

**KÜTAHYA YÖRESİNDE ÇEŞİTLİ  
KAYNAKLARDAN ELDE EDİLEN  
*Staphylococcus aureus* İZOLATLARININ  
KARAKTERİZASYONU**

Aysel GÜLBANDILAR  
Doktora Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı  
Ağustos 2006

## JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Aysel GÜLBANDILAR'ın “Kütahya Yöresinde Çeşitli Kaynaklardan Elde Edilen *Staphylococcus aureus* İzolatlarının Karakterizasyonu” başlıklı **Biyoloji** Anabilim Dalındaki, Doktora tezi 26.07.2006 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Adı Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı) : Prof. Dr. KIYMET GÜVEN	.....
Üye : Prof. Dr. MERİH KIVANÇ	.....
Üye : Prof. Dr. GÜL DURMAZ	.....
Üye : Doç. Dr. SEMRA İLHAN	.....
Üye :Yard.Doç.Dr.NALAN YILMAZ SARIÖZLÜ	.....

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun  
..... tarih ve ..... Sayılı kararı ile  
onaylanmıştır.

**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

### Doktora Tezi

## KÜTAHYA YÖRESİNDE ÇEŞİTLİ KAYNAKLARDAN ELDE EDİLEN *Staphylococcus aureus* İZOLATLARININ KARAKTERİZASYONU

Aysel GÜLBANDILAR

Anadolu Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Kıymet GÜVEN  
2006, 137 sayfa

Bu çalışmada Kütahya bölgesindeki gıda örneklerinden, gıda çalışanlarından, gıda alet-ekipmanlarından ve klinik örneklerden 106 adet *Staphylococcus aureus* bakterisi izole edilerek karakterize edilmiş ve tiplendirme yöntemleri ile aynı yerdeki gıda elleyicisiyle onların hazırladıkları gıdalardan izole edilen izolatlar arasında akrabalık ilişkisi araştırılmış ve bu kişilerin portörlüğünün belirlenmesi amaçlanmıştır.

İdentifikasyonu için geleneksel biyokimyasal testler ve VITEK sistemi kullanılmıştır. Fenotiplendirme için antibiyotik duyarlılık testleri, SET-RPLA test kiti ile enterotoksin belirleme testi, SDS-PAGE ile toplam hücre proteinlerinin analizi ve FAME analizleri, genotiplendirme için ise *Sma* I restriksiyon enzimi ile PFGE ve *Eco* RI ile otomatik ribotiplendirme yöntemleri kullanılmıştır.

Test edilen izolatlardan sadece dört gıda ve iki klinik izolatta metisilin direnci belirlenmiştir. Mupirosin, teikoplanin, vankomisin'e karşı direnç saptanmamıştır. İzolatların % 91,74'ü penisilin G'ye karşı dirençli bulunmuştur. Test edilen toplam 99 izolat arasında üç izolatın hiçbir enterotoksini üretmediği (%3.03), üç izolatın C ve D enterotoksinlerini birlikte ürettiği (%3.03), geri kalan 93 izolatın tümünün ise D enterotoksini ürettiği (%93.93) belirlenmiştir. SDS-PAGE ile elde edilen protein profillerinde izolatlar ile izole edildikleri kaynak arasında bir ilişki belirlenememiştir. Bu çalışma ile, *S. aureus* identifikasyonu için FAME analize dayalı bir yağ asitleri veri tabanı oluşturulmuş ancak izolatların yağ asidi profilleri ile kaynak arasında kesin bir ilişki saptanamamıştır.

PFGE ve ribotiplendirme ile genotiplendirme çalışmalarında sırasıyla 9 pulstotip ve 7 ribogrup belirlenmiş ve bu yöntemlerin özellikle aynı kaynaklardan izole edilen *S. aureus* genotiplerinin belirlenmesinde ve enfeksiyon yollarının izlenmesinde güvenilir bir şekilde kullanılabilecekleri ortaya konmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** *Staphylococcus aureus*, VITEK, yağ asitleri, tiplendirme, PFGE, Ribotiplendirme.

**ABSTRACT****Ph. D. Thesis****CHARACTERIZATION OF *Staphylococcus aureus* ISOLATED FROM VARYING SOURCES IN KUTAHYA PROVINCE OF TURKEY****Aysel GÜLBANDILAR****Anadolu University  
Graduate School of Sciences  
Biology Program****Supervisor: Prof. Dr. Kıymet GÜVEN  
2006, 137 pages**

In this study, 106 *Staphylococcus aureus* strains were isolated from different food samples, food handlers, food processing equipments and clinical samples in Kutahya province. The isolates were characterised and the relation between isolates from food handlers and foods from the same source was investigated in order to explain the infection route of the bacterium.

