyen uygulamaları, gıda işletmelerinde tehlike analizi ve kritik kontrol noktaları sisteminin uygulanması için bir ön koşulu olarak ortaya çıkmaktadır (Sikora ve Strada, 2006).

Ön koşul programları, herhangi bir gıda güvenlik sisteminin temeli olarak kabul edilmektedir. Bu sistemler, gıda güvenliği adına sağlanması gereken koşulları ele alan ve halk

sağlığı adına güvence sağlayan uygulamaları oluşturmaktadırlar. Bu uygulamalar arasında; iyi üretim uygulamaları, gıda işletmelerinde hijyen ve sanitasyon koşullarının sağlanmasını sağlayan “Sanitasyon Standart İşlem Prosedürleri” (Sanitation Standard Operating Procedures - SSOP), su güvenliği kontrolü, teslimat, depolama ve nakliye kontrolü, haşere ve atık kontrolü, tedarikçi kontrolü, izleme ve geri çağırma programları, ekipman kalibrasyonu ve çalışan eğitimi yer almaktadır. Etkili bir tehlike analizi ve kritik kontrol noktaları sisteminin geliştirilmesi için bu ön koşul programlarının uygulanması gerekmektedir (Drosinos ve Siana, 2007).

“Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları” (Hazard Analysis and Critical Control Points - HACCP), son yıllarda çoğu ülkenin kullanmakta olduğu bir gıda güvenliği yönetim sistemi olmakla birlikte, gıdaların oluşturabileceği tehlikelerin yaygınlığını azaltmak için benimsenmiş olan uluslararası bir stratejidir. Bu sistem, gıda endüstrisinde hijyenik gıda üretimi adına tesislerin ve ekipmanların hijyenik tasarımı ile bakımlarının da dahil olduğu bir entegrasyonu içermektedir (Carrascosa ve diğerleri, 2016).

HACCP; gıda güvenliğini sağlamak amacıyla fiziksel, kimyasal ve biyolojik tehlikelere odaklanan önleyici bir yaklaşımdır. Gıda endüstrisinde potansiyel gıda güvenliği tehlikelerini belirlemek adına hazırlama, paketlenme ve dağıtımını da kapsayan gıda üretimi sürecinin her aşamasında uygulanmaktadır. Et ve ürünleri, kümes hayvanları, deniz ürünleri ve süt ürünleri dahil olmak üzere gıda endüstrisinin bütün alanlarını kapsayan HACCP, çiftlikten çatala kadar olan süreçte başlamakta olan önemli bir sistemdir (Salama ve diğerleri, 2021).

HACCP sistemi; tehlike analizinin yapılması, kritik kontrol noktalarının tespit edilmesi, kritik limitlerin belirlenmesi, kritik kontrol noktalarının kontrolünü takip edebilmek için bir izleme sisteminin kurulması, bir kritik kontrol noktası kontrol dışına çıktığı zaman yapılması gereken düzeltici faaliyetlerin belirlenmesi, HACCP sisteminin etkin bir şekilde çalıştığından emin olmak için bir doğrulama prosedürünün oluşturulması ve bu adımların uygulanmasında kullanılan tüm işlem ve kayıtlara ilişkin dokümantasyon oluşturulmasından oluşan 7 temel ilkeye dayanmaktadır (Singh ve diğerleri, 2018).

HACCP sisteminde tehlike terimi; üründe istenmeyen mikrobiyolojik bir bulaşma gerçekleşmesi gibi tüketici sağlığına zarar verebilecek olan herhangi bir faktörü ifade etmektedir. Tehlikenin olası etkisinin değerlendirilmesine ise tehlike analizi denilmektedir. Mikroorganizmaların üremesi ve gıdada mikroorganizma varlığına yol açan koşulların belirlenmesi tehlike analizi ile değerlendirilebilmektedir. Bu yöntem, gıda kalitesini korumak için potansiyel kontaminasyon kaynaklarının tespit edilip atılması gereken adımların

değerlendirmesi ile birlikte gıda güvenliğinin sağlanması adına sistematik bir önleyici yaklaşım sunmaktadır. Kontaminasyonu önlemedeki performans ve etkinlik, doğru tespit ve uygulama ile gerçekleştirilebilmektedir (Suherman ve diğerleri, 2021).

Mikrobiyolojik tehlikeler, birçok süt ürünüde en yaygın tehlikelerden biridir. Peynir fabrikalarında gıda güvenliğini tehlikeye uğratabilecek temel unsurlardan bir tanesi de patojen mikroorganizmaların en önemli kaynağı olan çiğ süttür. Bunların dışında kontaminasyon ve çoğalmaya neden olan kaynakların başında gıda ile teması olan kişilerin hijyen koşullarına dikkat etmemesi, gıdaya temas eden yüzeylerin temiz olmaması ve kullanılan ekipmanların temizlik durumları da gelmektedir. Peynir üretimi için oluşturulan tehlike analizinin amacı, çeşitli ham maddelerde ve işleme adımlarında oluşabilecek tehlikeyi belirlemek ve aynı zamanda meydana gelebilecek tehlikeler için kontrol çözümleri önermektir. Çiğ süt ve peynirde oluşan bozulma ile patojen kontaminasyonu birçok metabolik yan ürünün oluşması sonucu başlayarak kötü tatlara, kokulara, renk ve dokuda gözle görülür değişikliklere neden olmakta ve halk sağlığı tehlikeleri oluşturmaktadır. Bu anlamda da peynirler için, gıda zinciri boyunca güvenliği sağlayan bir sistem uygulamak oldukça önemlidir (Carrascosa ve diğerleri, 2016; Salama ve diğerleri, 2021). HACCP uygulamaları, üreticilerin son ürünlerde oluşabilecek mikrobiyolojik tehlikelerin olasılığını azaltmalarına yardımcı olabilmektedir (Carrascosa ve diğerleri, 2016; Ritota ve Manzi, 2020).

2.1.5. Mikroorganizmaların Peynirleri Kontamine Etme Şekilleri

Gıda kaynaklı hastalıklar dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunudur. Peynir, raf ömrünün azalmasına sebep olabilecek ve tüketicinin sağlığı için risk oluşturabilecek patojenik mikroorganizmalar tarafından kontaminasyona uğramaya karşı oldukça duyarlı bir gıdadır. Peynir tüketiminden kaynaklanan gıda zehirlenmeleri ile ilişkili en önemli patojenler *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ve *Salmonella spp.* olarak kabul edilmektedir. Bu bakteriler, peynirin karakteristik özelliklerini değiştirebildikleri gibi tüketilmeleri sonucunda zehirlenmelere de neden olabilmektedirler (Chavez-Martinez ve diğerleri, 2019; Puvaca ve diğerleri, 2020, Ritota ve Manzi, 2020).

Türkiye’de yöresel olarak üretilen peynirler genellikle çiğ süttten üretilmekte ya da mayalanma sıcaklığının biraz üzerindeki sıcaklık değerlerine kadar ısıtılıp soğutulularak mayalanmaktadırlar. Bu sebeple sütte bulunan mikroorganizmaların, peynir üretiminde

yıkımlanmadan peynire geçtiği görülmektedir. Çiğ süt, peynir için birincil kontaminasyon kaynağı olarak kabul edilirken, çiğ süt ile üretilecek peynirler için üretim öncesi ısıl işlem gerçekleştirilmediğinden dolayı patojen mikroorganizmalar, çiğ süttten üretilecek olan peynirlerde gıda kaynaklı hastalıklara sebebiyet verebilmektedirler. Bu nedenle, peynire işlenecek sütün pastörize edilmesi halk sağlığının korunması açısından önemlidir (Kaynar, 2011; Karabıyıklı ve Erdoğan, 2019; Dupas ve diğerleri, 2020).

Sütün mikrobiyolojik kontaminasyonu, sütü sağılan hayvanın memesinin içinden veya memesinin dış tarafından (klinik veya subklinik mastitis), kullanılan alet, ekipman ve gereçlerin yüzeyinden ya da süt depolama tesislerinden kaynaklanabilmektedir. Peynirin neden olduğu gıda zehirlenmeleri ise, üretim yerinin hijyenik durumunun kötü olması, üretimde çiğ süt kullanılması ya da kullanılan sütün düşük kalitede olması gibi nedenler ile üretim yerindeki alet, ekipman ve çalışanlardan kaynaklanabilmektedir. Ayrıca ürün üretildikten sonra yetersiz olgunlaştırma ve depolama uygulamaları, hijyenik olmayan tedarik süreci aşamalarının da peynirde kontaminasyona neden olarak peynir tüketimine bağlı zehirlenmelere sebebiyet verdiği tespit edilmiştir. Tüm bu etkenler, üretim tesislerinde gıda güvenlik sistemleri ve ön gereksinim programlarının uygulanmaması ya da etkin bir şekilde sürdürülememesi ile de ilişkili olabilmektedir (Carrascosa ve diğerleri, 2016; Savaşan ve Göksoy, 2018; Possas ve diğerleri, 2021).

2.2. *S. aureus*

Günümüzde süt ve süt ürünlerinde sıklıkla bulunan bir mikroorganizma olan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) 1880 yılında keşfedilmiştir. Basit cilt enfeksiyonlarına ve yara kaynaklı enfeksiyonlara neden olduğu belirlenen *S. aureus*, patojen özellik gösteren gram pozitif bir bakteridir (Halkman, 2019). 1940'lı yıllara kadar *S. aureus* kaynaklı enfeksiyon geçiren bireylerde mortalitenin yaklaşık %80 olduğu tahmin edilmektedir. Penisilin tıbbi kullanımına başlandığı 1940 yılından itibaren, *S. aureus* kaynaklı enfeksiyonları tedavi etmek için penisilin kullanılmaya başlanmıştır. 1942 yılında ise penisiline dirençli *S. aureus* suşları gözlemlenmiş ve günümüze kadar *S. aureus* suşlarının tamamının yaklaşık %80'i penisiline dirençli hale gelmiştir. Daha sonra metisilin, penisilin direnci bulunan *S. aureus* enfeksiyonunu tedavi etmede kullanılmış ancak bir süre sonra *S. aureus*, *mecA* geni kazanarak metisiline de dirençli hale gelmiştir (Deurenberg ve Stobberingh, 2008).

Geçmişte *Micrococcaceae* familyasında bulunan *S. aureus*, yapılan yeni sınıflandırmada *Bacilli* sınıfının *Bacillales* takımında olup *Staphylococcaceae* familyasında yer almaktadır. *Staphylococcus* familyası içerisinde 20'den çok stafilokok türü bulunmaktadır. Bunlar içerisinde *S. aureus*, en önemli patojen tür olarak görülmektedir. *S. aureus*, özellik olarak katalaz pozitif, kapsülsüz, sporsuz olup, fakültatif anaerob ve mezofil karakterdedir. Etken; termonükleaz, hemolizin ve koagulaz enzim aktivitesine sahiptir. Büyüklüğü yaklaşık olarak 0,5-1,5 µm aralığındadır (Keyvan ve Özdemir, 2016).

S. aureus menenjit, septik şok ve cilt lezyonları gibi çeşitli hastalıklara sebep olabilmektedir. Bununla birlikte *S. aureus*, gıdalarda stafilokokal enterotoksin üreterek stafilokokal gıda zehirlenmesine de yol açabilmektedirler (Rola ve diğerleri, 2015; Baran ve diğerleri, 2017).

Koagulaz enzimini üretebilen *S. aureus* suşları, koagülasyona sebep olmaktadır. Koagulaz tespit edilen suşların sayısı çoksa enterotoksin oluşum ihtimali de artmaktadır. Çünkü enterotoksin oluşumuyla koagulaz üretimi arasında yüksek bir ilişki bulunmaktadır. Bununla beraber koagulaz pozitif olan stafilokok suşlarının tamamı enterotoksijenik özelliğe sahip değildirler (Tayar ve Hecer, 2015; Halkman, 2019).

Süt ve süt ürünlerinin başlıca patojenleri arasında yer alan stafilokoklar, bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmektedirler. Süt endüstrisi için önemli bir sorun, *S. aureus*'un neden olduğu meme dokusunun bulaşıcı bir hastalığı olan mastitistir ve böylece çiğ sütün *S. aureus* ile kontaminasyonu, enfekte süt hayvanlarından oluşabilmektedir. Sağım ekipmanlarından da bulaşabilen *S. aureus* için gıda işçileri de önemli bir taşıyıcı görevi görmektedir. İnsanlar stafilokokların başkalarına ve besinlere taşınmasında önemli bir kaynaktır. Bu durum deri ve burun delikleri gibi bölgelerde doğal olarak bulunmakta olan *S. aureus*'un, doğrudan temas yoluyla ya da dolaylı olarak deri parçaları ve solunum yolu damlacıkları aracılığıyla gerçekleşebilmektedir (Rola ve diğerleri, 2015; Farias ve diğerleri, 2019, Park ve Seo, 2019).

2.2.1. *S. aureus*'un Gelişimine ve Enterotoksin Oluşumuna Etki Eden Faktörler

Gıdalardaki mikroorganizmalar iç faktörler, dış faktörler ve işleme sonucunda oluşan etkiler gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Diğer mikroorganizmalarda olduğu gibi, *S. aureus* da sıcaklık, sodyum klorür (NaCl) konsantrasyonu, pH ve su aktivitesi (Water Activity

- a_w) ile atmosfer gibi bazı faktörlerden etkilenmektedir (Hennekinne ve diğerleri, 2012; Park ve Seo, 2019).

S. aureus, zayıf bir rekabetçi özelliğe sahip olmakla beraber rekabetçi bir flora varlığında iyi bir gelişim gösterememektedir. Fermente süt ürünlerinin üretiminde kullanılan starter kültürler, *S. aureus*'un büyümesini ve Stafilokokal Enterotoksin (SE) oluşumunu engelleyebilmektedirler. Laktik asit bakterileri ile toksin oluşturan *S. aureus* suşları arasındaki etkileşimin araştırılmış olduğu bir çalışmada, laktik asit bakterilerinin enterotoksin üretiminin azalmasına sebebiyet verdiği tespit edilmiştir. Antibiyotik gibi inhibitör maddeler ve gıdalara hidrojen peroksit ilavesi de *S. aureus*'un gelişimine karşı olumsuz etki yaratmaktadır (Erol ve İşeri, 2004; Pexara ve diğerleri, 2010; Hennekinne ve diğerleri, 2012).

Tablo 4'te *S. aureus*'un üremesi ve toksin üretmesi için gerekli fizyolojik koşullar gösterilmiştir (Park ve Seo, 2019).

Tablo 4. *S. aureus*'un üremesi ve toksin üretmesi için gerekli fizyolojik koşullar (Park ve Seo, 2019).

Parametre	Üreme		Toksın Üretme	
	Optimum	Limit	Optimum	Limit
Sıcaklık (°C)	35-37	6-48	35-40	10-46
pH değeri	6-7	4-10	7-7,5	5-9,6
a_w değeri	0,99	0,83-0,99	0,99	0,86-0,99
% NaCl	0,5-4	0-20	0,5	0-12
Atmosfer	Aerob	Aerob-Anaerob	Aerob	Aerob-Anaerob

Tablo 4'te gösterilmiş olan *S. aureus*'un üremesi ve enterotoksin üretmesi için gerekli fizyolojik koşullardan olan sıcaklık, sodyum klorür (NaCl) konsantrasyonu, pH ve su aktivitesi ile atmosfer gibi faktörler incelenecektir.

2.2.1.1. Su Aktivitesi Etkisi

S. aureus, su aktivitesinin (Water Activity - a_w) düşük olduğu ortamlarda üreyebilmekte, canlılığını sürdürebilmekte ve enterotoksin oluşturabilmektedir. *S. aureus* için optimum üreme ve enterotoksin üretme a_w değeri 0,99 iken *S. aureus* en az 0,83 ve en fazla 0,99 gibi geniş bir a_w aralığında canlılığını koruyabilmektedir. Düşük su aktivitesi değerinin SEA ve SEB üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, düşük su aktivitesi değerlerinde SEB oluşumunun, SEA oluşumuna kıyasla daha duyarlı olduğunu tespit edilmiştir (Erol ve İşeri, 2004; Park ve Seo, 2019).

2.2.1.2. pH Etkisi

Optimum gelişme pH değeri 6-7 aralığında olan *S. aureus*'un üremeyebilmesi için pH sınır değerleri 4-10 arasında değişmektedir. Optimum gelişme pH değeri 7-7,5 iken en düşük 5-9,6 pH seviyelerinde enterotoksin oluşturabilme yetenekleri bulunmaktadır. SEA oluşumunun SEB oluşumu ile kıyaslandığı bir çalışmada, SEA oluşumunun SEB oluşumuna göre pH değişikliklerine daha fazla tolerans gösterebildiği tespit edilmiştir (Erol ve İşeri, 2004; Pexara ve diğerleri, 2010; Park ve Seo, 2019).

2.2.1.3. Atmosfer Etkisi

S. aureus, aerobik koşullar altında daha iyi şekilde üreyebilen ve toksin üretebilen fakültatif bir bakteridir ve %80 CO₂ varlığında dahi büyümesini sürdürebilmektedir. Anaerobik koşullar altında ise üreme çok daha yavaş bir biçimde şekillenmektedir (Hennekinne ve diğerleri, 2012; Park ve Seo, 2019).

2.2.1.4. Sıcaklık Etkisi

S. aureus'un gelişme sıcaklığı 6-48°C arasında değişmekle birlikte, optimum gelişme sıcaklığı 35-37°C aralığındadır ve gelişme sıcaklığının üst sınırı, sodyum klorür varlığı ile

birlikte uzayabilmektedir. Bununla birlikte 10-46°C aralığında ve optimum 40-45°C aralığında Stafilokokal Enterotoksin (SE) oluşturabilme yetenekleri bulunmaktadır. Gerçekleştirilen çalışmalarda, anaerobik koşullar altında, 10°C'de 3 hafta muhafaza süresi ile birlikte etkenin SE üretebildiği tespit edilmiştir. *S. aureus* ısıtma işlemi SE'lerden daha duyarlı olup ısıtma işlemleriyle inaktive olabilmekte iken SE'ler yüksek ölçüde ısıtma işlemi dayanıklı bir yapıya sahiptirler (Pexara ve diğerleri, 2010; Park ve Seo, 2019).

2.2.1.5. Sodyum Klorür Etkisi

Sıcaklık, pH ve su aktivitesi gibi faktörlere bağlı olmakla birlikte *S. aureus*'un gelişebildiği maksimum sodyum klorür (NaCl) konsantrasyonu %20 düzeyindedir ve en fazla %12 sodyum klorür konsantrasyonunda toksin oluşturabilme yeteneğine sahiptir (Erol ve İşeri, 2004; Park ve Seo, 2019).

2.2.2. *S. aureus*'un Virulens Faktörleri

S. aureus, virulensi en yüksek olan stafilokok türüdür ve doku hasarı ile birlikte çeşitli hastalıkların oluşumuna neden olan önemli sayıda patojenik belirleyici taşımaktadır. Konakçı hücrelerin içinde kalabilen *S. aureus*, konak savunmasından kaçabilme yeteneği sayesinde vücutta varlığını sürdürebilmekte hatta çoğalabilmektedir (Bien ve diğerleri, 2011; Oogai ve diğerleri; 2011).