Conventional biochemical techniques and VITEK were used for identification of *S. aureus* isolates. Phenotyping included antibiotic sensitivity tests, enterotoxin determination test with SET-RPLA, total cell protein analysis by SDS-PAGE and fatty acid methyl esters analysis (FAME), however genotyping was carried out by using pulsed field gel electrophoresis (PFGE) with *Sma* I restriction enzyme, and automatic ribotyping with *Eco* RI .

Methicilin resistance was observed in four isolates obtained from food samples and two clinical isolates. No resistance was determined to antibiotics mupirocin, teicoplanin and vancomycin. 91.74 % of isolates tested were resistant to penicilin G. 99 isolates were tested for enterotoxin production and three isolates (3.03 %) did not produce any enterotoxin, three isolates (3.03 %) produced enterotoxins C and D together, and the remaining 93 isolates produced enterotoxins D only. No relation between isolates and sources of isolates by using their protein profiles determined with SDS-PAGE method was obtained. In this study, a FAME database based on the analyses of fatty acids was established for identification of *S. aureus* but, no relation was observed between fatty acid profiles and source of the isolates.

In genotypic studies, nine pulsotypes with PFGE and seven ribotypes with ribotyping were determined. It is concluded that these methods can be used reliably to determine *S. aureus* genotypes among the isolates obtained from the same sources and monitor infection paths.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*, VITEK, fatty acids, typing, PFGE, Ribotyping.

## TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren; gerek teorik ve gerekse deneysel çalışmalarım esnasında her zaman bilgisine ve deneyimlerine başvurduğum, tez yazım aşamasında da yapıcı yönlendirmeleriyle büyük gayret sarf eden Sayın Hocam Prof. Dr. Kıymet GÜVEN'e sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim.

Bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Prof. Dr. Merih KIVANÇ'a, çok teşekkür ederim.

Çalışmamın antibiyotik duyarlılık testleri ile ilgili bölümünü yürütmemde yönlendirici olan Sayın Prof. Dr. Gül Durmaz'a çok teşekkür ederim.

Laboratuvarda çalıştığım süre içerisinde deneysel çalışmalarımda yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, hafta sonları laboratuvarda bana eşlik eden Arş. Gör. M.Burçin MUTLU arkadaşşıma çok teşekkür ederim.

Ayrıca, alet ekipman konusunda her türlü desteklerini esirgemeyen Uzm. Erdoğan Çakır'a ve Mikrobiyoloji Bölümü'nün diğer hoca ve personeline, laboratuvarda birlikte çalıştığımız ve ekip çalışmasına uyumlu tüm arkadaşşıma, tezi yürütmem sırasında her türlü imkânlarından yararlanmamı sağlayan Biyoloji Bölüm Başkanlığı'na ve Kütahya Halk Sağlığı Laboratuvarı idaresi ile tüm çalışma arkadaşşıma içten teşekkürlerimi sunarım.

Manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan ve her zaman yardımlarını esirgemeyen çok değerli eşim Eyyüp GÜLBANDILAR'a, çocuklarım Sena ve Ata'ya, bugüne kadar her türlü fedakarlıktan kaçınmayan değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Aysel GÜLBANDILAR

Ağustos - 2006

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iv</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Stafilokokların Genel Özellikleri.....	2
1.2. Taksonomi.....	3
1.3. Gıdalardaki Önemi ve Doğada Dağılımı.....	4
1.4. Gelişme ve Yaşama Karakteristikleri.....	8
1.5. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri.....	9
1.6. Antibiyotiklere Dirençlilik.....	10
1.7. Antijenik Özellikleri.....	12
1.8. Enzim ve Toksinleri.....	12
1.8.1. Enzimler.....	12
1.8.2. Toksinler.....	13
1.8.2.1. Enterotoksinler.....	13
1.9. Patojenite.....	15
1.9.1. Toksinlere bağlı olarak ortaya çıkan hastalıklar.....	16
1.9.2. İnvazyon ve sistemik yayılım sonucu ortaya çıkan hastalıklar.....	17
1.10. İdentifikasyon.....	18
1.11. <i>S. aureus</i> İzolatlarında Tiplendirme Çalışmaları.....	19
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>26</b>
2.1. Materyal.....	26
2.1.1. Örneklerin alınması.....	26
2.1.1.1. Gıda örnekleri.....	26