2.2.2.1. Kapsül

S. aureus'un bünyesinde virulens etkiyi arttıran, genel olarak uzun zincirlerden oluşan kapsüller polisakaritler bulunmaktadır. Günümüze kadar tanımlanmış olan 13 farklı *S. aureus* kapsüller protein serotipi (serotip 1-13) bulunmakta olup, klinik izolatlarda en yaygın olarak tip 5 kapsüller protein ve tip 8 kapsüller proteinin varlığı tespit edilmiştir. Hem tip 5 kapsüller proteinin hem de tip 8 kapsüller proteinin, *S. aureus*'un sahip olduğu çeşitli virulens etkileri ile beraber bazı hastalıklara sebebiyet verdiği belirtilmiştir (Visansirikul ve diğerleri, 2020).

2.2.2.2. Hücre Duvarı

Hücre duvarı ile ilişkili olan hücreler arası polisakkarit adezinleri ve *S. aureus* kapsüller polisakkaritleri, yapışkanlığı artırarak biyofilm oluşumunu geliştirmekte, antibiyotik ve bağışıklık savunmalarına karşı direnç sağlamaktadırlar. Lipoteikoik asit ve peptidoglikan olmak üzere *S. aureus*'un hücre duvarında iki ana bileşen bulunmaktadır ve kapsül, etkenin fagositoza karşı olan direncini arttırmaktadır. Lipoteikoik asidin hidrofobik alanı ise yapışkanlığın arttırılmasında rol oynamaktadır (Ferry ve diğerleri 2005, Gonzalez ve diğerleri, 2020). *S. aureus*, hücre duvarı bağlantılı proteinler (Cell Wall Associated - CWA) olarak bilinen yüzey proteinleri de dahil olmak üzere çok çeşitli virulens faktörleri içermektedir (Foster ve diğerleri, 2014).

2.2.2.3. Yüzey Proteinleri

S. aureus, patojenin konak dokuya bağlanmasını sağlayan, yüzeye bağlı protein seti üretmektedir. Stafilokokal Protein A (SpA) *S. aureus*'un çok işlevli bir yüzey proteindir ve immün yanıtta kaçınmaya katkıda bulunan virulens faktörleri arasında önemli bir role sahiptir. SpA, immüoglobulinin kristalize olabilen fragment (Fc) kısmına bağlanarak konakçının bağışıklık tepkisini sınırlar. Hemen hemen tüm *S. aureus* izolatları, immüoglobulinleri bağlayan ve fagositozu engelleyen SpA proteinini sentezler (Lacey ve diğerleri, 2016; Gonzalez ve diğerleri, 2020). *S. aureus*'un yüzey proteinleri arasında Pls (plazmine duyarlı protein) de bulunmaktadır. Plazmine duyarlı proteinin hücresel lipidlere ve glikolipidlere yapışmaya aracılık ettiği, bakteri hücreleri arası etkileşimleri de desteklediği bilinmektedir (Josefsson ve diğerleri, 2005; Lacey ve diğerleri, 2016).

2.2.2.4. Enzimler ve Toksinler

S. aureus konakçı üzerinde varlığı sürdürmek ve konakçının savunmasından kaçabilmek adına birçok enzim (stafilokinaz, penisilinaz, katalaz, koagulaz, hyaluronidaz, deoksiribonükleaz, termonükleaz) üretmektedir.

Stafilokokların virulens faktörü olarak stafilokinaz enziminin rolünün, konak proteinlerinden plazminojen ve α -defensinler ile etkileşimi sonucundan kaynaklandığı varsayılmaktadır. Stafilokok yüzeyine bağlı plazminojen-stafilokinaz kompleks yapıları, bakteri etrafında koruyucu bir bölge oluşturabilmektedir (Bokarewa ve diğerleri, 2006).

Penisilinaz olarak adlandırılan ve beta-laktamaz enzimini kodlayan geni taşıyan stafilokokal penisilinaz, beta-laktam halkası bulunan bileşikleri parçalayarak penisilin dirençliliğine neden olmaktadır. 1960'lı yılların sonunda hem toplum hem de hastane kaynaklı *S. aureus* izolatlarının yaklaşık %80'i penisiline dirençli iken 2000'li yılların başında ise %90'ından fazlasının toplum veya hastane fark etmeksizin penisilinaz enzimini ürettiği tespit edilmiştir. *S. aureus*'ta penisilinaz kaynaklı dirençle karşılaşılması ile yarı sentetik bir penisilin olan metisilin, 1961 yılında kliniklere girmiş ancak kısa bir süre içinde *S. aureus* izolatlarının metisiline karşı direnci (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* - MRSA) bildirilmiştir. Başta Avrupa ülkeleri olmak üzere dünyanın farklı yerlerinde artan sayıda MRSA salgınları rapor edilmiş ve bu raporlardaki vakaların hastane kaynaklı olması ile birlikte MRSA, hastane kaynaklı bir patojen olarak ortaya çıkmıştır. MRSA izolatlarının beta-laktam antibiyotiklere direnç mekanizması ise 1981 yılında ortaya çıkarılmıştır (Gnanamani ve diğerleri, 2017; Craft ve diğerleri, 2019).

Katalaz enzimi, fagolitik hücrelere karşı bir savunma mekanizması olarak kullanılmaktadır ve üretilen enzim aracılığı ile hidrojen peroksiti ayrıştırmaktadır. Katalaz üretiminin, *S. aureus*'un in vivo veya in vitro çoğalması için gerekli görülmediği belirtilmektedir (Bertrand ve diğerleri, 2002; Das ve Bishayi, 2009).

Neredeyse bütün *S. aureus* izolatları, organizmanın tanımlanmasını sağlayan bir virulens faktör olan koagulaz enzimini üretmektedir. *S. aureus* suşlarının çoğu, hücre duvarının yüzeyinde bağlı bir koagulaz veya topaklanma faktörüne sahiptir. Hücre duvarının yüzeyindeki bağlı koagulaz, lam testinde pıhtı oluşumu ile belirlenmektedir. Tüp koagulaz testinde tespit edilen serbest koagulaz ise, hücre dışı olarak salgılanmakta ve plazmada koagulaz reaksiyon faktörü (Coagulase Reacting Factor - CRF) adı verilen bir madde ile reaksiyona girerek bir kompleks oluşturmakta ve bu da fibrinojen ile reaksiyona girerek fibrin (pıhtı oluşumu) oluşturmaktadır. Lam koagulaz testi ile negatif sonuç veren suşlar, tüp koagulaz testi ile teyit edilmelidir. Çoğu *S. aureus* suşunun tanımlanması, katalaz aktivitesine sahip olup olmadığı aracılığı ile belirlenebilmekle birlikte, katalaz aktivitesinin yanı sıra koagulaz aktivitesinin tespitinin de virulensin belirlenmesine katkıda bulunabileceği belirtilmektedir (Bertrand ve diğerleri, 2002; Gnanamani ve diğerleri, 2017; Procop ve diğerleri, 2017).

Hyaluronidaz, çoğu *S. aureus* suşları tarafından salgılanan ve cilt enfeksiyonlarında rol oynayan önemli bir virulens faktördür. Hyaluronidaz, hücreleri ve virulens etkenleri doku yoluyla yayma becerisine sahip olduğundan temel virulens faktörlerden biri olduğu kabul edilmektedir (Bean ve diğerleri, 2014; Ibberson ve diğerleri, 2014).

Deoksiribonükleaz (DNaz) enzimi, stafilokokların patojenitesi ile ilişkilidir ve stafilokokların tanımlanmalarında virulens faktörlerden biri olarak DNaz enzimi aktivitesinden yararlanılmaktadır. Ayrıca patojenik stafilokokların normal flora üyelerinden ayrılması, DNaz aktivitesinin belirlenmesi ile tespit edilebilmektedir (Gündoğan ve Ataol, 2012).

Termonükleaz enzimi, gıda ve klinik örneklerdeki *S. aureus*'un tanımlanmasında belirteç olarak kullanılmakta olan önemli bir virulens faktördür. Termonükleaz, konakçı hücrelerde hem DNA hem de RNA'yı hidrolize ederek doku yıkımına sebebiyet verebilen bir ekzoenzimdir (Hu ve diğerleri, 2013; Sultan ve diğerleri, 2019).

S. aureus, sentezleyebildiği toksinler aracılığı ile hücreler arası bağlantıları bozarak bağışıklık tepkilerini engelleyip konakçının hücre zarlarına zarar verebilmektedir. Bunlar arasında stafilokokal hemolizinler, Panton Valentine Lökosidin (PVL), Stafilokokal Enterotoksinler (SE) ve Toksik Şok Sendromu Toksin-1 (TSST-1) gibi hücre dışı toksinler bulunmaktadır. Bu toksinler gıda zehirlenmesinin, insanları ve hayvanları etkileyen diğer birçok klinik belirtilerin sebeplerinden biridir (Kong ve diğerleri, 2016; Oliveira ve diğerleri, 2018).

Hemolizinler *S. aureus* için önemli bir virulens faktörüdür ve alfa toksin (α -toksin), beta toksin (β -toksin), gama toksin (γ -toksin) ve delta toksin (δ -toksin) olmak üzere dört tipe ayrılmaktadır. Bahsedilen toksin tipleri arasındaki alfa-toksin (hemolizin), çoğu patojenik suş tarafından üretilerek insanlar için ana patojenik faktör olduğu belirtilmiştir (Zhao ve diğerleri, 2020; Sadat ve diğerleri, 2022).

Panton Valentine Lökosidin (PVL), *S. aureus* tarafından üretilen güçlü bir ekzotoksin olmakla beraber, vücudun savunma sistemine ve bağışıklık tepkisine zarar vermektedir. Gerçekleştirilen araştırmalarla birlikte özellikle metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) ile ciddi klinik belirtilere neden olduğu belirlenen PVL'nin, toplumla ilişkili MRSA'ların çoğunda bulunduğu tespit edilmiştir (Gnanamani ve diğerleri, 2017; Zhao ve diğerleri, 2020).

Stafilokokal Enterotoksin F (SEF) terimi, Toksik Şok Sendromu Toksin-1 (TSST-1) ile ilişkili *S. aureus* izolatları tarafından yaygın olarak üretilen bir ekzotoksin için tanımlanmakta iken toksinin emetik aktiviteden yoksun olduğu tespit edilerek enterotoksin isimlendirme

sisteminden kaldırılması sonucu, bu toksin sadece TSST-1 olarak adlandırılmaya başlanmıştır. Stafilocokların virulens faktörlerinden biri olan TSST-1, birçok klinik belirtinin şekillenmesi, çoklu organ yetmezliği ve son olarak ölümlerle karakterize olan, toksik şok sendromuna sebebiyet veren güçlü bir toksindir. TSST-1, T hücrelerini spesifik olmayan bir şekilde aktive ederek fazla miktarda sitokin üretmektedir ve aşırı bir bağışıklık tepkisi oluşturmaktadır (Park ve Seo, 2019; Sadat ve diğerleri, 2022).

2.2.2.4.1. Stafilokokal Enterotoksinler

S. aureus'un virulens gen ekspresyonunun nasıl düzenlendiği, stafilokokal hastalıklarının patogenezinin tanımlanmasında önemlidir. Toksinlerin üretimi temel olarak bakteri hücre yoğunluğu, beslenme durumu ve enerji kullanılabilirliği gibi çevresel sinyallere yanıt veren aksesuar gen düzenleyici (accessory gene regulator - *agr*) olarak adlandırılmakta olan bir sistem tarafından yönetilmektedir (Kong ve diğerleri, 2016; Yamanashi ve diğerleri, 2022).

Başta *S. aureus* olmakla beraber *S. intermedius* ve *S. hyicus* gibi birçok stafilokok türü Stafilokokal Enterotoksin (SE) üretebilmektedir. Bazı koagülaz negatif stafilokoklar dahil olmak üzere birçok türün gastroenterite neden olma potansiyeli olmasıyla birlikte, çoğu stafilokokal gıda zehirlenmeleri vakaları *S. aureus* ile ilişkilendirilmektedir. Bunun nedeni, diğer stafilokok türlerine kıyasla *S. aureus* tarafından SE üretiminin yüksek prevalansından kaynaklanmaktadır. Bu toksinler, kontamine gıdalarda bozulmadan kalmakta ve gıda zehirlenmelerine sebebiyet vermektedirler. Bu nedenle SE'lerin tespiti, kesin bir stafilokokal gıda zehirlenmesinin teşhisi için önemlidir (Zhao ve diğerleri, 2016; Park ve Seo, 2019).

Toksinlerin belirlenmesi, toksinin emetik aktivite gösterip göstermediği dikkate alınarak yapılmaktadır. Emetik aktivite sergilemekte olan enterotoksinler SE olarak tanımlanmakta iken emetik aktiviteden yoksun olan enterotoksinler ise Stafilokokal Enterotoksin Benzeri Toksinler (Staphylococcal Enterotoxin Like Toxin - *SEI*) olarak belirlenmiştir (Zhao ve diğerleri, 2016; Tarris ve diğerleri, 2021).

Günümüze kadar birçok SE keşfedilmiştir ve keşif sırasına göre alfabenin bir harfi ile birlikte isimlendirilmiştir. Böylece, antijenik özellikleri temel alınan klasik enterotoksinler 5 temel serolojik tipe (SEA, SEB, SEC, SED, SEE) ayrılmıştır. Başlangıçta SEF terimi, Toksik Şok Sendromu Toksin-1 (TSST-1) ile ilişkili *S. aureus* izolatları tarafından yaygın olarak üretilen bir ekzotoksin için kullanılmakta iken toksinin emetik aktiviteden yoksun olduğunun

belirlenmesi ile birlikte, SE isimlendirme sisteminde kullanımdan kaldırılmıştır ve TSST-1 olarak isimlendirilmiştir (Park ve Seo, 2019; Sadat ve diğerleri, 2022).

22 ile 29 kDa arasında değişen moleküler ağırlığa sahip tek zincirli proteinlerden oluşan SE ve SEI'lerin, bugüne kadar 27 farklı türü tespit edilmiştir. Bunlar; emetik aktivite gösteren 19 tane SE'den (SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEG, SEH, SEI, SEK, SEL, SEM, SEN, SEO, SEP, SEQ, SER, SES, SET, SEY) ve henüz emetik aktiviteleri doğrulanmamış olan 8 tane SEI'den (SEI/J, SEI/U, SEI/V, SEI/W, SEI/X, SEI/Z, SEI/26, SEI/27) oluşmaktadır (Tarisse ve diğerleri, 2021; Lefebvre ve diğerleri, 2022).

Klasik enterotoksin genlerinin sentezinden sorumlu olan genler *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, ve *see*'den oluşmaktadır. Enterotoksin üreten *S. aureus* suşları tarafından üretilerek, bu genleri kodlaması sonucu oluşan enterotoksinler ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesi, gıda intoksikasyonlarına sebebiyet verebilmektedir. SEA, tek başına veya diğer SE'lerle beraber, dünya çapında stafilocokal gıda intoksikasyonlarına en fazla sebebiyet veren toksindir ve bunu diğer klasik enterotoksin tipleri izlemektedir. SEB, gıda zehirlenmesi ile ilişkilendirilmesinin yanında, solunum yolu aracılığı ile de bulaşan, potansiyel bir biyolojik silah olarak tanımlanmaktadır. Bir araştırmada, SED'nin dünya çapında gıda zehirlenmesine neden olan en yaygın ikinci stafilocokal toksini olduğu öne sürülmüştür. SEA ve SED mide proteazlarına karşı dirençlidirler ve tek başına veya diğer stafilocokal enterotoksinler ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesi sonucunda ölüme sebebiyet verebilmektedirler. 2000 yılında Japonya'da süt tüketiminden kaynaklanan büyük çaplı gıda zehirlenmesinin sebebinin ise SEH toksini olduğu bildirilmiştir (Pinchuk ve diğerleri, 2010; Zhao ve diğerleri, 2020; Tarisse ve diğerleri, 2021; Yoon ve diğerleri, 2022).

Tablo 5'te bazı yaygın olan stafilocokal enterotoksinler ve özellikleri belirtilmiştir.

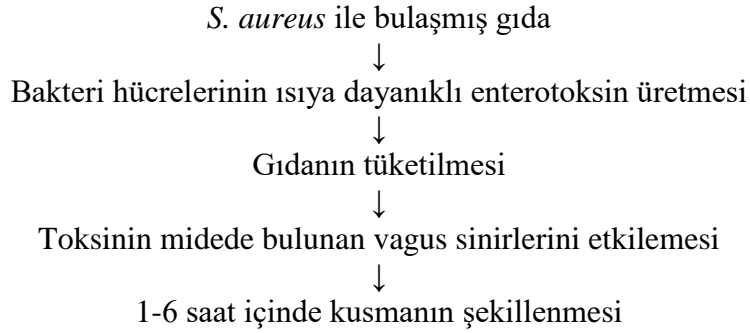
Tablo 5. Bazı Stafilokokal Enterotoksinler (SE) ve özellikleri (Pinchuk ve diğerleri, 2010).

Stafilokokal Enterotoksin Türü	Özelliği
SEA	Stafilokokal gıda zehirlenmesi ile ilişkili bulunan en yaygın toksin
SEB	Gıda zehirlenmesi ile ilişkili ve biyolojik silah olarak kullanım potansiyeli
SEC	Genel olarak hayvanlardan izole edilmesi
SED	Gıda zehirlenmesi ile ilişkili
SEE	Gıda zehirlenmesi ile ilişkili
SEF	Toksik şok sendromu ile ilişkili
SEG	Gıda zehirlenmesinde ili az ilişkili
SEH	Gıda zehirlenmesi ile ilişkili
SEI	Gıda zehirlenmesinde ili az ilişkili

SE'ler, pastörizasyon gibi ısı işlemlere, düşük pH gibi zorlu koşullara ve proteolitik enzimlere karşı dirençlidirler ve SE ile kontamine olmuş gıda tüketimi ile birlikte sindirim sisteminde aktivitelerini koruyabilmektedirler. Klasik enterotoksinlerden bir tanesi veya birden fazlasının kombinasyonu, stafilokokal gıda zehirlenmesine neden olabilmektedir. Birkaç nanogram SE ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesi, hızlı şekillenen ve şiddetli olan mide bulantısı, karın krampları, kusma ve ishal gibi semptomlara sebebiyet verebilmektedir. Bu sebeplerden ötürü SE'lerin halk sağlığı için bir tehdit olduğu varsayılmaktadır (Kayılı ve Şanlıbaba, 2020; Lefebvre ve diğerleri, 2022).

Gıda zehirlenmesine sebebiyet verebilecek enterotoksin üretimi için, gıdalarda *S. aureus*'un 10^5 kob/g düzeyinden fazla bulunmasının yeterli olduğu tespit edilmiştir. Bununla beraber SE'ler, 20 ila 100 nanogram arasında değişen çok düşük dozlarda bile gıda zehirlenmelerine sebebiyet verebilmektedirler (Zhao ve diğerleri, 2020; Tarris ve diğerleri, 2021).

Enterotoksijenik *S. aureus* suşları tarafından üretilen enterotoksin intoksikasyon mekanizmasının basamakları Şekil 6’da verilmiştir (Bibek ve Bhunia, 2021).



Şekil 6. Enterotoksijenik *S. aureus* suşları tarafından üretilen enterotoksin intoksikasyon mekanizması (Bibek ve Bhunia, 2021).

Toksinin vücuda alınması ile midede bulunan sinirlerin uyarılması, mide bulantısı, karın krampı ve şiddetli kusma gerçekleşebilmektedir. Terleme, ürperme, baş ağrısı ve su kaybı gibi semptomlar ikincil semptomlar olarak şekillenebilmektedir. İntoksikasyon ile gerçekleşen semptomlar kişiden kişiye farklılık gösterebilmekle beraber, semptomların gerçekleşme süresi toksin miktarına ve kişinin direncine de bağlı bulunabilmektedir (Bibek ve Bhunia, 2021).