2.1.1.2. Gıda elleyicileri ile alet-ekipman.....	26
2.1.1.3. Klinik materyaller.....	26
2.1.2. Referans <i>S. aureus</i> izolatları.....	27
2.1.3. Kullanılan besiyerleri.....	27
2.1.3.1. ASS-agar (D.S.T. agar) (Antibiotic sulfonamide sensitivity-test agar for microbiology).....	27
2.1.3.2. Mueller Hinton agar (MHA).....	27
2.1.3.3. Yatık nutrient agar (YNA).....	28
2.1.3.4. Nutrient agar (NA).....	28
2.1.3.5. Nutrient broth (NB).....	28
2.1.3.6. Glukoz'un anaerobik fermentasyon besiyeri (GAFB).....	29
2.1.3.7. Mannitol'un anaerobik fermentasyon besiyeri (MAFB).....	29
2.1.3.8. Mannitol tuzlu agar (MSA).....	29
2.1.3.9. Beyin kalp infüzyon (BHI) agar.....	30
2.1.3.10. Beyin kalp infüzyon (BHI) broth.....	30
2.1.3.11. Triptik soy agar (TSA).....	30
2.1.3.12. Triptik soy broth(TSB).....	31
2.1.3.13. Deoksiribonükleaz (DNaz) agar.....	31
2.1.3.14. Üre agar besiyeri (UAB).....	31
2.1.3.15. Nutrient jelatin besiyeri (NJB).....	31
2.1.3.16. Fermentasyon besiyeri (FB).....	32
2.1.3.17. Baird- Parker agar (PBA).....	32
2.1.4. Kullanılan antibiyotik diskleri.....	33
2.1.5. Enterotoksin kiti.....	33
2.1.6. Boyalar ve diğer solusyonlar.....	33
2.1.6.1. GBL egg yolk tellurit solusyonu.....	33
2.1.6.2. Kristal viyole solusyonu.....	33
2.1.6.3. Lugol solusyonu.....	34
2.1.6.4. HCl.....	34
2.1.6.5. Safranin solusyonu.....	34
2.1.7. Poliakrilamid jel elektroforezde kullanılan tampon ve çözeltiler...34	
2.1.7.1. Tris citrate.....	34
2.1.7.2. %30 Acrylamide karışımı.....	35
2.1.7.3. 1,5 M Tris.....	35

2.1.7.4. 1 M Tris.....	35
2.1.7.5. %10 SDS.....	35
2.1.7.6. %10 APS.....	35
2.1.7.7. %10'luk ayırma jeli (10 ml).....	36
2.1.7.8. %5'lik yükleme jeli (3ml).....	36
2.1.7.9. 2x SDS jel yükleme tamponu.....	36
2.1.7.10. 5x yürütme tamponu.....	37
2.1.7.11. Coomassie brillant blue (Jel Boyası).....	37
2.1.7.12. Yıkama tamponu.....	37
2.1.7.13. Jel koruma solüsyonu.....	37
2.1.8. Hüresel yağ asitlerinin analizinde kullanılan tampon ve çözeltiler.....	38
2.1.8.1. Çözelti 1 (hücre parçalayıcı).....	38
2.1.8.2. Çözelti 2 (Metilleştirme).....	38
2.1.8.3. Çözelti 3 (Saflaştırma).....	38
2.1.8.4. Çözelti 4 (Bazik yıkama).....	38
2.1.8.5. İlave çözelti.....	39
2.2. Yöntem.....	39
2.2.1. İzolasyon.....	39
2.2.1.1. Gıda örneklerinin incelenmesi.....	39
2.2.1.2. Gıda elleyicileri ile alet-ekipmandan alınan örneklerin incelenmesi.....	40
2.2.1.3. Klinik materyallerin incelenmesi.....	41
2.2.2. İzolatların tanısı.....	41
2.2.2.1. Morfolojik ve biyokimyasal testler.....	41
2.2.2.2. Vitek sistem ile analiz.....	45
2.2.3. Tiplendirme testleri.....	46
2.2.3.1. Fenotipik testler.....	46
2.2.3.2. Genotipik testler.....	52
<b>3. BULGULAR.....</b>	<b>53</b>
3.1. İzolasyon.....	53
3.2. İdentifikasyon.....	55
3.2.1. Morfolojik ve biyokimyasal identifikasyonu.....	55



3.2.2. Vitek otomatik sistem ile analiz.....	57
3.3. Tiplendirme Testleri.....	59
3.3.1. Fenotipik testler.....	59
3.3.1.1. Antibiyotik duyarlılık testi.....	59
3.3.1.2. SET-RPLA (Staphylococcal Enterotoxin test by reversed passive latex agglutination) ile enterotoksin analizi.....	61
3.3.1.3. Toplam hücre proteinlerinin SDS- PAGE elektroforez ile analizi.....	65
3.3.1.4. Yağ asitleri metil esterlerinin (FAME) analizi.....	68
3.3.2. Genotipik Testler.....	72
3.3.2.1. Kromozomal DNA'nın pulsed field jel elektroforez (PFGE) ile analizi.....	72
3.3.2.2. Ribotiplendirme.....	75
<b>4. TARTIŞMA , SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>78</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>97</b>
<b>Ek-1. Biyokimyasal test sonuçları.....</b>	<b>107</b>
<b>Ek-2. <i>S. aureus</i> izolatlarının Vitek otomatik sistem ile analiz sonuçları....</b>	<b>110</b>
<b>Ek-3. <i>S. aureus</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık testleri.....</b>	<b>114</b>
<b>Ek-4. Gıda elleyicileri ile gıdalardaki <i>S. aureus</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının karşılaştırılması.....</b>	<b>118</b>
<b>Ek-5. Yağ asitleri metil esterlerinin (FAME) analiz sonuçları.....</b>	<b>125</b>
<b>Ek-6. CLIN-50 Veri tabanına göre <i>S. aureus</i> izolatlarının isimlendirilmesi.....</b>	<b>135</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

3.1. <i>S. aureus</i> 'un Baird Parker ve kanlı agardaki görünümü.....	55
3.2. Gram boyama ile <i>S.aures</i> 'un mikroskopik görünümü.....	56
3.3. Muller Hinton Agar besiyerinde antibiyotik disklerinin oluşturduğu inhibisyon zonlarının görünümü.....	60
3.4. Toplam hücre protein profilleri.....	66
3.5. SDS-PAGE profilleri.....	67
3.6. Yağ asitleri profillerine göre <i>S. aureus</i> izolatları arasındaki benzerlik oranı.....	69
3.7. Test edilen bazı <i>S. aureus</i> izolatlarının PFGE profilleri.....	73
3.8. <i>S.aureus</i> izolatlarının PFGE analizi ile benzerlik oranları.....	73
3.9. <i>S.aureus</i> izolatlarının ribotiplendirme profilleri.....	75
3.10. Ribotiplendirme gruplarının benzerlik yüzdesi.....	76

## ÇİZELGELER DİZİNİ

3.1. İzole edilen bakterilerin kaynaklara göre dağılımı.....	54
3.2. Biyokimyasal test sonuçları.....	56
3.3. <i>S. aureus</i> 'un Vitek Otomatik Sistem ile Analiz Sonuçları.....	58
3.4. <i>S. aureus</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları.....	60
3.5. Gıda elleyicileri ile gıdalardaki <i>S. aureus</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının karşılaştırılması.....	61
3.6. SET-RPLA ile Enterotoksin Testi Analizi Sonuçları.....	62
3.7. İzolatların %1 ve daha fazla oranda içerdikleri yağ asitlerinin bulunma yüzdesi, ortalaması ve standart sapması.....	71
3.8. İzolatların PFGE analizine göre oluşturdukları gruplar.....	74
3.9. İzolatların Ribotiplendirme yöntemine göre oluşturdukları gruplar.....	76

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- SET-RPLA : Staphylococcal enterotoxin test by reversed passive latex agglutination
- SDS-PAGE : Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez
- PCR : Polymerase chain reaction
- MIS : Microbiyal identifikasyon sistem
- PFGE : Pulsed field jel elektroforez
- NCCLS : National committee for clinical laboratory standarts
- THP : Toplam hücre proteinleri
- APS : Amonyum persülfat
- TEMED : Tetra etil metilen diamin
- MRSA : Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*
- MSSA : Metisilin duyarlı *Staphylococcus aureus*
- FAME : Fatty acid methyl esters
- df : Serbestlik derecesi

## 1. GİRİŞ

*Staphylococcus aureus* insanlarda birçok enfeksiyonlara neden olan bir bakteridir. Ortam şartlarına dayanıklı olduklarından doğada çok yaygındırlar. İnsanlarda enfeksiyon yapan patojen stafilokokların kaynağı yine insanlardır [1]. Doğal olarak en fazla burun ve boğaz boşluğunda, insan ve hayvan dışkılarında, ciltte apseli yaralarda ve sivilcelerde yoğun olarak bulunurlar. Gıdalarda ve gıda işletmelerinde, elle gıda hazırlayanlarda, hastane personeli ve hastane ortamlarında da yaygın olarak bulunurlar. Nazal stafilokoklar, taşıyıcılarla çevreye yayılarak tehlike oluştururlar. Taşıyıcı olan ve özellikle gıda sektöründe bizzat elleriyle gıda hazırlayanlar stafilokok besin zehirlenmelerinin önemli kaynağıdırlar [1- 4].