Protein içeriği yüksek olan gıdalar, et ve et ürünleri, süt ve süt ürünleri, çiğ süt, pişmiş yumurta ve yumurta ile hazırlanan ürünler, karışım halindeki gıdalar, salatalar, pasta kremaları ve insan elinin sıkça temas ettiği gıdalar stafilokokal intoksikasyonlara sebebiyet vermekte olan gıdalardandır. Aynı zamanda gıdaların üretilmesi ile işlenmesi esnasındaki yetersiz hijyen uygulamaları ve gıdaların depolanması esnasındaki uygun olmayan koşullar kontaminasyona sebebiyet verebilmektedirler (Sağlam ve Şeker, 2016; Bibek ve Bhunia, 2021; Tarris ve diğerleri, 2021).

Peynir, süt ve süt ürünlerinden kaynaklanan stafilokokal gıda zehirlenmelerine sebebiyet vermekte olan gıdalardan bir tanesidir. *S. aureus*'un neden olduğu meme dokusunun bulaşıcı bir hastalığı olan mastitise sahip hayvanların sütlerinden üretilen peynirler intoksikasyona sebebiyet verebilmektedirler. Ayrıca peynir işlenmeden önce, işlenmesi esnasında ya da işlendikten sonra da *S. aureus* ile kontaminasyona uğramış olabilmektedir (Küçükçetin ve Milci, 2008; Park ve Seo, 2019).

2.2.3. Stafilokokal Gıda İntoksikasyonlarının ve Gıda Alanında *S. aureus*'un Yayılım Durumu

Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Avrupa Birliği (AB), gıdaların neden oldukları intoksikasyonları kayıt altına almakta ve bu verileri istatistiksel olarak yayımlamaktadır. ABD'de Hastalık Kontrol ve Engelleme Merkezi (The Centers for Disease Control and Prevention - CDC), AB'de ise Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority - EFSA) ve Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (European Centre for Disease Prevention and Control - ECDC) tarafından raporlaştırılarak yayımlanmakta olan verilere, güncel olarak yayımlanmış şekli ile çalışmanın bu kısmında yer verilecektir.

Tablo 6'da, CDC tarafından hazırlanıp ABD'de 2015-2017 yıllarında bildirilmiş olan stafilokokal gıda intoksikasyonları ile ilgili veriler yer almaktadır.

Tablo 6. ABD'de 2015-2017 yıllarında bildirilmiş olan stafilokokal gıda intoksikasyonları ile ilgili veriler.

Yıl	Salgın Sayısı	Vaka Sayısı	Hastaneye Yatırılan Sayısı	Kaynak
2015	13	291	31	CDC (2017)
2016	14	237	21	CDC (2018)
2017	12	128	-	CDC (2019)

CDC'nin bildirmiş olduğu ABD'de 2015 yılında gıdaların neden oldukları intoksikasyon raporunda, stafilokokal intoksikasyonların neden olduğu hastaneye yatışlar ile gıdaların ilişkileri incelendiğinde, tavuk etinden kaynaklanan salgın sayısının 2, vaka sayısının 102 ve hastaneye yatırılan kişi sayısının 31 olduğu, ölüm sayısının olmadığı bildirilmiştir (CDC, 2017). Aynı şekilde 2016 yılına ait raporda, domuz etinden kaynaklanan salgın sayısının 4, vaka sayısının 170 ve hastaneye yatırılan kişi sayısının 18 olduğu ve ölüm sayısının olmadığı bildirilmiştir (CDC, 2018). CDC'nin 2019 yılında yayımlanmış olduğu 2017 yılında gıdaların

neden oldukları intoksikasyon raporunda, stafilokokal intoksikasyonların neden olduğu hastaneye yatışlar ve gıdaların ilişkileri ile ilgili bir veriye rastlanılamamıştır.

Tablo 7’de, EFSA ve ECDC tarafından hazırlanıp AB’de 2018-2020 yıllarında bildirilmiş olan stafilokokal gıda intoksikasyonları ile ilgili veriler yer almaktadır.

Tablo 7. AB’de 2018-2020 yıllarında bildirilmiş olan stafilokokal gıda intoksikasyonları ile ilgili veriler.

Yıl	Salgın Sayısı	Vaka Sayısı	Hastaneye Yatırılan Sayısı	Kaynak
2018	114	1124	167	EFSA ve ECDC (2019)
2019	74	1400	141	EFSA ve ECDC (2021)
2020	43	402	32	EFSA ve ECDC (2021)

EFSA ve ECDC’nin bildirmiş olduğu AB’de 2018 yılında gıdaların neden oldukları intoksikasyon raporu incelenmiştir. Raporda gıda kaynaklı salgınlarda en fazla hastaneye yatış sayısına neden olan ilk 10 patojen ve gıda aracı çifti sıralaması incelendiğinde, stafilokokal intoksikasyonlar 7. sırada bulunmaktadır. İntoksikasyona neden gıda aracı olarak et ve et ürünlerinin olduğu tespit edilmiş ve hastaneye yatırılan kişi sayısının 57, ölüm sayısının ise olmadığı bildirilmiştir (EFSA ve ECDC, 2019). Aynı şekilde 2019 yılına ait raporda stafilokokal intoksikasyonlar yine 7. sırada bulunmaktadır. İntoksikasyona neden gıda aracı olarak karışım halindeki gıdaların olduğu tespit edilmiş ve hastaneye yatırılan kişi sayısının 53, ölüm sayısının ise olmadığı bildirilmiştir (EFSA ve ECDC, 2021). EFSA ve ECDC’nin 2021 yılında yayımlanmış olduğu 2020 yılında gıdaların neden oldukları intoksikasyon raporu incelendiğinde, gıda kaynaklı salgınlarda en fazla hastaneye yatış sayısına neden olan ilk 10 patojen ve gıda aracı çifti sıralamasında, stafilokokal intoksikasyonlar ile ilgili bir veriye rastlanılamamıştır.

AB’de gıdalardaki stafilocokal enterotoksinlerin limitleri, EC 2073/2005 sayılı yönetmelik çerçevesinde düzenlenmiştir. Bu bağlamda 2018 yılında AB’ye raporlama yapan 3 ülkeden (Romanya, Slovakya ve Slovenya) alınan 815 gıda örneği incelenmiş ve Romanya’da koyun sütünden üretilmiş peynir örneklerinden 4 tanesinde stafilocokal enterotoksin tespit edilmiştir (EFSA ve ECDC, 2019). 2019 yılında Romanya ve İspanya’da peynir, süt tozu ve peynir altı suyu tozundan oluşan toplam 1522 gıda örneği kontrol edilmiş ve Romanya’da inek sütünden üretilmiş olan sert peynirlerden alınan 3 peynir örneğinin stafilocokal enterotoksin taşıdığı tespit edilmiştir (EFSA ve ECDC, 2021). 2020 yılında 4 üye ülkeden (Hırvatistan, Estonya, Romanya ve İspanya) alınan 723 gıda örneği incelenmiş ve İspanya’da çiğ veya düşük ısı ile işleme tabi tutulmuş süttten üretilen keçi peyniri örneklerinden 1 tanesinin stafilocokal enterotoksin taşıdığı bildirilmiştir (EFSA ve ECDC, 2021).

Türkiye’de 2011 yılında yayımlanan Türk Gıda Kodeksi (TGK) Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği’nde gıdalardaki koagulaz pozitif stafilocokların ve stafilocokal enterotoksinlerin limitleri belirlenmiş olmakta beraber, gıdaların neden oldukları intoksikasyonlara ait kayıtların verileri istatistiksel olarak yayımlanmamaktadır (TGK, 2011). Bu bağlamda Türkiye’de *S. aureus* ile ilgili gerçekleştirilmiş olan çalışmalardan bahsedilecektir.

Türkiye’de yapılmış olan çalışmalardan bir tanesinde; 50 dana eti, 50 kıyma, 50 hindi eti, 50 tavuk eti, 25 beyaz peynir, 25 kaşar peyniri, 25 krem peynir ve 25 şişe pastörize süt olmak üzere toplamda 300 farklı gıda örneği analiz edilmiştir. Analizler sonucunda 112 adet (%37,3) örnek *S. aureus* pozitif olarak tespit edilmiştir (Koluman ve diğerleri, 2011).

Türkiye’de yapılan bir diğer çalışmada, Ankara ilinde 50 adet beyaz peynir, 50 adet çiğ süt, 50 adet dondurmadan oluşan toplam 150 adet gıda örneği analiz edilmiştir. Analizler sonucunda 24 adet (%48) beyaz peynir örneği, 28 adet (%56) çiğ süt örneği ve 18 adet (%36) dondurma örneği, toplamda ise 70 adet (%46,6) örnek *S. aureus* pozitif olarak tespit edilmiştir (Gündoğan ve Avcı, 2014).

Hatay ilinde gerçekleştirilmiş olan bir çalışmada 50 adet peynir, 50 adet çiğ süt, 30 adet kıyma ve 30 adet tavuk etinden oluşan toplamda 160 adet gıda örneği incelenmiştir. İncelenen örneklerden 20 tanesinin (%12,5) *S. aureus* ile kontamine olduğu tespit edilmiştir (Can ve diğerleri, 2017).

Ankara ilinde 387 adet peynir örneği ile gerçekleştirilmiş olan bir diğer çalışmada, 85 adet (%22) peynir örneğinin *S. aureus* içerdiği belirlenmiştir (Kayılı ve Şanlıbaba, 2020).

Bingöl ilinde 64 adet beyaz peynir örneği ile gerçekleştirilmiş olan bir çalışmada ise, 24 adet (%37,5) peynir örneği *S. aureus* pozitif olarak tanımlanmıştır (Güngören ve diğerleri, 2022).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Bu çalışmada 2021 yılında Aydın ilinin çeşitli ilçelerindeki (Çine, Efeler, İncirliova, Köşk, Kuşadası, Nazilli, Söke) farklı mandıralarda üretilen ve satışa sunulan tulum ve beyaz peynirlerde *S. aureus* varlığı ve klasik enterotoksin genleri araştırılmıştır. Bu bağlamda 100 numune (50 tulum peyniri, 50 beyaz peynir), her birinden 100 gram olacak şekilde steril poşetler içerisinde, soğuk zincir altında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Laboratuvarına getirilmiş ve *S. aureus* varlığı yönünden incelemeye tabi tutulmuştur.

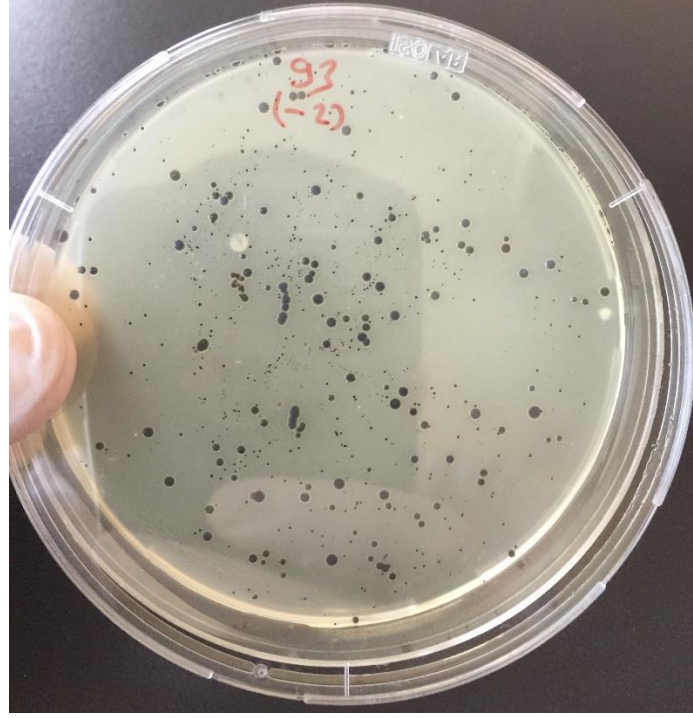
3.2. Yöntem

3.2.1. Standart Bakteriyoloji ile *S. aureus*'un İzole Edilmesi

Araştırma yapılan örneklerdeki *S. aureus* varlığının konvansiyonel olarak tespiti Türk Standartları Enstitüsü (TSE), TS 6582-1 EN ISO 6888-1 (2001) standardı çerçevesinde araştırılmıştır.

Peynir numuneleri 10'ar gram tartılarak steril stomacher torbalarına aktarılmıştır. Stomacher torbalarında bulunan numunelerin üzerlerine 90 ml tamponlanmış peptonlu su (Oxoid CM0009) ilave edilerek her bir örnek stomacher cihazında (Bagmixer, Interscience, France) 2 dakika süre ile homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenizatlardan desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır. Bu işlemlerden sonra Egg Yolk Tellurite Emülsion (Oxoid SR0054) ilave edilmiş Baird Parker Agar'a (Oxoid CM0275) yayma plak yöntemiyle ekimler yapılmış ve inkübasyona bırakılmıştır (37°C'de, 24-48 saat). İnkübasyonun tamamlanmasını takiben siyah renkte, parlak, konveks, etrafında berrak zon oluşturan lesitinaz pozitif koloniler *S. aureus* şüpheli olarak kabul edilmiş ve bu şüpheli kolonilerden örneklemeye tabi tutulmuş ve 5 adet seçilip Gram boyama yapılmıştır. Gram pozitif olarak belirlenen koloniler, katalaz testi, lam koagülaz testi, tüp koagülaz testi, DNaz aktivitesi testi, mannitol fermantasyon testi ve lateks

aglutinasyon testine tabi tutulmuştur. Gerçekleştirilen konvansiyonel testlerin sonucunda pozitif olarak tespit edilen koloniler *S. aureus* olarak kabul edilmiştir. Resim 1’de gerçekleştirilen çalışma kapsamında elde edilen *S. aureus* kolonilerinin Baird Parker Agar’da oluşan tipik görünümü verilmiştir.



Resim 1. *S. aureus* kolonilerinin Baird Parker Agar’da oluşan tipik görünümü.

3.2.2. *S. aureus*’un İdentifike Edilmesi

Baird Parker Agar’da izole edilmiş şüpheli koloniler identifikasyon ve saflaştırma işlemlerinin yapılması için öze aracılığı ile Tryptone Soya Agar’a (TSA) (Oxoid CM0131) geçişi yapılarak 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.2.1. Gram Boyama

Temiz bir lam üzerine bir damla serum fizyolojik damlatılmış ve TSA’da üretilmiş olan bakteri kolonilerinden alınan koloni lamın üstünde homojen bir hale getirilmiştir. Hazır halde

bulunan lam ateşte fikse edilmiş ve 2 dakikalık süre boyunca kristal viyole çözeltisi ile kaplanmıştır. Devamında distile su ile lam yıkanmış ve yıkama işlemi sonrasında lam üzeri lügol çözeltisi ile kaplanarak 2 dakika beklenmiştir. Sürenin tamamlanması ile birlikte lam üzerindeki lügol çözeltisi dökülmüş ve dekolazasyon işlemi için lamın üzerine %96'lık etil alkol yayılarak 10-15 saniye beklenmiştir. Ardından distile su ile yıkanan lam, karbol fuksil boyası kaplanarak 30 saniye kadar beklenmiştir. Sürenin sona ermesi ile lam bol miktarda distile suyla yıkanarak kurutma kağıdı aracılığıyla kurutulmuş ve ışık mikroskobu altında 100x objektif aracılığı ile incelenmiştir. İncelenen kolonilerde mor renkte (gram pozitif) ve üzüm salkımı görünümüne sahip düzensiz kümeler oluşturmuş olan mikroorganizmalar stafilokok olarak değerlendirmeye alınmıştır (Güven ve Zorba, 2021).

3.2.2.2. Katalaz Testi

Öze aracılığı ile identifikasyon işlemi için TSA'da üretilmiş olan bakteri kültüründen alınmış ve temiz bir lam üzerinde bir iki damla %3'lük Hidrojen Peroksit (H_2O_2) solüsyonu ile karıştırılmıştır. Hava kabarcığı oluşumu gözlenen koloniler katalaz pozitif olarak değerlendirmeye tabi tutulmuştur. Katalaz enzimine sahip koloniler H_2O_2 'yi su ve oksijene ayırarak güçlü köpük ya da hava kabarcığı oluşumuna sebebiyet vermektedirler (UMS, 2015).

İdentifikasyon için TSA'da üretilmiş olan bakteri kültürlerine katalaz testi uygulanarak pozitif sonuç elde edilen örneğin görüntüsü Resim 2'de gösterilmiştir.

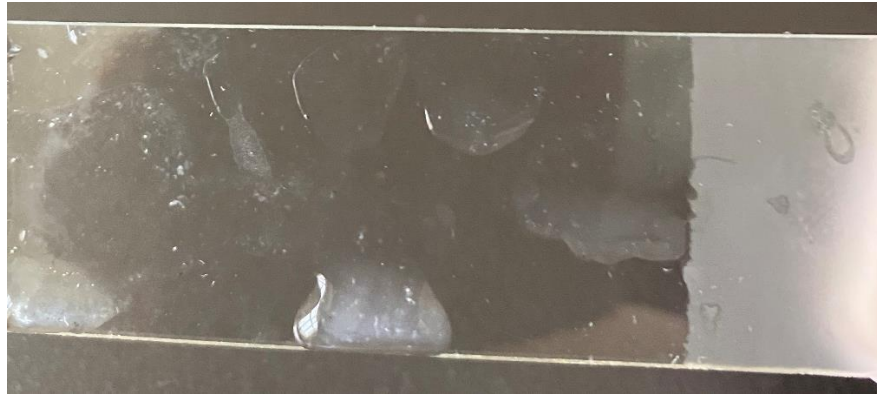


Resim 2. Katalaz testi uygulanan pozitif örneğin görüntüsü.

3.2.2.3. Lam Koagulaz Testi

İdentifikasyon için TSA'da üretilmiş olan bakteri kültüründen öze aracılığı ile alınmıştır. Temiz bir lama, küçük bir damla distile su konularak TSA'da üretilmiş kolonilerden alınmış ve kültür lam üzerinde bulunan distile su ile homojen bir süspansiyon elde edilecek biçimde karıştırılmıştır. Oluşturulan süspansiyona 10-15 µl tavşan plazması eklenerek yavaşça yeniden karıştırılmış ve 10 saniyede gözle ayırt edilebilecek bir kümeleşme olup olmadığı tespit edilmiştir. Plazma ilavesi sonucunda kümeleşme olan örnekler pozitif olarak değerlendirmeye alınmıştır (UMS, 2015).

İdentifikasyon için TSA'da üretilmiş olan kolonilere lam koagulaz testi uygulanarak pozitif sonuç elde edilen örneğin görüntüsü Resim 3'te gösterilmiştir.



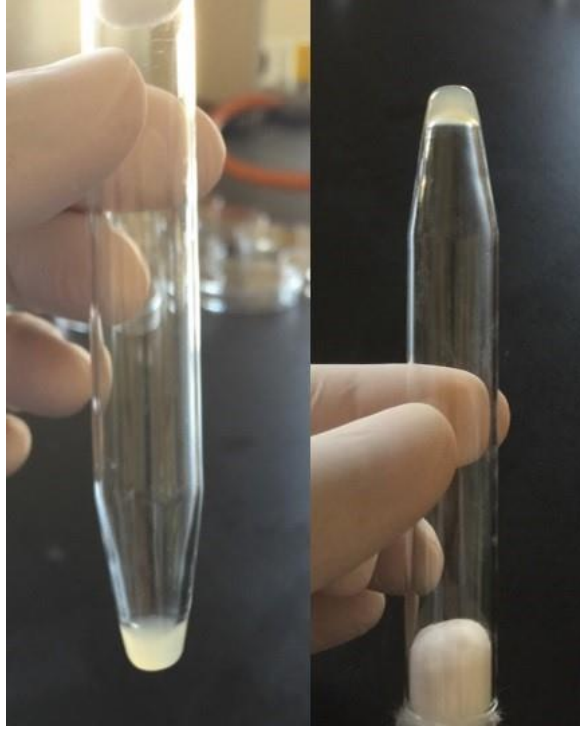
Resim 3. Lam koagulaz testi uygulanan pozitif örneğin görüntüsü.