Günümüzde *S. aureus*'un bir çok antibiyotiğe direnç gösteren izolatlarının ortaya çıkması çoğu hastane için önemli bir sorun haline gelmiştir. Hem coğrafik bölgeler arasında hem de aynı bölgede değişkenlik gösteren metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) prevelansının belirlenmesinde izolatların çeşitli antibiyotiklere ve özellikle metisiline dirençliliğinin araştırılması önem arz etmektedir. Çünkü; MRSA izolatları ciddi ve tedavisi güç enfeksiyonlar oluşturmaktadırlar. Bu nedenle farklı kaynaklardan izole edilen *S. aureus* izolatlarının yayılımının izlenmesi açısından bunların tiplendirilmesi önem taşımaktadır.

Yapılan çalışmalarda, *Staphylococcus aureus* izolatlarını tiplendirmede birden fazla yöntemin birlikte kullanılması önerilmiş ve [5, 6] ribotiplendirme ve PFGE'nin ayırt edici gücünün daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Farklı yöntemlerle *S. aureus* izolatlarının tiplendirilmesi yapılarak, izolatlar arasında bir ilişkinin var olup olmadığı ve kullanılan yöntemler arasında uyumun derecesi belirlenerek *S. aureus*'un oluşturduğu enfeksiyonların kökeni daha kısa sürede ortaya çıkarılabilir.

Bu çalışmada farklı gıda örnekleri, gıda elleyicileri ve ekipman ile klinik materyallerden izole edilen *Staphylococcus aureus* bakterileri tanımlama testlerinden sonra tiplendirme testlerine alınmıştır. Değişik izolatlar arasında özellikle de aynı yerdeki gıda elleyicisiyle onların hazırladıkları gıdalardan izole

edilen izolatlar arasında akrabalık ilişkisinin var olup olmadığı, buralarda çalışan kişilerin portörlüğünün belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu nedenle, çalışmamızda test edilen izolatların tümünün biyokimyasal testlerle identifikasyonu Vitek otomatik analiz siseminde doğrulanmış ve fenotipik tiplendirme antibiyogram testleri, toplam hücre proteinlerinin SDS-PAGE (Sodyum dedosil sülfat poliakrilamid jel elektroforez) ile analizleri ve hücresel yağ asitlerinin Gaz Kromatografisi ile analizleri gerçekleştirilmiştir. Aynı kaynaklardan izole edilmiş bazı izolatların genotipik tiplendirmesi için Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) ve otomatik ribotiplendirme yöntemleri kullanılmış ve test edilen izolalar arasındaki genetik varyasyon incelenmiştir.

### **1.1. Stafilokokların Genel Özellikleri**

Stafilokoklar doğa koşullarına dayanıklı ve doğada yaygın olarak bulunan mikroorganizmalardır. İnsan, hayvan ve bitkilerde normal flora olarak bulunabilirler. Bunun yanında insan ve hayvanlarda birçok hastalıkların etkeni olarak da önem taşırlar. Özellikle stafilokok enfeksiyonları hastanede yatan hastalarda sık görülmekte ve antibiyotiklere karşı dirençli olmalarından ötürü tedavileri sorun oluşturmaktadır. Halen en sık karşılaşılan cilt ve yumuşak doku enfeksiyonu, septik artrit, osteomyelit, infektif endokardit, bakteriyemi, mastit, menenjit gibi klinik bir çok tablonun etkenidirler [2, 4, 6-10]. Ayrıca bakteriyel gıda zehirlenmelerine neden olan mikroorganizmalar arasında yer alan stafilokoklar gıda maddelerinde de bulunabilirler. Gıdalarda ve gıda işletmelerinde, kurumlara ait büyük mutfaklarda bu bakteriye rastlanması hijyen kriteri olarak kabul edilmektedir [2, 11, 12]. Gıdaların üretim, işleme, muhafaza, taşıma, hazırlama ve servis işlemlerinde çalışan personelin gıdaların kontaminasyonunda önemli rol oynadığı bilinmektedir. Gıdalar üzerinde uygun şartlar yakaladıklarında çoğalarak ve toksin üretmektedirler ve ürettikleri toksinler gıda yolu ile vücuda girerek intoksikasyon oluştururlar. Çevre şartlarına çok iyi uyum sağlamaları nedeniyle gıda maddelerinde bulunmaları doğaldır [3, 7, 8, 13-15].

Stafilokoklar ile bulaşık gıdalar bakterilerin çoğalmasına uygun şartlarda muhafaza edilecek olursa, stafilokoklar hızla çoğalarak enterotoksin üretir ve neticede gıda zehirlenmelerine sebep olurlar. Bu bakterinin gelişmesi ve toksin üretmesi için gerekli şartlar gıdaya göre farklılık gösterir. 4–46 °C' ler arasındaki sıcaklıklarda gelişip, toksin üretebilmektedir. Toksinlerin en önemli özelliği ısıya dayanıklı olmalarıdır. Özellikle yaz aylarında, hijyenik şartları uygun olmayan yerlerde açıkta bekletilen gıdalar birer büyük tehlike oluşturmaktadır. Sterilizasyon ile 117 °C' de inaktive olurlar [2, 7, 16, 17].

## 1.2. Taksonomi

Çeşitli hastalıklara kaynak teşkil eden *Staphylococcus* cinsi bakterileri çok eski zamanlardan beri bilinmekle beraber, ilk stafilokok (*Staphylococcus*) adı 1880'de Ogston tarafından kullanılmıştır. Üremeleri sırasında birbirlerinden ayrılmayarak, üzüm salkımına benzeyen, düzensiz kümeler oluşturmalarıyla üzüm salkımı anlamına gelen bu isimle adlandırılmışlardır. Sonraki yıllarda (1884) Rosenbach taksonomik açıdan anlamlı olan *Staphylococcus* türlerini tanımlamıştır [4, 13, 18].

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Staphylococcus* cinsinin bir türüdür. Yaklaşık 1µm çapında koklar olup üç yönde ve birbirine yapışık olarak çoğalarak, üzüm salkımına benzer kümeler oluştururlar. Teker teker incelendikleri zaman stafilokok hücreleri diğer koklara göre yuvarlağa yakın şekildedirler. Gram pozitif, katalaz pozitif, sporsuz, hareketsiz ve genellikle kapsülsüzdürler. Bazı kökenlerinde belirgin ve polisakkarit yapısında bir kapsül ya da bir mukus katmanı olur. Hücre çeperleri özel yapıda olup, peptidoglikan, teikoik asit ve türe özgü presipitinojen protein birimlerini içerir. Çoğu tür fakültatif anaerobtur. Stafilokoklarda DNA G+C içeriği % 30–39 dur. Katı besiyerlerinde 1–2 mm çapında düzgün koloniler oluştururlar. Altın sarısı, limon sarısı ve porselen beyazı renkte, üç çeşit, suda eriyen pigment yaparlar. Pigment rengine göre, isimlendirilirler. *S. aureus* izolatları altın sarısı pigment oluşturan koloniler ile tanımlanırlarsa da gıdalardan ve hayvanlardan elde edilen izolatların çoğunun bu özelliği göstermediği belirlenmiştir. Ender olarak bazı izolatları pigmentsizdir.

Bunlardan yalnız *S. aureus* türü patojen ve çoğu koagulaz pozitifdir. Kanlı agar besiyerinde kolonilerin çevresinde genellikle çoğu tam hemoliz bölgesi oluştururlar, diğerleri ise hemoliz oluşturmazlar. Jelâtinini eritir, nitratları nitrat ve amonyağa indirgerler. Laktoz ve maltozu kullanarak asit oluştururlar, gaz yapmazlar. Aerobik ve anaerobik olarak mannitolden asit yaparlar. Aerobik olarak fruktoz, galaktoz, mannoz, riboz, sukroz, trehaloz, turanoz ve gliserolden asit oluştururlar. En iyi 30-37 °C 'de gelişirler. Toksin oluşturmak için gerekli maksimum ve minimum sıcaklık dereceleri 10-48 °C arasındadır. Gelişmeleri için optimum pH 7,0-7,5'dur. %9 oranında NaCl içeren bir ortamda çoğalabilirler. 0,90-0,95 su aktivitesinde kolaylıkla ürerler. Ancak bazı toksijenik stafilocoklar daha yüksek tuz ve şeker konsantrasyonlarına oldukça toleranslıdır. Stafilocokların fermentatif ve proteolitik özellikleri de vardır, ancak üredikleri gıdalarda herhangi bir kötü koku ve görünüş meydana getirmezler. Stafilocok zehirlenmelerine neden olan bakterinin bizzat kendisi değil, ortama çıkardıkları enterotoksin adı verilen bir maddedir [2- 4, 7, 16, 18-21].

### 1.3. Gıdalardaki Önemi ve Doğada Dağılımı

Sağlıklı bitkilerin (sebze ve meyvalar) ve hayvanların (et) iç dokuları normal olarak sterildir. Buna rağmen işlem görmüş olsa bile (steril gıdalar dışında) gıdalar, bakteri, maya, küf ve virüs türlerini içerebilirler. Bu mikroorganizmalar doğal gıda kaynaklarından veya işlemeden kullanıma kadar olan süreçte dış kaynaklardan gıdalara geçebilirler.