3.2.2.4. Tüp Koagulaz Testi

TSA'da identifikasyonu yapılmış olan bakteri kültüründen öze aracılığı ile Nutrient Broth'a (NB) (Oxoid CM0001) inokulasyonlar yapılmış ve 37°C'de 24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun tamamlanması ile birlikte her kültürden 0,1 ml alınarak içerisinde 0,3 ml tavşan plazması bulunan tüplere eklenip 37°C'de 4-6 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonunda koagulum şekillenen tüpler pozitif olarak değerlendirmeye tabi tutulmuştur. Koagulum şekillenmeyerek negatif olarak değerlendirilen

tüplerin inkübasyonu 24 saate uzatılarak yeniden değerlendirmeye tabi tutulmuştur (TSE, 2001).

Tüp koagülaz testi uygulanarak pozitif sonuç elde edilen örneğin görüntüsü Resim 4'te gösterilmiştir.

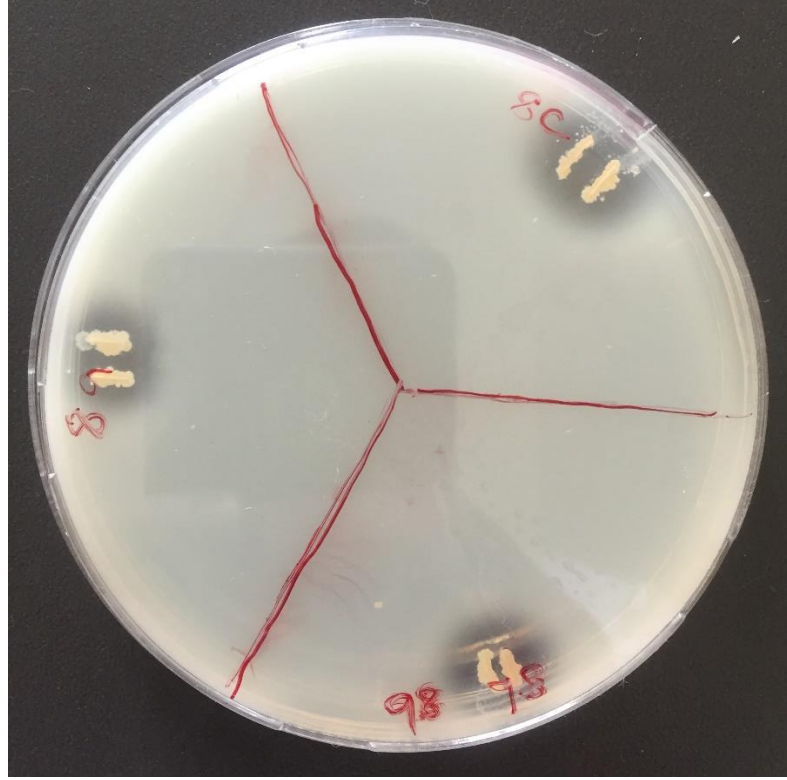


Resim 4. Tüp koagülaz testi uygulananan pozitif örneğin görüntüleri.

3.2.2.5. DNaz Testi

DNaz Agar'a (Oxoid CM321), NB'den elde edilen kültürlerden öze aracılığı ile geçişleri yapılarak 37°C'de 24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun tamamlanması ile birlikte 1N HCl (Merck 100314.2500) petri yüzeyini kaplayacak biçimde dökülmüş ve bakteri kolonilerinin etrafında berrak zonların oluştuğu örnekler DNaz pozitif olarak değerlendirmeye alınmıştır (Kateete ve diğerleri, 2010).

DNaz testi uygulanarak pozitif sonuç elde edilen örneklerin görüntüsü Resim 5'te gösterilmiştir.

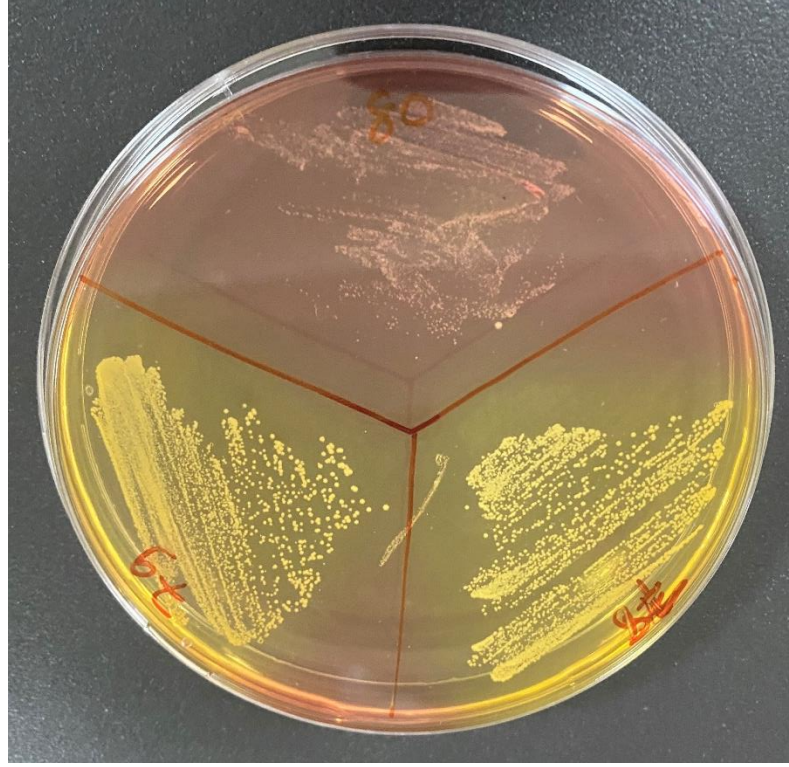


Resim 5. DNaz testi uygulanan pozitif örneklerin görüntüleri.

3.2.2.6. Mannitol Fermantasyon Testi

Mannitol Salt Agar'a (Oxoid CM0085), NB'den elde edilen kültürlerden öze aracılığı ile geçişleri yapılarak 37°C'de 24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun tamamlanması ile birlikte, fenol kırmızısı rengin sarı renge dönüştüğü kolonilerin bulunduğu örnekler mannitol fermantasyon pozitif olarak değerlendirmeye alınmıştır (Kateete ve diğerleri, 2010).

Mannitol fermantasyon testi uygulanarak pozitif ve negatif sonuç elde edilen örneklerin görüntüsü Resim 6'da gösterilmiştir.



Resim 6. Mannitol fermantasyon testi uygulanan pozitif (sarı renk) ve negatif (kırmızı renk) örneğin görüntüleri.

3.2.2.7. Lateks Aglütinasyon Testi

Dryspot Staphytest Plus testi (Oxoid DR0100), TSA'dan elde edilen kültürlerden öze aracılığı ile alınarak yapılmıştır. 1 damla serum fizyolojik, test kartında bulunan işaretli kısımlara eklenmiştir. Devamında üzerlerine bir öze dolusu koloni konulmuş, homojen bir şekilde iyice yayılması sağlanarak 1 dakika kadar süre ile aglütinasyonun gerçekleşme durumu gözlemlenmiştir. Sürenin tamamlanması ile birlikte aglütinasyonun gözlemlendiği örnekler pozitif olarak değerlendirmeye tabi tutulmuştur. Bu test ile birlikte stafilokokların protein A varlığının ve bağlı koagülaz enziminin belirlenmesi sağlanmıştır (Bridson, 2006).

Lateks aglütinasyon testi uygulanarak pozitif sonuç elde edilen örneklerin test ve kontrol görüntüsü Resim 7'de gösterilmiştir.



Resim 7. Lateks aglütinasyon testi uygulanan pozitif örneğin test ve kontrol görüntüleri.

3.2.2.8. Otomatize İdentifikasyon Cihazı ile İdentifikasyon

BD Phoenix sistemi, Gram pozitif kokların tanımlanması için PMIC/ID adlı bir tanımlama paneli kullanan otomatik bir tanımlama ve duyarlılık testidir (Procop ve diğerleri, 2017). Gerçekleştirilen konvansiyonel test aşamalarının sonuçları pozitif olan kolonilere Tryptone Soya Agar besiyerinde saflaştırma amacıyla pasajları yapılmıştır ve 37°C'de 24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Saf şekilde elde edilen şüpheli kolonilerin, cam tüplerde hazır bir halde bulunan ID Broth (BD Phoenix™ ID Broth) içerisinde McFarland 0,5 koloni yoğunluğuna göre süspansiyonu hazırlanmıştır. Örneklerin hepsi için ayrı ayrı ID Broth süspansiyon tüpleri hazırlanmış, Gram pozitif bakteri identifikasyonu yapan kartuşlar (BD Phoenix PMIC/ID87) kullanılarak BD Phoenix™ M50 otomatize identifikasyon cihazına (Becton Dickinson, ABD) yüklenmiş ve tam identifikasyonları yapılmıştır. İncelenmiş olan her bir örnek için ayrı kartuşlar kullanılmıştır.

Konvansiyonel olarak tespit edilip pozitif olarak değerlendirilen *S. aureus* izolatları, gerçekleştirilecek moleküler analizlerde kullanılmak için %20 gliserol (Merck 1.04092.100) içeren Brain Heart Infusion Broth'ta (Oxoid CM0225) -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3. *S. aureus*'un Genotipik Olarak İdentifike Edilmesi

3.2.3.1. DNA Ekstraksiyonu

Konvansiyonel yöntem ile *S. aureus* olarak belirlenmiş olan izolatların DNA ekstraksiyonu, Thermo Scientific™ Genomic DNA Purification ekstraksiyon kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemi üretici tarafından önerilen kit prosedürüne bağlı kalınarak tamamlanmıştır.

Steril bir ependorf içerisinde bir öze dolusu kültür, 400 µl lizis solüsyonu ile süspense edilmiştir ve 65°C'de 5 dakika süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun tamamlanmasının ardından oluşturulan süspansiyona 600 µl kloroform eklenerek 2 dakika süre ile 10.000 rpm'de santrifüj edilmiş ve devamında süpernatant atılmıştır. Ependorfta kalan pelet üzerine 800 µl presipitasyon solüsyonu ilave edilmiştir ve oda sıcaklığında (21±1°C) 1-2 dakika süre ile karıştırıldıktan sonra 2 dakika boyunca 10.000 rpm'de santrifüj (Hettich, Mikro 200R, Almanya) işlemine tabi tutulmuştur.

Santrifüj işleminin ardından DNA içeren pelet 1,2 M NaCl solüsyonunda çözdürülmüştür ve üzerine 300 µl etanol ilave edilerek -20°C'de 10 dakika süre ile bekletilmiştir. Bekleme süresinin tamamlanması ile beraber 3 dakika süre ile 10.000 rpm'de santrifüj işlemi uygulanmıştır ve devamında %70'lik etanol ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

Son aşamada ise ependorf içerisinde bulunan DNA içeriği, 100 µl steril distile suda çözdürülmüştür. Gerçekleştirilen her bir PCR reaksiyonu için 1-3 µl kalıp (template) DNA kullanılmıştır.

3.2.3.2. *S. aureus*'un PCR ile Tanımlanma Aşamaları

S. aureus tespiti konvansiyonel yöntemlerle tespit edilmiş olan izolatlara, PCR tekniği aracılığı ile doğrulanma işlemi yapılmıştır. *16S rRNA* geni, etkenin termonükleaz aktivitesinden sorumlu *nuc* geni ile koagulaz aktivitesinden sorumlu *coa* geninin varlığı, *S. aureus*'un tanımlanması amacıyla araştırılmıştır.

3.2.3.2.1. *nuc* ve *16S rRNA* Geninin Multipleks PCR Yöntemi ile Tespit Edilmesi

S. aureus'un doğrulanması, Keyvan ve Özdemir (2016) tarafından önerilmiş olan standart PCR yöntemi ile *nuc* ve *16S rRNA* geni kullanılarak tespit edilmiştir. Bu doğrultuda kullanılmış olan primerler Tablo 8'de gösterilmiştir.

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

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

Primer karışımı hazırlanırken, 100 pmol olarak bulunan *nuc* ve *16S rRNA* forward ve reverse primerleri tek tek sulandırılarak 10 pmol yoğunluğuna getirilmiştir. *nuc* ve *16S rRNA* primerlerine, spesifik ürünlerin aranması amacıyla yapılan PCR reaksiyonlarında bir örnek için toplam 25 µl hacminde mastermiks hazırlanarak PCR amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Mastermiks hazırlama aşamasında kullanılmış olan malzemeler ve hacimleri Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 9. *nuc* ve *16S rRNA* geni için mastermiks hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve hacimleri.

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

Tablo 9. *nuc* ve *16S rRNA* geni için mastermiks hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve hacimleri (devam).

Reverse Primer _{miks} (10 pmol)	1 µl
Kalıp DNA	1 µl
ddH ₂ O	8,75 µl
TOPLAM	25 µl

Hazırlanmış olan mastermikslardan her bir örnek için 0,2 ml'lik PCR tüplerine 24 µl aktarılmıştır. Her bir örnek DNA'sı ilgili tüplere 1'er µl eklenmiş ve tüpler sonrasında Applied Biosystems GeneAmp® PCR System 9700 termal döngüleme cihazına (ABD) yüklenmiştir. İşlemin tamamlanmasının ardından elde edilen ampikonlar agaroz jel elektroforez ile görüntülenme aşamasına kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir. Gerçekleştirilen amplifikasyon işlemlerine ait parametre değerleri Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. *nuc* ve *16S rRNA* geni için gerçekleştirilen PCR işlemlerine ait parametre değerleri.

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

3.2.3.2.2. *coa* Geninin PCR Yöntemi ile Tespit Edilmesi

PCR yöntemi ile *nuc* ve *16S rRNA* geni belirlenmiş olan *S. aureus* izolatlarında *coa* geni varlığı analiz edilmiştir. Bu bağlamda *coa* geninin belirlenmesi için Hookey ve diğerleri (1998)

tarafından önerilmiş olan yöntem modifiye edilip uygulanmıştır. *coa* geninin boyutları sabit olmadığından ötürü 500-800 bp arasında olan bantlar gözlemlenebilmektedir (Hookey ve diğerleri, 1998). Kullanılmış olan primerler Tablo 11’de gösterilmiştir.

Tablo 11. *coa* geni için kullanılmış olan primerler.

Gen	Primer Sekansı (5'-3')	Amplikon Büyüklüğü (bp)
<i>coa</i> forw.	ATAGAGATGCTGGTACAGG	500-800
<i>coa</i> rev.	GCTTCCGATTGTTCGATGC	

Spesifik ürünlerin aranması için *coa* primerlerine yapılmış olan PCR amplifikasyonu için toplam 25 µl hacminde mastermiks hazırlanmış ve mastermiks hazırlanmasında kullanılmış olan malzemeler ve hacimleri Tablo 12’de gösterilmiştir.

Tablo 12. *coa* geni için mastermiks hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve hacimleri.

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 _{miks} (10 pmol)	2 µl
Reverse Primer _{miks} (10 pmol)	2 µl
Kalıp DNA	3 µl
ddH ₂ O	5 µl
TOPLAM	25 µl

Hazırlanmış olan mastermikslardan her bir örnek için 0,2 ml’lik PCR tüplerine 22 µl aktarılmıştır. Her bir örnek DNA’sı ilgili tüplere 3’er µl eklenmiş ve tüpler devamında termal döngüleme cihazına yüklenmiştir. İşlemin tamamlanması ile birlikte elde edilen amplikonlar

4°C’de, agaroz jel elektroforez ile görüntülenme aşamasına kadar muhafaza edilmiştir. Gerçekleştirilen amplifikasyon işlemlerine ait parametre değerleri Tablo 13’te gösterilmiştir.

Tablo 13. *coa* geni için gerçekleştirilen PCR işlemlerine ait parametre değerleri.

Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyon	94°C	5 dakika	1
Denatürasyon	94°C	1 dakika	35
Bağlanma	58°C	1 dakika	
Uzama	72°C	1 dakika	
Son Uzama	72°C	10 dakika	1
Bekletme	4°C	∞ dakika	1

3.2.3.3. *S. aureus*’un Klasik Enterotoksin Genlerinin Belirlenmesi

Gerçekleştirilmiş olan bu çalışmada *S. aureus* tarafından üretilmekte olan klasik enterotoksinlerin sentezine neden olan *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* genlerinin varlığı incelenmiştir. *nuc*, *16S rRNA* ve *coa* genleri ile *S. aureus* olarak belirlenen suşların enterotoksin genlerinin tespiti, Mehrotra ve diğerleri (2000) tarafından önerilmiş olan yöntemler modifiye edilerek bir set halinde multipleks PCR yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. *S. aureus* enterotoksin genleri için oluşturulan PCR seti Tablo 14’te gösterilmiştir.

Tablo 14. *S. aureus* enterotoksin genleri için oluşturulan PCR seti.

Set 1
<i>sea</i>
<i>seb</i>
<i>sec</i>

Tablo 14. *S. aureus* enterotoksin genleri için oluşturulan PCR seti (devam).

<i>sed</i>
<i>see</i>

Set 1 için kullanılmış olan primerler Tablo 15’te yer almaktadır.

Tablo 15. *S. aureus* enterotoksin Set 1 için kullanılmış olan primerler.

Gen	Primer Sekansı (5’-3’)	Amplikon Büyüklüğü (bp)
<i>sea</i> – forw.	GGTTATCAATGTGCGGGTGG	102
<i>sea</i> – rev.	CGGCACTTTTTTCTCTTCGG	
<i>seb</i> – forw.	GTATGGTGGTGTAAGTACG	164
<i>seb</i> – rev.	CCAATAGTGACGAGTTAGG	
<i>sec</i> – forw.	AGATGAAGTAGTTGATGTGTATGG	451
<i>sec</i> – rev.	CACACTTTTAGAATCAACCG	
<i>sed</i> – forw.	CCAATAATAGGAGAAAATAAAAG	278
<i>sed</i> – rev.	ATTGGTATTTTTTTTCGTTC	
<i>see</i> – forw.	AGGTTTTTTCACAGGTCATCC	209
<i>see</i> – rev.	CTTTTTTTTCTTCGGTCAATC	

Spesifik ürünlerin aranması için Set 1’de bulunan enterotoksin gen primerlerine yapılmış olan PCR amplifikasyonu için toplam 25 µl hacminde mastermiks hazırlanmıştır. Mastermiks hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve hacimleri Tablo 16’da gösterilmiştir.

Tablo 16. *S. aureus* enterotoksin Set 1 için mastermiks hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve hacimleri.

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 _{sea,seb,sec,see} (10 pmol)	1 µl
Reverse Primer _{sea,seb,sec,see} (10 pmol)	1 µl
Forward Primer _{sed} (10 pmol)	1 µl
Reverse Primer _{sed} (10 pmol)	1 µl
Kalıp DNA	3 µl
ddH ₂ O	5 µl
TOPLAM	25 µl

Hazırlanmış olan mastermikslere her bir örnek için 0,2 ml'lik PCR tüplerine aktarılmıştır. Her bir örnek DNA'sı ilgili tüplere eklenmiş ve tüpler devamında termal döngüleme cihazına yüklenmiştir. İşlemin tamamlanması ile birlikte elde edilen ampliconlar 4°C'de, agaroz jel elektroforez ile görüntülenme aşamasına kadar muhafaza edilmiştir. *S. aureus* enterotoksin Set 1 için gerçekleştirilen amplifikasyon işlemlerine ait parametre değerleri Tablo 17'de gösterilmiştir.

Tablo 17. *S. aureus* enterotoksin Set 1 için gerçekleştirilen PCR işlemlerine ait parametre değerleri.

Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyon	94°C	5 dakika	1
Denatürasyon	94°C	2 dakika	35
Bağlanma	57°C	2 dakika	

Tablo 17. *S. aureus* enterotoksin Set 1 için gerçekleştirilen PCR işlemlerine ait parametre değerleri (devam).

Uzama	72°C	1 dakika	35
Son Uzama	72°C	7 dakika	1
Bekletme	4°C	∞ dakika	1

3.2.3.4. PCR ile Elde Edilen Örneklerin Agaroz Jel Elektroforez ile Görüntülenmesi

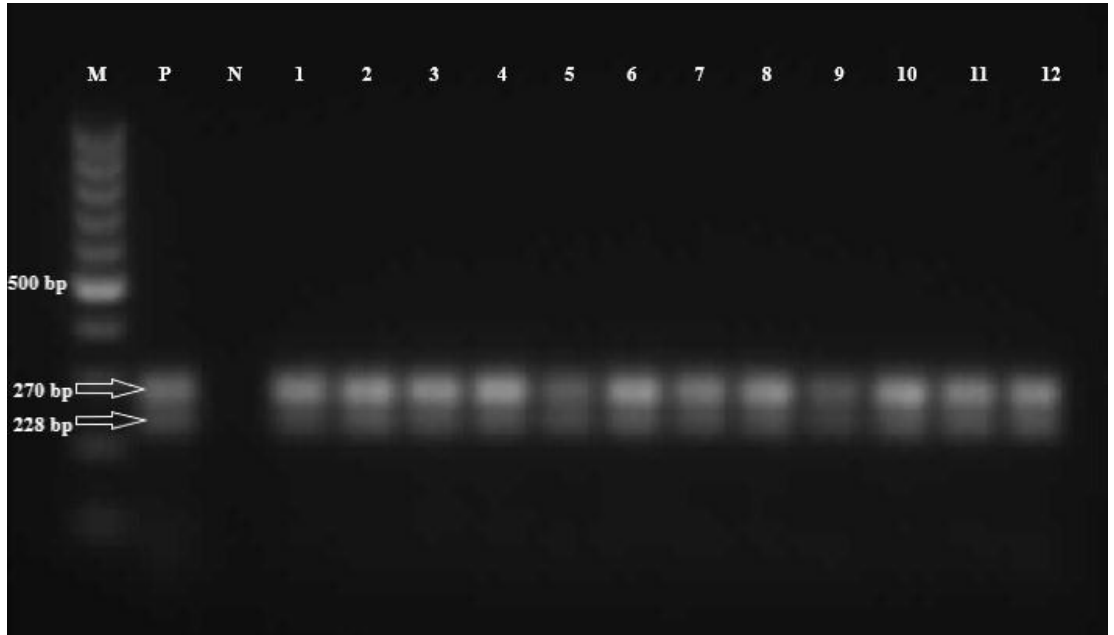
Amplifikasyon işlemleri sonucunda elde edilen PCR ürünleri agaroz jel elektroforezi ile incelenmeye tabi tutulmuştur. PCR işleminden sonra elde edilmiş olan ve 0,2 ml'lik tüplerde bulunan her bir örneğe ait amplikondan 10 µl alınıp 3 µl 6x Loading Dye (Fermentas) ile karıştırılarak boyanmıştır. Sonrasında Ethidium Bromide (Biochemica A1152.0025) içeren %1,5 oranındaki agaroz jel ile 1x TAE (Thermo Scientific B49) solüsyonu karıştırılıp elektroforez işlemi için hazırlanarak elektroforez tankına dökülmüştür ve kuyucuk oluşturacak taraklar havuza yerleştirilerek soğumaya bırakılmıştır. Tarakların çıkarılması ile birlikte oluşan kuyucuklara DNA marker olarak kullanılan 100 bp'lik DNA Ladder (Fermentas), Loading Dye ile boyanan pozitif kontrol ile negatif kontrol ve örneklere ait ampikonlar yüklenmiştir. Ardından elektroforez tankının kapağı kapatılarak 100 volt elektrik akımında 30 dakika süre ile elektroforez işlemi yapılmıştır. Sürenin tamamlanması ile birlikte elde edilen jel, elektroforez tankından dikkatlice çıkarılarak bilgisayara bağlı durumda olan UV transilluminatör cihazındaki (Vilber Lourmat, Fransa) bölmeye yerleştirilmiştir. UV ışığı altında görüntü alındıktan sonra, oluşan bantların konumları UV ışığı altında görüntüleme yapılarak elde edilmiş olan spesifik DNA bantlarının büyüklükleri, pozitif kontrol ve DNA marker ile karşılaştırılarak değerlendirilmeye tabi tutulmuştur.

4. BULGULAR

Yapılan konvansiyonel analizler sonucunda incelenen 100 adet peynir örneğinin (50 adet tulum peyniri, 50 adet beyaz peynir) 18'inin *S. aureus* ile kontamine halde olduğu tespit edilmiştir.

S. aureus tespiti konvansiyonel yöntemlerle belirlenmiş olan her bir numuneden birer izolat alındıktan sonra, PCR tekniği aracılığı ile stafilokoklara özgü olan *16S rRNA* geni ile birlikte *S. aureus*'a özgü *nuc* ve *coa* geninin varlığı araştırılmıştır. Gerçekleştirilen analizler ile birlikte 100 adet örnekten konvansiyonel yöntem ile tespit edilmiş olan 18 örneğin 18'inin (%100) PCR ile doğrulanması gerçekleştirilmiştir.

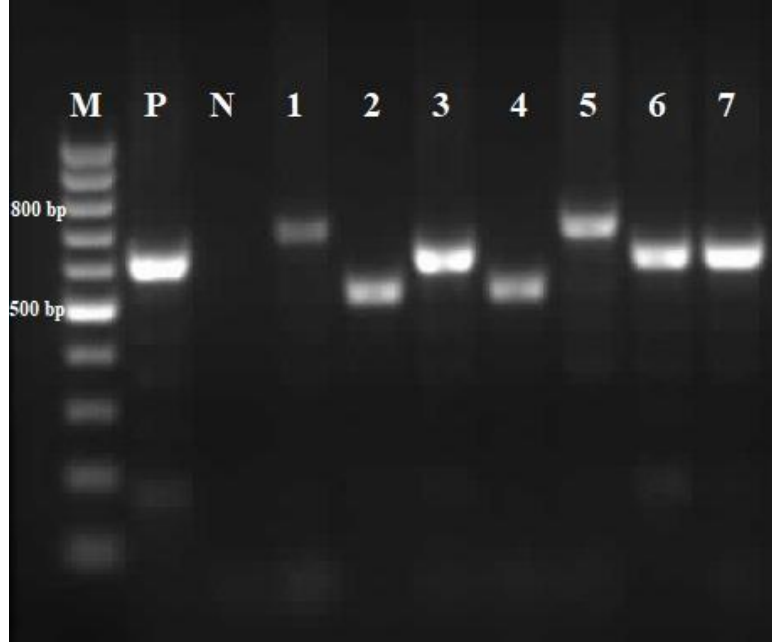
Araştırma kapsamında *16S rRNA* geni ile birlikte *nuc* geni tespit edilmiş olan örneklerin elektroforez görüntüsü Resim 8'de gösterilmiştir.



Resim 8. *16S rRNA* geni ile birlikte *nuc* geni tespit edilmiş olan örneklerin elektroforez görüntüsü.

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

Araştırma kapsamında *coa* geni tespit edilmiş olan örneklerin elektroforez görüntüsü Resim 9’da gösterilmiştir.



Resim 9. *coa* geni tespit edilmiş olan örneklerin elektroforez görüntüsü.

M: 100 bp’lik Marker, P: Pozitif Kontrol (*S. aureus* ATCC 25923), N: Negatif Kontrol, 1-7 arasında *coa* geni tespit edilmiş olan örnekler.

Gerçekleştirilen analizlerin sonucunda bütün peynir örneklerinin 18 tanesinin *S. aureus* ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. Tulum peyniri örneklerinin 9 tanesinin *S. aureus* ile kontamine olduğu belirlenmiş iken beyaz peynir örneklerinin de 9 tanesinin *S. aureus* ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışma sonucu *S. aureus* ile kontamine olan peynir örneklerinin dağılımları Tablo 18’de gösterilmiştir.

Tablo 18. *S. aureus* ile kontamine olan peynir örneklerinin dağılımları.

İncelenen örnek grubu	İncelenen örnek sayısı	Konvansiyonel yöntemle tespit edilen örnek sayısı	PCR ile doğrulanan örnek sayısı	Doğrulama Oranı
Tulum peyniri	50	9 (%18)	9 (%18)	%100
Beyaz peynir	50	9 (%18)	9 (%18)	%100
Toplam	100	18 (%18)	18 (%18)	%100

4.1. Peynir Örneklerinin *S. aureus* ile Kontaminasyon Düzeyleri

Gerçekleştirilen çalışma kapsamında analizleri yapılan 50 adet tulum peynirinin 9’unda ortalama 4,92 log kob/g düzeyinde, 50 adet beyaz peynirin 9’unda ortalama 5,56 log kob/g düzeyinde *S. aureus* kontaminasyonu tespit edilmiştir. İncelenen tüm peynir örneklerinin *S. aureus* ile kontaminasyon düzeyinin genel ortalaması ise 5,24 log kob/g düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucu incelenen peynir örneklerinin *S. aureus* ile olan kontaminasyon düzeyleri Tablo 19’da gösterilmiştir.

Tablo 19. İncelenen peynir örneklerinin *S. aureus* ile olan kontaminasyon düzeyleri.

Peynir Örnekleri		
	Tulum Peyniri (log kob/g)	Beyaz Peynir (log kob/g)
n/N	9/50	9/50
Minimum	3,77	4,23
Maksimum	6,30	6,42
Ortalama ($X \pm SS$)	4,92 \pm 0,77	5,56 \pm 0,62

Tablo 19. İncelenen peynir örneklerinin *S. aureus* ile olan kontaminasyon düzeyleri (devam).

Genel ortalama ($X \pm SS$)	5,24 \pm 0,45
----------------------------------	-----------------

n: *S. aureus* pozitif olan örnek sayısı N: Analiz edilen örnek sayısı X: Ortalama SS: Standart Sapma

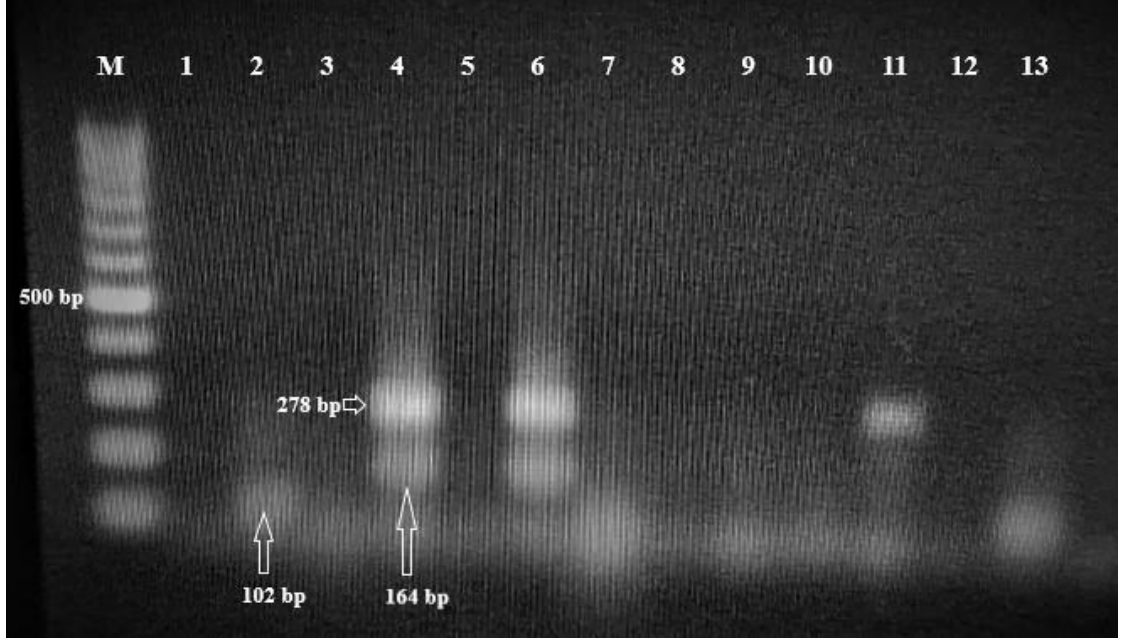
4.2. *S. aureus* Kontaminasyonu Tespit Edilen Örneklerde Enterotoksin Genlerinin Varlığı

Araştırma kapsamında analizi yapılan tulum peyniri örneklerine ait 9 adet *S. aureus* izolatından 4 tanesinin, beyaz peynir örneklerine ait 9 adet *S. aureus* izolatından 2 tanesinin, toplamda ise 18 adet *S. aureus* izolatından 6 tanesinin klasik enterotoksin genlerinden (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*) en az birine sahip olduğu belirlenmiştir. Enterotoksin geni tespit edilen *S. aureus* izolatlarının incelenen peynir örneklerine göre dağılımı Tablo 20’de gösterilmiştir.

Tablo 20. Enterotoksin geni tespit edilen *S. aureus* izolatlarının incelenen peynir örneklerine göre dağılımları.

İncelenen örnek grubu	İncelenen örnek sayısı	Enterotoksin geni içeren örnek sayısı	Enterotoksin geni bulunmayan örnek sayısı
Tulum peyniri	9	4 (%44,4)	5 (%55,6)
Beyaz peynir	9	2 (%22,2)	7 (%77,8)
Toplam	18	6 (%33,3)	12 (%66,7)

Çalışma kapsamında elde edilen *S. aureus* izolatlarının enterotoksijenik özellikleri multipleks PCR tekniği ile belirlenmiştir. Bununla ilgili elektroforez görüntüleri Resim 10’da gösterilmiştir.



Resim 10. *S. aureus* enterotoksin tespit edilmiş olan örneklerin elektroforez görüntüsü.

M: 100 bp'lik Marker, 1: Negatif Kontrol, 2, 7, 13: *sea* Geni Pozitif Örnekler, 4, 6: *seb*, *sed* Genleri Pozitif Örnekler, 11: *sed* Geni Pozitif Örnek.

Çalışma kapsamında elde edilen *S. aureus* izolatlarından %33,3'ünün enterotoksijenik özellik taşıdığı tespit edilmiştir. Araştırması yapılan tüm peynir örnekleri içerisinde bir veya birden fazla miktarda enterotoksin geni içeren izolatların, klasik enterotoksinlerin (SEA, SEB, SEC, SED, SEE) üretiminden sorumlu genlerin mevcut durumu incelenmiştir. Toplamda 6 enterotoksijenik özellikteki *S. aureus* izolat arasında en çok 3'er adet olmak üzere *sea* ile *sed* genlerinin taşındığı, bunları 2 adet ile *seb* geninin takip ettiği tespit edilmiştir. İncelenen peynir örnek grupları değerlendirildiğinde ise tulum peynirlerinden izole edilen 4 adet enterotoksijenik izolatın 2 tanesinin *seb* ve *sed* genlerine beraber sahip olduğu, 1 tanesinin *sea*, 1 tanesinin de *sed* genini içerdiği belirlenmiştir. Beyaz peynirlerden izole edilen 2 adet enterotoksijenik izolatın her 2 tanesinin de *sea* genine sahip olduğu tespit edilmiştir. Peynir izolatlarının hiçbirinde *sec* ve *see* genlerinin varlığı saptanmamıştır. Örneklere ait *S. aureus* izolatlarında enterotoksin genlerinin varlığı Tablo 21'de gösterilmiştir.

Tablo 21. Tespit edilen örneklere ait *S. aureus* izolatlarında enterotoksin genlerinin varlığı.

Enterotoksin genleri	Tulum Peyniri (n=4)	Beyaz Peynir (n=2)	Toplam (n=6)
<i>sea</i>	1 (%25)	2 (%100)	3 (%50)
<i>sed</i>	1 (%25)		1 (%16,7)
<i>seb, sed</i>	2 (%50)		2 (%33,3)

5. TARTIŞMA

Stafilokokal enterotoksinler ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesi sonucu oluşabilen gıda zehirlenmeleri, dünyada yaygın olarak görülebilen gıda kaynaklı hastalıklardan ve halk sağlığı problemlerinden bir tanesidir. Stafilokokal zehirlenmelerde en sık yer alan ürün gruplarından birisi süt ürünleridir ve süt ürünlerinin başında da peynir gelmektedir. Genellikle insanların doğal mikroflorasının bir parçası olan *S. aureus*'un, peynir gibi elle hazırlanabilen gıdaların işlenmesi esnasında uygun hijyen önlemlerinin alınmaması ile birlikte gıdalardaki kontaminasyon riski artabilmektedir (Rola ve diğerleri, 2016; Manovska ve diğerleri, 2022). Bu nedenlerden dolayı peynirlerdeki enterotoksijenik *S. aureus* varlığının tespit edilmesi hem halk sağlığı hem de gıda hijyeni açısından oldukça önemlidir.

Gerçekleştirilen tez çalışması kapsamında, süt ürünlerinden biri olan peynirlerde bulunan *S. aureus* varlığının tespiti ve klasik enterotoksin genlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu bağlamda yapılan konvansiyonel analizlerle 100 adet peynir örneği analiz edilmiştir ve farklı düzeylerde *S. aureus* ile kontamine halde olan 18 adet örnek belirlenmiştir. Konvansiyonel yöntemle tespit edilen 18 adet peynir örneğinden 18'inin PCR tekniği aracılığı ile doğrulanması gerçekleştirilmiş ve *S. aureus* olduğu tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında analiz edilen 100 adet peynir örneğinin %18'inin *S. aureus* ile kontamine durumda olduğu tespit edilmiştir. Analizleri yapılan 100 adet peynir örneğinin 50 adedi tulum peyniri örneklerinden, 50 adedi ise beyaz peynir örneklerinden oluşmaktadır. Analizleri yapılan 50 adet tulum peyniri örneklerinden 9'unun (%18), minimum 3,77 log kob/g, maksimum 6,30 log kob/g ve ortalama 4,92 log kob/g düzeyinde *S. aureus* kontaminasyonu tespit edilmiştir. 50 adet beyaz peynirin 9'unun (%18), minimum 4,23 log kob/g, maksimum 6,42 log kob/g ve ortalama 5,56 log kob/g düzeyinde *S. aureus* kontaminasyonu tespit edilmiştir. İncelenen tüm peynir örneklerinin *S. aureus* ile kontaminasyon düzeyinin genel ortalamasının ise 5,24 log kob/g düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Bulunan sonuçlarla birlikte *S. aureus* ile kontamine olmuş peynir örneklerinin tamamının, TGK Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde peynirlerde bulunması gereken (en fazla 10^3 kob/g) *S. aureus* düzeyine uygun olmadığı ve yönetmelikteki sınırın üzerinde olduğu tespit edilmiştir (TGK, 2011).