Gıdalara çeşitli şekilde bulaşan mikroorganizmalar onları çoğu kez kendi gelişmeleri için besin kaynağı olarak kullanırlar. Bu durum ise gıdanın bozulmasına neden olmaktadır. Mikroorganizmaların gıda maddelerinde çoğalmaları, besin öğelerini tüketmeleri, enzimatik değişmelere yol açmaları, ve yeni bileşikler sentezleyerek ya da mevcut bileşikleri parçalayarak, hoş gitmeyen tat ve aroma oluşturmaları sonucu gıdalar bozulmaktadır. Bu durum mikroorganizma faaliyetinin normal bir sonucudur. Bu şekilde mikroorganizmalar doğal işlevlerini yerine getirirken gıdaları tüketilemez duruma sokmaktadır. Bunun önlenmesi için mikroorganizmalarla gıda maddelerinin temasını en aza



indirmek veya onları gıdalardan tamamen uzaklaştırmak ya da depolama şartlarını mikroorganizmaların gelişemeyeceği şekilde düzenlemek gereklidir.

Gıdalarda bulunan mikroorganizma türleri içinde en fazla rastlanan tür bakterilerdir. Bunun sebebi, bakterilerin her türlü ortamda diğer mikroorganizmalara oranla büyüme hızlarının çabuk olması, gıdalardaki besinleri daha iyi kullanabilmeleri, geniş bir sıcaklık, oksijen, pH ve su aktivitesi çerçevesinde gelişebilmeleridir.

Gıdalara bulaşan mikroorganizmalar patojen nitelikte oldukları takdirde gıdalar ayrıca sağlık açısından riskli duruma girerler. Gıdaların çoğu patojen mikroorganizmaların gelişmeleri için elverişli ortamlardır veya onları taşıyıcı rol oynarlar.

Bulaşma, bu mikroorganizmaları taşıyan insan ve hayvanlar yolu ile olmaktadır. Stafilokoklar, insan ve hayvanlarda sebep oldukları apse, sivilce ve enfekte yaralarda yerleşerek buralardan gıda maddelerine bulaşabilirler. Yetişkinlerde burun, *S. aureus*'un en yoğun bulunduğu bölgelerden biridir. Bu gibi kişilerin herhangi bir gıdanın hazırlanması, depolanması veya dağıtılmasında çalışması o gıdanın söz konusu mikroorganizmalarla bulaşma olasılığını artırır ve bu kişilerce kontamine edilen gıdalar besin zehirlenmesine neden olmaktadır [1, 2, 3, 4, 11, 12, 17].

Bunun yanında enterotoksijenik stafilokoklar insanların en çok burun ve boğazlarında olmak üzere ellerinde, kollarında, yüzlerinde, gözlerinde yerleşirler. Böyle insanlar bakterilerin yayılmasında portörlük yaparlar [3, 11, 12, 18].

Bazı gıdalar ise kaynağından kontamine olarak elde edilebilirler. Şayet elde edildikleri hayvanlar söz konusu organizmalarla enfekte ise bulaşmaya neden olabilirler. Meme dokusunda görülen iltihabi bir hastalık olan mastitisin en önemli etkenlerinden biri *S. aureus*'tur. Mastitisli bir hayvandan elde edilen sütte stafilokok bulunması her zaman beklenebilir [17, 22-27]. Mastitit olguları dünyanın her yerinde büyük ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Kronikleşen olgularda ölüm görülebilmektedir [26].

Çiğ sütte bulunan *S. aureus*, hayvanın meme kanallarından, vücudundan, havadan, sudan ve süt sağımında kullanılan aletler ile muhafazası sırasında buldukları kaplardan gelebilir.

Bazı gıdalar stafilocok zehirlenmesine diğerlerinden daha fazla sebep olurlar. Aynı şekilde bazı besinlerin hazırlanma şekilleri de bakterilerin üreme hızını artırır. Oluşan toksin miktarı da gıda çeşidiyle yakından ilgilidir. Proteinli ve nişastalı (karbonhidratlarca zengin) gıdalar stafilocokların gelişmeleri, çoğalmaları ve toksin oluşturmaları için daha uygun gıda maddeleridir. Zehirlenmelerde daha çok et, tavuk, balık, yumurta, kabuklu deniz ürünleri, kıymalı yemekler, bilhassa kıymalı makarna, et suyu ile yapılmış çorba ve soslar, yumurtalı, şekerli ve sütlü karışımlar, kremalı pastalar, patates, kremalı patates, patates salatası gibi besinler rol oynamaktadır [2, 16 ,17, 28, 29]. Bu besinler asit içermediklerinden stafilocoklar buralarda kolayca üreyip çoğalabilirler. Bunun yanında süt, peynir ve dondurma gibi hayvansal ürünlerde yine bu mikroorganizmaların gelişmeleri için uygun birer ortam olup, stafilocok zehirlenmesi bakımından tehlikeli görülmektedir.