Bingöl ve diğerleri (2012) İstanbul'da bulunan pazarlardan ve çeşitli marketlerden toplanan 25 adet tulum peyniri, 25 adet beyaz peynir, 25 adet örgü peyniri, 25 adet civil peyniri ve 25 adet hellim peynirinden oluşan toplamda 150 adet peynir numunesinde *S. aureus* varlığını

araştırmışlardır. Analizler sonucunda tüm peynir örneklerinin 40 tanesinin (%26,6) *S. aureus* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. İncelenen 25 adet tulum peyniri numunesinin 8 tanesinde (%32) *S. aureus* kontaminasyonu tespit edilmiş ve etkenin düzeyi ortalama 4,25 log kob/g olarak saptanmıştır. 25 adet beyaz peynir numunesinin 13 tanesinde (%52) ise ortalama 5,36 log kob/g *S. aureus* tespit edilmiştir.

Ankara’da bulunan çeşitli marketlerden 100 adet tulum peyniri ve 100 adet beyaz peynir olmak üzere toplamda 200 adet peynir numunesi toplanmış ve *S. aureus* varlığı açısından analiz edilmiştir. İncelenen tüm peynir örneklerinin 12 tanesinde (%6) *S. aureus* kontaminasyonu belirlenmiştir. 100 adet tulum peyniri numunesinin 7 tanesinde *S. aureus* kontaminasyonu tespit edilmiş ve etkenin düzeyi ortalama 4,55 log kob/g olarak bulunmuştur. 100 adet beyaz peynir numunesinin 5 tanesinde *S. aureus* tespit edilmiş ve etkenin düzeyinin ortalama 3,98 log kob/g olduğu belirlenmiştir. İncelenen bütün peynir numunelerinin *S. aureus* ile kontaminasyon düzeyinin genel ortalamasının ise 4,31 log kob/g düzeyinde olduğu belirlenmiştir (Can ve Çelik, 2012).

Gündoğan ve Avcı (2014) Ankara’da bulunan çeşitli mandıralardan topladıkları, içlerinde 50 adet beyaz peynirin de bulunduğu toplam 150 adet süt ve süt ürününü *S. aureus* kontaminasyonu açısından incelemişlerdir. Yapılan çalışmada 150 adet süt ve süt ürününün 70 tanesi (%46,6) *S. aureus* ile kontamine durumda iken 50 adet beyaz peynir örneğinin 24 tanesinin (%48) *S. aureus* ile kontamine durumda olduğu belirlenmiştir.

Yapılan bir diğer çalışmada Aydın, İzmir ve Muğla’da üretilen mandıralardan ve Aydın’da mandıra satış noktalarından temin edilen 30 adet tulum peyniri, 30 adet beyaz peynir, 30 adet kaşar peyniri ve 30 adet lor peynirinden oluşan toplamda 120 adet peynir örneğinin *S. aureus* varlığı açısından analiz edilmiştir. Tulum peyniri örneklerinin 28 tanesinin ortalama 5,61 log kob/g, beyaz peynir örneklerinin 24 tanesinin ortalama 4,87 log kob/g, kaşar peyniri örneklerinin 14 tanesinin ortalama 4,14 log kob/g ve lor peynirinin örneklerinin 26 tanesi ortalama 5,09 log kob/g düzeyinde *S. aureus* ile kontamine olduğu tespit edilmiştir (Kızanlık ve Göksoy, 2018).

Ankara’da bulunan çeşitli marketlerden ve yerel pazarlardan toplanan tulum peyniri, beyaz peynir, ezine peyniri ve koyun peynirinden oluşan 387 adet olgunlaştırılmış peynir örneği *S. aureus* ile kontaminasyon durumu bakımından analiz edilmiştir. Yapılan çalışmada incelenen peynir örneklerinin 85 tanesinin (%21,96) *S. aureus* ile kontamine olduğu belirlenmiştir (Kayılı ve Şanlıbaba, 2020).

Taban ve diğeri (2021) içlerinde 50 adet tulum peyniri ve 50 adet beyaz peynirin de bulunduğu toplam 285 adet süt ve süt ürününü incelemişler ve 285 adet süt ve süt ürününün 15 tanesinin (%5,26) *S. aureus* ile kontamine durumda iken 3 adet tulum peyniri örneğinin (%6) ortalama 2,43 log kob/g ve 7 adet beyaz peynir örneğinin (%14) ortalama 3,92 log kob/g *S. aureus* ile kontamine durumda olduğunu belirlemişlerdir.

Güngören ve diğeri (2022) Bingöl’de bulunan yerel pazarlardan toplanan 64 adet beyaz peynir örneğini *S. aureus* varlığını araştırmak adına analiz etmiştir. Analizler sonucunda beyaz peynir örneklerinden 24 tanesinin (%37,5) *S. aureus* ile kontamine durumda olduğu bildirilmiştir.

Bastam ve diğeri (2021) aralarında 30 adet peynir örneğinin de bulunduğu toplam 100 adet süt ve süt ürününü incelemişler ve 100 örnekten 10 tanesinin, 30 adet peynir örneğinden de 3 tanesinin de *S. aureus* ile kontamine durumda olduğu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar tarafından etken ile peynirlerin kontaminasyonunun, üretimde kullanılan sütlerin yetersiz düzeyde pastörize edilmesinden ya da süte pastörizasyon uygulanmadan işlenilmesinden dolayı kaynaklanmış olabileceği belirtilmiştir.

Etiyopya’da aralarında 28 adet peynir örneğinin de bulunduğu toplam 486 adet süt ve süt ürününü incelenmiştir. Analiz edilen 486 adet örneğin 52 tanesi (%10,69), 28 adet peynir örneğinden de 4 tanesinin (%14,29) *S. aureus* ile kontamine olduğu tespit edilmiştir ve etkenin peynirlere üretim süreci ile yakın temasta olan kişilerden ya da yüzeylerden bulaşmış olabileceği değerlendirilmiştir (Gebremedhin ve diğeri, 2022).

Gerçekleştirilen tez çalışmasında peynir örneklerinde saptanan *S. aureus* kontaminasyon oranının Kayılı ve Şanlıbaba (2020), Taban ve diğeri (2021) ile Bastam ve diğeri (2021) tarafından gerçekleştirilen çalışmalardaki oranlarla kısmen benzer olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca tespit edilen *S. aureus* oranının Bingöl ve diğeri (2012), Gündoğan ve Avcı (2014), Kızanlık ve Göksoy (2018) ile Güngören ve diğeri (2022) tarafından gerçekleştirilen çalışmalardaki oranlardan daha düşük, Can ve Çelik (2012) ile Gebremedhin ve diğeri (2022) tarafından gerçekleştirilen çalışmalardaki oranlardan daha yüksek olduğu saptanmıştır. Tez çalışmasındaki tulum peyniri örneklerinin *S. aureus* ile kontaminasyon düzeyinin genel ortalamasının Bingöl ve diğeri (2012), Can ve Çelik (2012) ile Taban ve diğeri (2021) tarafından yapılan çalışmadan yüksek, Kızanlık ve Göksoy (2018) tarafından yapılan çalışmadan düşük olduğu tespit edilmiştir. Tez çalışmasındaki beyaz peynir örneklerinin *S. aureus* ile kontaminasyon düzeyinin genel ortalamasının Bingöl ve diğeri (2012), Can ve

Çelik (2012), Kızanlık ve Göksoy (2018) ile Taban ve diğerleri (2021) tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda oranlardan yüksek olduğu saptanmıştır. Tüm peynir örneklerinin *S. aureus* ile kontaminasyon düzeyinin genel ortalamasının ise Can ve Çelik (2012) tarafından gerçekleştirilen çalışmadaki orandan yüksek olduğu belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında gerçekleştirilen analizlerde tulum peyniri örneklerine ait 9 adet *S. aureus* izolatından 4 tanesinin (%44,4), beyaz peynir örneklerine ait 9 adet *S. aureus* izolatından 2 tanesinin (%22,2), toplamda ise 18 adet *S. aureus* izolatından 6 tanesinin (%33,3) klasik enterotoksin genlerinden (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*) en az birine sahip olduğu belirlenmiştir. 12 adet *S. aureus* izolatının ise klasik enterotoksinlerin üretiminden sorumlu genleri taşımadığı tespit edilmiştir. Toplamda 6 adet enterotoksijenik özellikteki izolatın en çok 3 tanesinin (%50) *sea* ile *sed* genlerini taşıdığı, bunları 2 izolatla (%33,3) *seb* geninin takip ettiği belirlenmiştir. Elde edilen bulgular peynir örnek grupları açısından değerlendirildiğinde ise tulum peynirlerinden izole edilen 4 adet enterotoksijenik izolatın 2 tanesinin (%50) *seb* ve *sed* genlerini beraber taşıdığı, 1 tanesinin (%25) *sea*, 1 tanesinin (%25) de *sed* genini taşıdığı tespit edilmiştir. Beyaz peynirlerden izole edilen 2 adet (%100) enterotoksijenik izolatın *sea* genini taşıdığı bulunmuştur. Peynir izolatlarının hiçbirinde *sec* ve *see* genlerinin varlığı tespit edilmemiştir.

Ertaş ve diğerleri (2010) aralarında 100 adet koyun peyniri örneğinin de bulunduğu toplam 150 adet süt ve süt ürünü, Kayseri'deki farklı marketlerden ve yerel pazarlardan toplayarak *S. aureus* ve stafilokokal enterotoksin varlığını araştırmışlardır. Yapılan çalışmada 100 adet koyun peyniri örneğinden 60 tanesinde *S. aureus* kontaminasyonu tespit etmişler ve 300 peynir izolatından 8 tanesinin (%2,6) enterotoksin genlerinden (*sea-sed*) en az birine sahip olduklarını belirtmişlerdir. Aynı çalışmada peynir izolatlarından elde edilen 8 enterotoksin geninden 5 tanesinin (%62,5) *sea*, 2 tanesinin (%25) *seb* ve 1 tanesinin (%12,5) *sed* genini taşıdığı ve *sec* geninin ise hiçbir izolat tarafından taşınmadığı bildirilmiştir.

Şanlıurfa'da süpermarketlerden toplanan 127 adet Urfa peyniri örneği *S. aureus* ve stafilokokal enterotoksin genleri varlığı açısından araştırılmıştır. 127 adet Urfa peyniri örneğinden 40 tanesinin (%31,5) *S. aureus* ile kontamine olduğu ve bunlardan 14 tanesinin (%35) klasik enterotoksin genlerinden en az bir tanesini taşıdığı bildirilmiştir. Çalışmada elde edilen 14 adet enterotoksijenik izolatın 10 tanesinin (%71,5) *sec*, 2 tanesinin (%14,3) *seb* ve *sec*, 1 tanesinin (%7,1) *sea* ve *see*, 1 tanesinin (%7,1) ise *seb* genini taşıdığı saptanmış, *sed* genini taşıyan izolata ise rastlanılamamıştır (Kav ve diğerleri, 2011).

Samsun’da yerel pazarlardan ve çeşitli marketlerden toplanan, içlerinde 32 adet beyaz peynir numunesi ve 10 adet kaşar peyniri numunesi bulunan toplam 122 adet süt ve süt ürünü enterotoksijenik *S. aureus* varlığı açısından analiz edilmiştir. Yapılan çalışmada 122 adet örnekten 81 tanesinde *S. aureus* kontaminasyonu tespit edilmiş ve bunlardan 14 tanesinin (%17,2) enterotoksijenik yapıda olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada 32 adet beyaz peynir örneğinden 21 tanesinde, 10 adet kaşar peyniri örneğinden 3 tanesinde *S. aureus* kontaminasyonu tespit edilmiştir. Ayrıca 4 adet (%19) beyaz peynir ile 2 adet (%50) kaşar peyniri örneğinde ve peynir örneklerine ait izolatların toplamda 6 tanesinde (%24) enterotoksin genlerinden (*sea-sed*) en az birinin taşındığı saptanmıştır. Beyaz peynir örneklerinden izole edilen enterotoksijenik izolatların 1 tanesinde (%25) *sea*, 1 tanesinde (%25) *sec*, 1 tanesinde (%25) *sed* ve 1 tanesinde (%25) *sea* ve *sed* genlerinin beraber taşındığı, kaşar peyniri örneklerinden ise 1 tanesinde (%50) *sea* ve 1 tanesinde (%50) *sed* geninin taşındığı tespit edilmiştir (Gücükoğlu ve diğerleri, 2012).

Vitale ve diğerleri (2015) İtalya’da aralarında 97 adet koyun peyniri, 62 adet inek peyniri ve 72 adet ricotta peynirinin de bulunduğu 711 adet süt ve süt ürünüde *S. aureus* ve stafilokokal enterotoksin varlığını araştırmışlardır. Yapılan çalışmada 711 adet örnekten 33 tanesinde (%4,64) klasik enterotoksin genlerinin varlığı tespit edilmiştir. 97 adet koyun peyniri örneğinden 4 tanesinde, 62 adet inek peynirinin 1 tanesinde klasik enterotoksin genlerinin varlığı belirtilirken, 72 adet ricotta peynirinde klasik enterotoksin genlerinin varlığına rastlanılmamıştır. Koyun peyniri örneklerinden izole edilen enterotoksijenik izolatların 4’ünde (%100) *sec*, inek peyniri örneklerinden izole edilen enterotoksijenik izolatların 1 tanesinde (%100) *sec* geni tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu çalışmada analizi gerçekleştirilen ricotta peyniri örneklerinde *S. aureus* varlığına rastlanılmamasının nedeni olarak, hijyen kurallarına uygun üretim yapılmış olunabileceğini ve ricotta peynirinin üretim tekniği gereği peynir altı suyunun haşlanması sonucunda etkenin yıkılmış olabileceğini bildirmektedirler.

Andretta ve diğerleri (2019) Brezilya’da yöresel bir peynir olan, “pingo” ve “rala” adında doğal starter kültürler kullanılarak ve olgunlaştırılarak üretilen Serro peynirlerinde *S. aureus* ve stafilokokal enterotoksin varlığını araştırmak için 53 adet peynir örneğini analiz etmişlerdir. Çalışmadan elde edilen *S. aureus* izolatlarının hiçbirinde klasik enterotoksin genlerinin tespit edilmediği bildirilmiş ve bunun nedeninin enterotoksin genlerinin sıcaklık, su aktivitesi, pH ve sodyum klorür konsantrasyonu gibi koşullardan etkilenebilmesinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir.

Tunus'ta gerçekleştirilen bir araştırmada aralarında 15 adet peynir ve 15 adet Tunus ricotta peynirinin de bulunduğu 136 adet süt ve süt ürününü toplanarak enterotoksijenik *S. aureus* varlığı açısından analiz edilmiştir. Yapılan çalışmada 136 adet örnekten 26 tanesinde *S. aureus* kontaminasyonu tespit edilmiş ve bunlardan 11 tanesinin (%46,3) enterotoksijenik yapıda olduğu belirlenmiştir. 15 adet peynir örneğinden 4 tanesinde, 15 adet Tunus ricotta peyniri örneğinden 1 tanesinde, toplamda 30 peynir örneğinden 5 tanesinde (%16,6) *S. aureus* kontaminasyonu tespit edilmiştir. 2 adet peynir ile 1 adet Tunus ricotta peyniri örneğinde, bütün peynir örneklerine ait izolatların ise toplamda 3 tanesinde (%10) klasik enterotoksin genlerinden en az birinin taşındığı saptanmıştır. Peynir örneklerinden izole edilen enterotoksijenik izolatların 1 tanesinde (%50) *sea* ve 1 tanesinde (%50) *see*, Tunus ricotta peyniri örneklerinden ise 1 tanesinde (%100) *sea* geninin taşındığı tespit edilmiştir (Gharsa ve diğerleri, 2019).

İspanya'da yapılan bir çalışmada marketlerden toplanan 24 adet peynir örneği *S. aureus* ve stafilokokal enterotoksin varlığının araştırılması için incelenmiştir. İncelenen 24 adet peynir örneğinden 19 tanesinde *S. aureus* kontaminasyonu tespit edilmiş ve 4 tanesinin (%21) enterotoksin genlerinden (*sea-sed*) en az birine sahip olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada peynir izolatlarından elde edilen 4 enterotoksin geninden 4 tanesinin de (%100) *sec* olduğu ve peynir izolatlarının *sea*, *seb* ve *sed* genlerini taşımadıkları belirtilmiştir (Medeiros ve diğerleri, 2019).

Brezilya'da Allaion ve diğerleri (2022) tarafından yapılan çalışmada yöresel bir peynir olan Minas peynirlerinden izole edilen 136 adet *S. aureus* izolatından 31 tanesinin (%22,7) klasik enterotoksin genlerini içerdiği tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen 31 enterotoksijenik izolatın 15 tanesinin (%48,4) *sea*, 7 tanesinin (%22,6) *see*, 5 tanesinin (%16,1) *sec*, 4 tanesinin (%12,9) *seb* genlerini taşıdığı ve *sec* geninin ise taşınmadığı saptanmıştır.

Manovska ve diğerleri (2022) Kuzey Makedonya'da aralarında 270 adet peynir örneğinde *S. aureus* ve stafilokokal enterotoksin varlığını araştırmak için analiz etmişlerdir. Yapılan çalışmada 270 adet peyniri örneğinden 27 tanesinde *S. aureus* kontaminasyonu tespit etmişler ve 27 peynir izolatından 7 tanesinin (%25,9) klasik enterotoksin genlerinden en az birine sahip olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada peynir izolatlarından elde edilen 7 enterotoksin geninden 3 tanesinin (%42,8) *seb*, 2 tanesinin (%28,6) *sea* ve 2 tanesinin (%28,6) *sec* genini taşıdığı ve peynir izolatlarında *sed* ve *see* geninin saptanmadığı bildirilmiştir.

Gerçekleştirilen tez çalışmasında peynir örneklerinde klasik enterotoksin geni içeren *S. aureus* oranının Kav ve diğerleri (2011) tarafından gerçekleştirilen çalışmadaki oranla benzer olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda çalışmada tespit edilen klasik enterotoksin geni içeren *S. aureus* oranının Ertaş ve diğerleri (2010), Gücükoğlu ve diğerleri (2012), Vitale ve diğerleri (2015), Andretta ve diğerleri (2019), Medeiros ve diğerleri (2019), Allaion ve diğerleri (2022) ile Manovska ve diğerleri (2022) tarafından gerçekleştirilen çalışmalardaki oranlardan daha yüksek, Gharsa ve diğerleri (2019) tarafından gerçekleştirilen çalışmalardaki oranlardan daha düşük olduğu saptanmıştır. Gücükoğlu ve diğerleri (2012) incelemiş oldukları beyaz peynir örneklerinde en çok *sea* genini saptamış, incelemiş oldukları peynir örneklerinde ise en çok *sea* ile *sed* genini tespit etmiş ve her iki sonucun da burada rapor edilen çalışmanın sonuçlarıyla benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Ertaş ve diğerleri (2010) ile Allaion ve diğerleri (2022) tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda ise bu çalışmada rapor edilen sonuçlara benzer bir şekilde en çok *sea* geninin varlığı tespit edilmiştir.

Gerçekleştirilen tez çalışmasında peynir örneklerindeki *S. aureus* kontaminasyonu ve klasik enterotoksin geni oranının, gerçekleştirilen diğer çalışmalar ile benzerlikler ve farklılıklar taşıdığı tespit edilmiştir. Bu farklılıklar; üretim tekniklerinden, peynirin tuz, pH ve nem içeriğinden, kullanılan starter kültürün aktivitesinin yetersiz olmasından, ambalaj malzemelerinden ya da ambalajsız satışlardan, hijyen kurallarına dikkat etmeyen gıda çalışanlarından, kontamine alet ve ekipmanlardan, nakliye ve pazarlama sürecindeki kontaminasyondan kaynaklanabilmektedir. Ayrıca peynir üretiminde çiğ süt kullanılması, mastitisli sütün normal sülle karıştırılması, yetersiz ısı işlem, pastörizasyon öncesi ya da sonrası kontaminasyon gerçekleşmiş olması, soğutma işleminin hatalı uygulanması gibi işlemler sonucunda da kontaminasyon oluşabilmektedir. Tez çalışmasında beyaz peynir örneklerinde saptanan *S. aureus* kontaminasyon seviyesi, tulum peyniri örneklerinden daha yüksek çıkmıştır. Beyaz peynirin nem oranı, tulum peynirine kıyasla yüksektir ve olgunlaşma anında yüzeyde pH yükselmekte ve mikrobiyal büyüme gerçekleşebilmektedir. Tulum peyniri çeşitlerinde salamurada olgunlaştırılma işleminden dolayı yüksek tuz konsantrasyonlarında *S. aureus* gelişim gösterememektedir (Gücükoğlu ve diğerleri, 2012; Kızanlık ve Göksoy, 2018; Andretta ve diğerleri, 2019; Kayılı ve Şanlıbaba, 2020; Güngören ve diğerleri, 2022).

Bu çalışma, Aydın ilinde satılan tulum ve beyaz peynirlerde *S. aureus* varlığının ve klasik enterotoksin genlerinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiş olup tez çalışmasından elde edilen verilerin gıda hijyeni ve halk sağlığı adına yapılacak olan araştırmalara katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Gerçekleştirilen tez çalışmasında, Aydın ilinin çeşitli ilçelerindeki farklı mandıralarda üretilip satışı sunulmuş olan tulum ve beyaz peynirlerde *S. aureus* varlığı belirlenmiş ve peynir örneklerinin *S. aureus* ile çeşitli düzeylerde kontamine olduğu tespit edilmiştir. *S. aureus* içeren peynir izolatlarındaki klasik enterotoksin genlerinin araştırılması da yapılmış ve izolatların bir kısmının klasik enterotoksin genlerini taşıdığı belirlenmiştir. Bu sonuçlarla birlikte incelenen peynir örneklerinde gıda hijyeninin yeterli düzeyde olmadığı ve örneklerde belirlenen enterotoksinlerin gıda zehirlenmelerine sebebiyet verebileceği, bu durumun da halk sağlığı açısından tehdit yaratabileceği tespit edilmiştir.

Peynirin yapısı *S. aureus*'un gelişmesi için elverişli bir ortam sağlayabilmektedir. Doğal çevrede ve insanların yapısında bulunmakta olan *S. aureus*, üretim, depolama ve satış esnasından ortamdan ya da gıda işçileri tarafından da peynire bulaşabilmektedir ve toksin üretme yeteneği ile kontamine peynirlerin tüketimi sonucu intoksikasyon şekillenebilmektedir. Bununla birlikte *S. aureus*'un neden olduğu mastitis etkenine sahip hayvanların sütlerinin peynir üretiminde kullanılması, üretimde bulunan kontamine durumdaki alet ve ekipmanlar, peynir işletmeleri ile satış noktalarındaki hijyenik şartların yerine getirilememesi gibi nedenlerden dolayı etken peynire bulaşabilmekte ve gıda zehirlenmelerine yol açabilmektedir.

Stafilokokal gıda zehirlenmelerinin önüne geçebilmek için hijyen standartları eksiksiz bir biçimde yerine getirilmeli, çiftlikten başlayıp ürünün tüketilmesine kadar olan bütün aşamalarda hijyen standartları sağlanmalı ve gıda güvenliği önlemleri alınmalıdır. Peynire işlenecek sütün kontrollerinin düzenli yapılması, meme hijyenine dikkat edilmesi, mastitis kontrol programları ile merkezi sağım sistemleri kurularak sürü sağlığı ve yönetiminin sağlanması gerekmektedir. Ayrıca gıda güvenliğini sağlamak ve hijyenik gıda üretebilmek amacıyla HACCP gibi gıda güvenliği sistemleri uygulanmalı, özellikle gıda ile teması olan kişiler düzenli olarak hijyenik eğitimlere ve kontrollere tabi tutulmalıdır. Gıda üreticilerinin, gıda sektörü çalışanlarının ve tüketicilerin gıda güvenliği sistemlerinin etkin bir şekilde sürdürülebilmesi adına bilinçlendirilmesi sağlanmalıdır.

KAYNAKLAR

- Akpınar, A., Yerlikaya, O., Kınık, Ö., Korel, F., Kahraman, C., Uysal, H.R. (2017). Farklı Süt Çeşitleri ile Üretilen İzmir Tulum Peynirlerinin Bazı Fizikokimyasal Özellikleri ve Aroma Bileşikleri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 54(1), 27-35. doi:10.20289/zfdergi.297939
- Allaion, J.R., Barrionuevo, K.G., Grande Burgos, M.J., Galvez, A., Franco, B.D.G.M. (2022). Staphylococcus aureus from Minas Artisanal Cheeses: Biocide Tolerance, Antibiotic Resistance and Enterotoxin Genes. *Applied Sciences*, 12(3), 1019, 1-11. doi:10.3390/app12031019
- Altuner, E.M., Eljagmani, S. (2020). Changes in the Chemical Composition of Turkish White Cheese According to Storage Temperature. *Bulletin UASVM Food Science and Technology*, 77(2), 1-11. doi:10.15835/buasvmcn-fst: 2020.0022
- Andretta, M., Almeida, T.T., Ferreira, L.R., Carvalho, A.F., Yamatogi, R.S., Nero, L.A. (2019). Microbial safety status of Serro artisanal cheese produced in Brazil. *Journal of dairy science*, 102(12), 10790-10798. doi:10.3168/jds.2019-16967
- Arslaner, A., Türkmen, Ö. (2020). Erzincan Tulum Cheese. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 8(4) 932-940, doi:10.24925/turjaf.v8i4.932-940.3170
- Ataseven, Z.Y. (2021). *Durum ve Tahmin, Süt ve Süt Ürünleri, 2021*, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, Ankara. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF%20DurumTahmin%20Raporlar%20C4%B1/2021%20DurumTahmin%20Raporlar%20C4%B1/S%20C3%BCt%20ve%20S%20C3%BCt%20C3%9Cr%20C3%BCnleri%20Durum%20Tahmin%20Raporu%202021-331%20TEPGE.pdf> adresinden erişildi.
- Baran, A., Erdogan, A., Turgut, T., Adıgüzel, M. (2017). A review on the presence of Staphylococcus aureus in cheese. *Turkish Journal of Nature and Science*, 6(2), 100-105.
- Bastam, M.M., Jalili, M., Pakzad, I., Maleki, A., Ghafourian, S. (2021). Pathogenic bacteria in cheese, raw and pasteurised milk. *Veterinary Medicine and Science*, 7(6), 2445-2449. doi:10.1002/vms3.604
- Bayar, N., Özrenk, E. (2011). The effect of quality properties on Tulum cheese using different

- package materials. *African Journal of Biotechnology*, 10(8), 1393-1399.
- Bean, J. E., Alves, D. R., Laabei, M., Esteban, P. P., Thet, N. T., Enright, M. C., Jenkins, A. T. A. (2014). Triggered release of bacteriophage K from agarose/hyaluronan hydrogel matrixes by *Staphylococcus aureus* virulence factors. *Chemistry of Materials*, 26(24), 7201-7208. doi:10.1021/cm503974g
- Bertrand, X., Huguenin, Y., Talon, D. (2002). First report of a catalase-negative methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 43(3), 245-246. doi:10.1016/s0732-8893(02)00398-x.
- Bien, J., Sokolova, O., Bozko, P. (2011). Characterization of Virulence Factors of *Staphylococcus aureus*: Novel Function of Known Virulence Factors That Are Implicated in Activation of Airway Epithelial Proinflammatory Response. *Journal of Pathogens*, 2011(1), 1-4. doi:10.4061/2011/601905
- Bingöl, E.B., Çetin, Ö., Çolak, H., Hampikyan, H. (2012). Presence of enterotoxin and verotoxin in Turkish cheeses sold in İstanbul. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 36(4), 424-432. doi:10.3906/vet-1105-5
- Bisig, W., Everett, D.W. (2021). *IDF Factsheet February 2021, IDF Standing Committee on Dairy Science and Technology*. https://www.fil-idf.org/wp-content/uploads/2021/02/Cheese-and-varieties_Part-I_What-is-cheese.pdf adresinden erişildi.
- Bokarewa, M.I., Jin, T., Tarkowski, A. (2006). *Staphylococcus aureus*: staphylokinase. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 38(4), 504-509. doi:10.1016/j.biocel.2005.07.005
- Bridson, E.Y. (2006). *Oxoid Manual* (9th ed). Basingstoke, Oxoid Limited.
- Bylund, G. (2015). *Dairy Processing Handbook* (1st ed.). Sweden: Tetra Pak Processing System AB.
- Can, H.Y., Çelik, T.H. (2012). Detection of enterotoxigenic and antimicrobial resistant *S. aureus* in Turkish cheeses. *Food Control*, 24(1-2), 100-103. doi:10.1016/j.foodcont.2011.09.009
- Can, H.Y., Elmalı, M., Karagöz, A. (2017). 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*, 37(2), 175-

180. doi:10.5851/kosfa.2017.37.2.175

- Carrascosa, C., Millan, R., Saavedra, P., Jaber, J.R., Antonio Raposo, A., Sanjuan E. (2016). Identification of the risk factors associated with cheese production to implement the hazard analysis and critical control points (HACCP) system on cheese farms. *American Dairy Science Association*, 99, 2606–2610. doi:10.3168/jds.2015-10301
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2017). Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks, United States, 2015, Annual Report. US Department of Health and Human Services. Atlanta, Georgia: ABD.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2018). Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks, United States, 2016, Annual Report. US Department of Health and Human Services. Atlanta, Georgia: ABD.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2019). Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks, United States, 2017, Annual Report. US Department of Health and Human Services. Atlanta, Georgia: ABD.
- Chavez-Martinez, A., Paredes-Montoya, P., Renteria-Monterrubio A.L., Corral-Luna, A., Lechuga-Vallesjoel, R., Dominguez-Viveros, J., ... Santellano-Estrada, E. (2019). Microbial quality and prevalence of foodborne pathogens of cheeses commercialized at different retail points in Mexico. *Food Science and Technology*, 39(2), 1-2. doi:10.1590/fst.30618
- Craft, K.M., Nguyen, J.M., Berg, L.J., Townsend, S.D. (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): antibiotic-resistance and the biofilm phenotype. *MedChemComm*, 10(8), 1231-1241. doi:10.1039/c9md00044e
- Çetinkaya, A. (2021). Kars Piyasasında Satışa Sunulan Yoğurt, Beyaz Peynir ve Kars Kaşar Peynirlerinin Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin İncelenmesi. *The Journal of Food*, 46(5), 1233-1234. doi:10.15237/gida.GD21060
- Dalgleish, D.G. (1993). The Enzymatic Coagulation of Milk. P.F. Fox (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* içinde (ss. 69-70). Boston, ABD: Springer.
- Das, D., Bishayi, B. (2009). Staphylococcal catalase protects intracellularly survived bacteria by destroying H₂O₂ produced by the murine peritoneal macrophages. *Microbial pathogenesis*, 47(2), 57-58. doi:10.1016/j.micpath.2009.04.012
- Deurenberg, R.H., Stobberingh, E.E. (2008). The evolution of *Staphylococcus*

aureus. *Infection, Genetics and Evolution*, 8(6), 747-748.
doi:10.1016/j.meegid.2008.07.007

Doğruer, Y. (2004). *Veteriner Halk Sağlığı*. (İkinci Basım). Konya: Selçuk Üniversitesi Basımevi.

Drosinos, E.H, Siana, P. (2007). HACCP in the Cheese Manufacturing Process, a Case Study. A. McElhatton, R.J. Marshall (Eds.), *Food Safety: A Practical and Case Study Approach* içinde (ss. 91-93). New York, ABD: Springer.

Dupas, C., Metoyer, B., El-Hatmi, H., Adt, I., Mahgoub, S.A., Dumas, E. (2020). Plants: A natural solution to enhance raw milk cheese preservation? *Food Research International*, 130 (108883), doi:10.1016/j.foodres.2019.108883.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ). (2022). *19 Mayıs 2022 Tarihli Gıda Güvenliği Bülteni*, www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety adresinden erişildi.

Erkmen, O., Aydemir, S. (2020). Beyaz Peynir Üretimi. O. Erkmen, H. Erten, H. Sağlam (Eds.), *Fermente Ürünler Teknolojisi ve Mikrobiyolojisi* içinde (ss. 117-118). Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık.

Erol, İ., İşeri, Ö. (2004). Stafilokokal enterotoksinler. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 51(3), 239-249.

Ertaş, N., Gönülalan, Z., Yıldırım, Y., Kum, E. (2010). Detection of Staphylococcus aureus enterotoxins in sheep cheese and dairy desserts by multiplex PCR technique. *International journal of food microbiology*, 142(1-2), 74-77. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.06.002

Ettelaie, R., Khandelwal, N., Wilkinson, R. (2014). Interactions between casein layers adsorbed on hydrophobic surfaces from self consistent field theory: κ -casein versus para κ -casein, *Food Hydrocolloids*, 34(2014), 236-237. doi:10.1016/j.foodhyd.2012.09.006

Etter, D., Ukowitz, C., Eicher, C., Tasara, T., Johler, S. (2022). Mild NaCl Stress Influences Staphylococcal Enterotoxin C Transcription in a Time-Dependent Manner and Reduces Protein Expression. *Frontiers in microbiology*, 13(820067), 1-7. doi:10.3929/ethz-b-000547296

European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2019). The European Union one health 2018 zoonoses report. *EFSA Journal*, 17(12), doi:10.2903/j.efsa.2019.5926

- European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2021). The European Union one health 2019 zoonoses report. *EFSA Journal*, 19(2), doi:10.2903/j.efsa.2021.6406
- European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2021). The European Union one health 2020 zoonoses report. *EFSA Journal*, 19(12), doi:10.2903/j.efsa.2021.6971
- Farias, D.F.M., Santos Nascimento, D.J., Silva Santos, O.C., Freire Bastos, M.D.C. (2019). Study of the effectiveness of staphylococci in biopreservation of Minas fresh (Frescal) cheese with a reduced sodium content. *International journal of food microbiology*, 304, 19-21. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2019.05.014
- Ferry, T., Perpoint, T., Vandenesch, F., Etienne, J. (2005). Virulence determinants in *Staphylococcus aureus* and their involvement in clinical syndromes. *Current infectious disease reports*, 7(6), 420-428. doi:10.1007/s11908-005-0043-8
- Fetsch, A., Contzen, M., Hartelt, K., Kleiser, A., Maassen, S., Rau, J., ... Strommenger, B. (2014). *Staphylococcus aureus* food-poisoning outbreak associated with the consumption of ice-cream. *International journal of food microbiology*, 187, 1-6. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.06.017
- Fisher, E. L., Otto, M., Cheung, G. Y. (2018). Basis of virulence in enterotoxin-mediated staphylococcal food poisoning. *Frontiers in microbiology*, 9(436). 1-18. doi:10.3389/fmicb.2018.00436
- Foster, T.J., Geoghegan, J.A., Ganesh, V.K., Höök, M. (2014). Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. *Nature reviews microbiology*, 12(1), 49-62. doi:10.1038/nrmicro3161
- Gebremedhin, E.Z., Ararso, A.B., Borana, B.M., Kelbesa, K.A., Tadese, N.D., Marami, L.M., Sarba, E.J. (2022). Isolation and Identification of *Staphylococcus aureus* from Milk and Milk Products, Associated Factors for Contamination, and Their Antibigram in Holeta, Central Ethiopia. *Veterinary Medicine International*, 2022, 1-13. doi:10.1155/2022/6544705
- Gharsa, H., Chairat, S., Chaouachi, M., Ben Yahia, H., Boudabous, A., Ben Slama, K. (2019). High diversity of genetic lineages and virulence genes of *Staphylococcus aureus* isolated from dairy products in Tunisia. *Annals of Microbiology*, 69(1), 73-78.

doi:10.1007/s13213-018-1417-0

Gıda Güvenliği ve Kalitesinin Denetimi ve Kontrolüne Dair Yönetmelik, T.C. Resmi Gazete, 29 Eylül 2008, sayı, 27009.

Gnanamani, A., Hariharan, P., Paul-Satyaseela, M. (2017). Staphylococcus Aureus: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach. S. Enany, L.E.C. Alexander (Eds.), *Frontiers in Staphylococcus aureus* içinde (ss. 3-28). Croatia: InTech.

Gonzalez, M.M., Corbera, J.A., Suarez-Bonnet, A., Tejedor-Junco, M.T. (2020). Virulence factors in coagulase-positive staphylococci of veterinary interest other than Staphylococcus aureus. *Veterinary Quarterly*, 40(1), 118-121. doi:10.1080/01652176.2020.1748253

Göktaş, D., Tunçel, G. (2014). *Gıda hijyeni 2: Gıda işletmelerinde hijyen*. İzmir: Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri.

Göktaş, D., Tunçel, G. (2012). *Gıda hijyeni 3: Gıda güvenliği uygulamaları: Ön koşul-haccp iso 22000*. İzmir: Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri.

Gücükoğlu, A., Kevenk, T.O., Uyanık, T., Çadircı, Ö., Terzi, G., Alişarlı, M. (2012). Detection of enterotoxigenic Staphylococcus aureus in raw milk and dairy products by multiplex PCR. *Journal of food science*, 77(11), 620-623. doi:10.1111/j.1750-3841.2012.02954.x

Gündoğan, N., Ataol, Ö. (2012). Et örneklerinden izole edilen Staphylococcus aureus ve koagülaz negatif stafilocok'ların biyofilm üretimi ve DNaz aktivitelerinin belirlenmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 69(3), 135-140. doi:10.5505/TurkHijyen.2012.03880

Gündoğan, N., Avcı, E. (2014). 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*, 67(4), 562-569. doi:10.1111/1471-0307.12149

Güngören, A., Demircioğlu, A., Saytekin, A.M. (2022). Beyaz Peynir Örneklerinden Staphylococcus aureus Suşlarının İzolasyonu, Makrolid-Linkozamid-Streptogramin B (MLSB) Direnç Fenotipleriyle, Metisilin ve Vankomisin Duyarlılıklarının Belirlenmesi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 11(1), 100-106. doi:10.31196/huvfd.1070069

Gürsoy, A., Budak, Ş.Ö. (2019). Peynir. R.E. Anlı, P. Şanlıbaba (Eds.), *Fermente Gıdalar:*

Mikrobiyoloji, Teknoloji ve Sağlık içinde (ss. 139-162). Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık.

Güven, S., Zorba, N.N.D. (2021). *Genel Mikrobiyoloji ve Laboratuvar Kılavuzu*. (12. Baskı). Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık.

Habitat Sosyo-Ekonomik Kalkınma Programı (HASEKAP). (2019). *2018 Ekonomik Büyüme Programı Peynir Sektörü Analiz Raporu*, İstanbul. www.habitatderneği.org/wp-content/uploads/TANAP_EkonomikBuyume_SektorAnalizRaporu_09012019-min.pdf adresinden erişildi.

Halkman, A.K. (2019). *GDM 310 Gıda Mikrobiyolojisi II. Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü*. http://food.eng.ankara.edu.tr/wp-content/uploads/sites/256/2019/02/G%C4%B1da_mik_2_GDM310.pdf adresinden erişildi.

Hastaoğlu, E., Erdoğan, M., Işkın, M. (2021). Gastronomi Turizmi Kapsamında Türkiye Peynir Çeşitliliği Haritası. *Atatürk Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 25(3), 1084-1109. doi:10.53487/ataunisosbil.958028

Hennekinne, J.A., De Buyser, M.L., Dragacci, S. (2012). Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS microbiology reviews*, 36(4), 815-821. doi:10.1111/j.1574-6976.2011.00311.x

Hookey, J.V., Richardson, J.F., Cookson, B.D. (1998). Molecular typing of Staphylococcus aureus based on PCR restriction fragment length polymorphism and DNA sequence analysis of the coagulase gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(4), 1083-1089. doi:10.1128/JCM.36.4.1083-1089.1998

Hu, Y., Meng, J., Shi, C., Hervin, K., Fratamico, P.M., Shi, X. (2013). Characterization and comparative analysis of a second thermonuclease from Staphylococcus aureus. *Microbiological research*, 168(3), 174-176. doi:10.1016/j.micres.2012.09.003

Ibberson, C.B., Jones, C.L., Singh, S., Wise, M.C., Hart, M.E., Zurawski, D. V., Horswill, A.R. (2014). Staphylococcus aureus hyaluronidase is a CodY-regulated virulence factor. *Infection and immunity*, 82(10), 4253-4264. doi:10.1128/IAI.01710-14

Johler, S., Macori, G., Bellio, A., Acutis, P.L., Gallina, S., Decastelli, L. (2018). Characterization of Staphylococcus aureus isolated along the raw milk cheese production process in artisan dairies in Italy. *Journal of dairy science*, 101(4), 2915-2920.

doi:10.3168/jds.2017-13815

- Johler, S., Weder, D., Bridy, C., Huguenin, M.C., Robert, L., Hummerjohann, J., Stephan, R. (2015). Outbreak of staphylococcal food poisoning among children and staff at a Swiss boarding school due to soft cheese made from raw milk. *Journal of dairy science*, 98(5), 2944-2948. doi:10.3168/jds.2014-9123
- Johnson, M.E. (2001). Cheese products. E.H. Marth, J.L Steele (Eds.), *Applied Dairy Microbiology* (ss. 345-347). New York: Marcel Dekker Inc.
- Josefsson, E., Juuti, K., Bokarewa, M., Kuusela, P. (2005). The surface protein Pls of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is a virulence factor in septic arthritis. *Infection and immunity*, 73(5), 2812-2817. doi:10.1128/IAI.73.5.2812-2817.2005
- Kamber, U. (2007). The Traditional Cheeses of Turkey: Cheeses Common to All Regions. *Food Reviews International*, 24, 1-14. doi:10.1080/87559120701761833
- Karabiyıklı, Ş., Erdoğan, S. (2019). Peynir Üretiminde Mikroorganizmaların Rolü ve Önemli Mikroorganizma Grupları. *Journal of New Results in Engineering and Natural Sciences*, 1(9), 35-45.
- Kateete, D.P., Kimani, C.N., Katabazi, F.A., Okeng, A., Okee, M.S., Nanteza, A., ... Najjuka, F.C. (2010). Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 9(23), 1-3. doi:10.1186/1476-0711-9-23
- Kav, K., Çöl, R., Ardiç, M. (2011). Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from white-brined Urfa cheese. *Journal of food protection*, 74(11), 1788-1796. doi:10.4315/0362-028X.JFP-11-179
- Kavak, D., Karabiyık, H. (2019). Quality evaluation of kashar cheese: influence of palm oil and ripening period. *Food Science and Technology*. 40(66), 354. doi:10.1590/fst.39618.
- Kavaz, A., Arslaner, A., Bakırcı, İ. (2012). Comparison of quality characteristics of Çökelek and Lor cheeses. *African Journal of Biotechnology*. 11(26). 6871.
- Kayılı, E., Şanlıbaba, P. (2020). Prevalence, characterization and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from traditional cheeses in Turkey. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 1441-1451. doi:10.1080/10942912.2020.1814323
- Kaynar, P. (2011). Ülkemiz Peynirleri Üzerine Mikrobiyolojik Araştırmalar. *Türk*

- Keum, J.S. (2019). History of cheese industry in Korea. *Food Science and Industry*, 52(3), 272-286. doi:10.23093/FSI.2019.52.3.272
- Keyvan, E., Özdemir, H. (2016). Sığır karkaslarında *Staphylococcus aureus*'un varlığı, enterotoksijenik özellikleri ve antimikrobiyal dirençliliği. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 63, 17-23. doi:10.1501/Vetfak_0000002704
- Kızanlık, P.K, Göksoy, E.Ö. (2018). Microbiological Quality Evaluation of Various Types of Cheese. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(2), 86-93.
- Koçak, C., Seydim, Z.B.G (2011) Kazein Kimyası ve Sütün Pıhtılaşma Mekanizması. B. Özer, A.A. Hayaloğlu (Eds.), *Peynir Biliminin Temelleri* içinde (ss. 54-56). İzmir: Sıdaş Yayıncılık.
- Koluman, A., Unlu, T., Dikici, A., Tezel, A., Akcelik, E.N., Burkan, Z.T. (2011). Presence of *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins in different foods. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(Suppl A), 55-60. doi:10.9775/kvfd.2010.3233
- Kong, C., Neoh, H.M., Nathan, S. (2016). Targeting *Staphylococcus aureus* toxins: a potential form of anti-virulence therapy. *Toxins*, 8(3), 72. 1-4. doi:10.3390/toxins8030072
- Kruif, C.G., Huppertz, T., Urban, V.S., Petukhov, A.V. (2012). Casein micelles and their internal structure, *Advances in Colloid and Interface Science*, 171, 36-37. doi:10.1016/j.cis.2012.01.002
- Küçükçetin, A., Milci, S. (2008). *Staphylococcus aureus* ile kontamine olan peynirlerden kaynaklanan gıda zehirlenmeleri. *Gıda*, 33(3), 129-135.
- Lacey, K.A., Geoghegan, J.A., McLoughlin, R.M. (2016). The role of *Staphylococcus aureus* virulence factors in skin infection and their potential as vaccine antigens. *Pathogens*, 5(1), 22. doi:10.3390/pathogens5010022
- Lefebvre, D., Valle, K.B., Hennekinne, J.A., Simon, S., Fenaille, F., Becher, F., Nia, Y. (2022). Multiplex Detection of 24 Staphylococcal Enterotoxins in Culture Supernatant Using Liquid Chromatography Coupled to High-Resolution Mass Spectrometry. *Toxins*, 14(4), 249. 1-18. doi:10.3390/toxins14040249
- Licitra, G. (2010). World wide traditional cheeses: Banned for business? *Dairy Sci. Technol.*

90, 357–358. doi:10.1051/dst/2010016

- Manovska, M.R., Prodanov, M., Jankuloski, D., Sekulovski, P., Blagoevska, K. (2022). Detection of Enterotoxigenic Potential of *Staphylococcus Aureus* Isolates from Cheese Samples with Two Different Methods. *Macedonian Veterinary Review*. 45 (1): 27-33. doi:10.2478/macvetrev-2022-0010
- Medeiros, M.I.M., Nader, F.A., Jordano, R., Ruz, V., Medina, L.M., Garcia, V.F. (2019). Occurrence of *staphylococcus aureus* and its toxins in cheeses from the region of Andalusia, Spain. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*. 8(1), 33-36. doi:10.15406/jdvar.2019.08.00239.
- Mehrotra, M., Wang, G., Johnson, W.M. (2000). Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin-1, and methicillin resistance. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(3), 1032-1035. doi:10.1128/JCM.38.3.1032-1035.2000
- Oliveira, D., Borges, A., Simoes, M. (2018). *Staphylococcus aureus* toxins and their molecular activity in infectious diseases. *Toxins*, 10(6), 252. 1-3. doi:10.3390/toxins10060252
- Oogai, Y., Matsuo, M., Hashimoto, M., Kato, F., Sugai, M., Komatsuzawa, H. (2011). Expression of virulence factors by *Staphylococcus aureus* grown in serum. *Applied and environmental microbiology*, 77(22), 8097-8100. doi:10.1128/AEM.05316-1
- Özer, B., Hayaloğlu, A.A. (2011) Giriş. B. Özer, A.A. Hayaloğlu (Eds.), *Peynir Biliminin Temelleri* içinde (ss. 3-4). İzmir: Sıdaş Yayıncılık.
- Pamuksuz, T., Bulduk, K., Öztürk, M. (2020). Effect of packing pH values on the crumbliness of fresh Turkish White cheese. *Journal of Dairy Science*, 103(11), 9860. doi:10.3168/jds.2020-18610
- Park, J.Y., Seo, K.S. (2019) *Staphylococcus aureus*. M.P. Doyle, F.D. Gonzalez, C. Hill (Eds.), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers 5th edition* içinde (ss. 555-584). Washington, ABD: ASM Press.
- Pexara, A., Bourriel, A., Govaris, A. (2010). *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal enterotoxins in foodborne diseases. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 61(4), 316-322. doi:10.12681/jhvms.14904
- Pinchuk, I.V., Beswick, E. J., Reyes, V. E. (2010). Staphylococcal enterotoxins. *Toxins*, 2(8), 2177-2197. doi:10.3390/toxins2082177

- Possas, A., Bonilla, O.M., Valero, A. (2021). From Cheese-Making to Consumption: Exploring the Microbial Safety of Cheeses through Predictive Microbiology Models. *Foods*, 10(2). 355-356. doi:10.3390/foods10020355
- Procop, G.W., Church, D.L., Hall, G.S., Janda, W.M., Koneman, E.W., Schreckenberger, P.C., Woods, G.L. (2017). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. (7th ed). Philadelphia, ABD: Lippincott, Williams&Wilkins.
- Puvaca, N., Pelic, D.L., Tomic, V., Radisic R., Milanovic, S., Solesa, D., ... Petrovic, A. (2020). Antimicrobial efficiency of medicinal plants and their influence on cheeses quality, *Mljekarstvo Dairy*, 70(1), 3-5. doi:10.15567/mljekarstvo.2020.0102
- Ray, B., Bhunia, A. (2021). Gıda Kaynaklı Zehirlenmeler (İntoksikasyonlar). B. Ray, A. Bhunia (Eds.), D. Heperkan (Çev. Ed.) *Temel Gıda Mikrobiyolojisi* (5. Baskı) içinde (ss. 323-326). Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık.
- Ritota, M., Manzi, P. (2020). Natural Preservatives from Plant in Cheese Making. *Animals*, 10(4), 749-750. doi.org/10.3390/ani10040749
- Rola, J.G., Czubkowska, A., Dzirba, W.K., Osek, J. (2016). Occurrence of *Staphylococcus aureus* on farms with small scale production of raw milk cheeses in Poland. *Toxins*, 8(3), 62, 1-9. doi:10.3390/toxins8030062
- Rola, J.G., Dzirba, W.K., Czubkowska, A., Osek, J. (2015). Prevalence of enterotoxin genes and antimicrobial resistance of coagulase-positive staphylococci recovered from raw cow milk, *Journal of Dairy Science*, 98(7), 4273-4278. doi:10.3168/jds.2014-9064.
- Sadat, A., Shata, R.R., Farag, A.M., Ramadan, H., Alkhedaide, A., Soliman, M.M., ... Awad, A. (2022). Prevalence and Characterization of PVL-Positive *Staphylococcus aureus* Isolated from Raw Cow's Milk. *Toxins*, 14(2), 97. 1-16. doi:10.3390/toxins14020097
- Sağlam, D., Şeker, E. (2016). Gıda kaynaklı bakteriyel patojenler. *Kocatepe Veterinary Journal*, 9(2), 105-113. doi:10.5578/kvj.23164
- Salama, H., Said, A.A., Asuoty, M.S.E. (2021). The Effect of Haccp System on Various Microbiological Hazards in Cheese Factories. *Assiut Veterinary Medical Journal*. 67(171), 158-173. doi:10.21608/AVMJ.2021.205280
- Salque, M., Bogucki, P.I., Pyzel, J., Sobkowiak-Tabaka, I., Grygiel, R., Szmyt, M., Evershed, R.P. (2013). Earliest evidence for cheese making in the sixth millennium BC in northern Europe. *Nature*, 493(7433), 522-525. doi:10.1038/nature11698

- Savaşan, S., Göksoy, E.Ö. (2018). Taze Peynirlerden İzole Edilen Escherichia coli Suşlarının Genotiplendirilmesi. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 29(2), 127-135. doi:10.35864/evmd.513526
- Saygılı, D., Demirci H., Samav, U. (2020). Coğrafi İşaretli Türkiye Peynirleri. *Aydın Gastronomy*, 4(1), 11-21. doi:10.17932/IAU.GASTRONOMY.2017.016/2020.401/gas_v04i1002
- Sikora, T., Strada, A. (2006). Safety and Quality Assurance and Management Systems in Food Industry: An Overview. *The Food Industry in Europe*, 85-95.
- Singh, D., Kumar A., Singh, A. (2018). Haccp in Clean Food Production: An Overview. *International Journal of Research - Granthaalayah*, 6(12), 128-130. doi:10.5281/zenodo.2532392
- Suherman, S., Janitra, A.A., Budhiary, K.N.S., Pratiwi, W.Z., Idris, F.A. (2021). Review on hazard analysis and critical control point (HACCP) in the dairy product: Cheese. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*, 1053, 1-3. doi:10.1088/1757-899X/1053/1/012081
- Sultan, A.R., Hoppenbrouwers, T., Toom, N.A.L., Snijders, S.V., Neck, J.W., Verbon, A., ... Wamel, W.J. (2019). During the early stages of Staphylococcus aureus biofilm formation, induced neutrophil extracellular traps are degraded by autologous thermonuclease. *Infection and immunity*, 87(12), 1-2. doi:10.1128/IAI.00605-19
- Taban, B.M., Hassankhani, A., Aytaç, S.A. (2021). Investigation of mecA-and mecC-positive Staphylococcus aureus from raw milk and traditional artisanal dairy foods. *International Journal of Food Properties*, 24(1), 954-964. doi:10.1080/10942912.2021.1950182
- Tanış, H., Aytaç, B., Ertaş, E., Aygan, A. (2021). Lor Peynirlerinde Fekal Kaynaklı *Esherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* Aranması ve Antibiyotik Direnç Profillerinin Belirlenmesi. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 10(1) , 46-51. doi:10.46810/tdfd.802241
- Tarım ve Köyişleri Bakanlığı (TKB). (2008). Gıda Güvenliği ve Kalitesinin Denetimi ve Kontrolüne Dair Yönetmelik, T.C. Resmi Gazete, 26 Eylül 2008, sayı, 27009.
- Tarisse, F.C., Huet, G.C., Nia, Y., Devilliers, K., Marce, D., Dambrune, C., ... Simon, S. (2021). Highly sensitive and specific detection of staphylococcal enterotoxins SEA, SEG, SEH, and SEI by immunoassay. *Toxins*, 13(2), 130. 1-28. doi:10.3390/toxins13020130
- Tayar, M., Hecer, C. (2015). *Gıda mikrobiyolojisi*. (4. Baskı). Bursa: Dora Yayınları.

- Tekinşen, K.K., Akar, D. (2017). Erzincan Tulum Peyniri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi* 2017; 12(2): 218-29. doi:10.17094/ataunivbd.347980.
- Tuncel, N. B. (2005). Süt ve Ürünlerindeki Protein Fraksiyonlarının Kapiler Elektroforez CE İle Belirlenmesi. *Akademik Gıda*, 3(3), 8-11.
- Türk Gıda Kodeksi (TGK). (2011). Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, T.C. Resmi Gazete, 29 Aralık 2011, sayı, 29261.
- Türk Gıda Kodeksi (TGK). (2015). Peynir Tebliği (Tebliğ No: 2015/6), T.C. Resmi Gazete, 8 Şubat 2015, sayı, 29261.
- Türk Standartları Enstitüsü (TSE). (2001). TS 6582-1 EN ISO 6888-1, *Gıda ve hayvan yemlerinin-Mikrobiyolojisi-Koagulaz-Pozitif stafilocokların (Staphylococcus aureus ve diğer türler) sayımı için yatay metot-Bölüm 1: Baird-Parker agar besiyeri kullanarak, 2001. Türk Standartları Enstitüsü.*
- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). (2022). *Türkiye içme sütü, yoğurt, inek peyniri, ayran, tereyağı, yağsız süt tozu, tam yağlı süt tozu, kaymak ve diğer peynirler üretim verileri, 2021. Türkiye İstatistik Kurumu.* <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Sut-ve-Sut-Urunleri-Uretimi-Aralik-2021-45747> adresinden erişildi.
- Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS). (2014). *Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi.* Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı. Yayın No: 934, Ankara.
- Ulusal Süt Konseyi (USK). (2021). *2020 Süt Sektörü Raporu, Dünya ve Türkiye 'de Süt Sektörü İstatistikleri,* Ankara. <https://ulusalsutkonseyi.org.tr/ulusal-sut-konseyi-sut-raporu-2020-3639> adresinden erişildi.
- Üçüncü, M. (2020). *A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi - Cilt 1.* (3. Baskı). İzmir: Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri.
- Visansirikul, S., Kolodziej, S.A., Demchenko, A.V. (2020). Staphylococcus aureus capsular polysaccharides: a structural and synthetic perspective. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 18(5), 783-784. doi:10.1039/C9OB02546D
- Vitale, M., Scatassa, M.L., Cardamone, C., Oliveri, G., Piraino, C., Alduina, R., Napoli, C. (2015). Staphylococcal food poisoning case and molecular analysis of toxin genes in Staphylococcus aureus strains isolated from food in Sicily, Italy. *Foodborne pathogens and disease*, 12(1), 21-23. doi:10.1089/fpd.2014.1760

- Yamanashi, Y., Shimamura, Y., Sasahara, H., Komuro, M., Sasaki, K., Morimitsu, Y., Masuda, S. (2022). Effects of Growth Stage on the Characterization of Enterotoxin A-Producing *Staphylococcus aureus*-Derived Membrane Vesicles. *Microorganisms*, 10(3), 574. 1-3. doi:10.3390/microorganisms10030574
- Yerlikaya, O., Akbulut, N. (2019). Potential use of probiotic *Enterococcus faecium* and *Enterococcus durans* strains in Izmir Tulum cheese as adjunct culture. *J Food Sci Technol*, 56(4), 2175. doi:10.1007/s13197-019-03699-5
- Yoon, S., Park, Y.K., Jung, T. S., Park, S.B. (2022). Molecular Typing, Antibiotic Resistance and Enterotoxin Gene Profiles of *Staphylococcus aureus* Isolated from Humans in South Korea. *Microorganisms*, 10(3), 642. 1-4. doi:10.3390/microorganisms10030642
- Zeaki, N., Johler, S., Skandamis, P.N., Schelin, J. (2019). The role of regulatory mechanisms and environmental parameters in staphylococcal food poisoning and resulting challenges to risk assessment. *Frontiers in Microbiology*, 1307, 1-13. doi:10.3389/fmicb.2019.01307
- Zhao, Y., Xia, D., Ma, P., Gao, X., Kang, W., Wei, J. (2020). Advances in the detection of virulence genes of *Staphylococcus aureus* originate from food. *Food Science and Human Wellness*, 9(1), 40-44. doi:10.1016/j.fshw.2019.12.004
- Zhao, Y., Zhu, A., Tang, J., Tang, C., Chen, J., Liu, J. (2016). Identification and measurement of staphylococcal enterotoxin-like protein I (SE II) secretion from *Staphylococcus aureus* clinical isolate. *Journal of Applied Microbiology*, 121(2), 539-546. doi:10.1111/jam.13181