Tekniğine uygun olarak üretilmiş içme sütleri patojenler yönünden çok az risk arz eder. Pastörizasyon için yasal olarak belirlenmiş minimum düzeydeki ısı işlem bile çiğ sütte bulunması olası tüm bakterileri yok edebilmektedir fakat *S. aureus*'un oluşturduğu enterotoksinler bu tür ısı işlemlerden etkilenmemektedir. Yine dondurma yapımında uygulanan pastörizasyon sıcaklıkları minimumda tutulduğu zaman anaerob ve aerob bakteri sporları canlı kalabilmektedir. Dondurmalara katılan meyveler, aroma maddeleri ve diğer katkıları pastörizasyon sonrası katılırlarsa ve düşük mikrobiyolojik nitelikte iseler önemli kontaminasyona neden olurlar. Ayrıca iyi temizlenmemiş ve dezenfekte edilmemiş ekipman ve ambalaj kapları da pastörizasyon sonrası başlıca kontaminasyon kaynağıdır. Yine tüketim aşamasına kadar olan soğuk zincirde bir aksamanın olması durumunda *S. aureus* patojeniteye sebep olmaktadır.

*S. aureus* peynirlerde de en fazla risk arz eden bakteridir. Mastitis olgusunun yanında personel tarafından da süte bulaştırılabilmektedir. Peynir üretiminde çiğ, hafif işlem görmüş veya pastörize sütler kullanıldığından *S. aureus*'un patojen suşları zehirlenmelere sebep olmaktadır.

Tereyağında bu bakterinin gelişmesi şayet krema kötü şartlarda üretilip saklanmışsa gerçekleşir. *S. aureus* gelişimi sonucu oluşan enterotoksin

pastorizasyonla yıkılmadığından tereyağına geçerek zehirlenmelere neden olur [17].

Besin hazırlama sırasında çok ellenen veya uğraşılan besinler de bulaşmaya çok müsaittir. Örneğin, sağlıklı hayvan etleri pek az mikroorganizma ihtiva ederler. Et hayvanları ve kanatlı hayvanlar, kesim ve derilerinin veya tüylerinin çıkarılması sonrası, genelde kendilerinden (deri,tüy, bağırsaklar gibi), yemlerden ve buldukları ortamlardan ve kesim yapılan yerlerden gelebilecek bakteri türlerini bulundurlar. Mikroorganizmaların ete bulaşması genellikle kesim sırasında dış etkenlerle; kesim, yüzme, parçalama, taşıma, depolama ve işleme sırasında olur. Daha sonra etin kemikten ayrılması, doğranması, makinede kıyma yapma, dövme, şekil verme gibi işlemler sırasında temasta bulunduğu aletler, makineler, yer, hava, su, işçilerin elleri ve elbiseleri besinlerin bakteriler ile bulaşmasını artırır. Kullanılan bazı aletler bu tür kirlenmelerde ön plana çıkarlar, bunlar; taşıyıcılar, parçalayıcılar ve kesiciler gibi temizlenmesi zor olan aletlerdir. Bu nedenle etler kesim işlemleri sırasında ve hazırlanma şekilleri nedeniyle yüksek düzeyde mikroorganizmalarla kontamine olabilmektedirler. Etlere bu haliyle pazarlanmaları muhafaza sürelerini kısaltmakta ve çabuk bozulmalarına neden olmaktadır. Kemiksiz et hazırlanması veya etlerin kıyma haline getirilmesi bu ürünlerde hayvansal ve kullanılan aletlerden gelen bakteri sayılarını fazlalaştırır.

Stafilokokal gıda zehirlenmeleri gerek üretim, gerekse muhafaza sırasında etlerin çevresel kaynaklardan *S. aureus* ile kontamine olması ve hazırlama şartlarına bağlı olarak etkenin hızla üreyerek enterotoksinleri oluşturması sonucu meydana gelmektedir.

*S. aureus* tuza çok dayanıklı olduğundan salamura, tuzlama, dumanlama, kurutma ve benzeri işlemlerin uygulandığı su ürünlerinde üreyip çoğalabilir [2, 17, 29].

Yoğurt gibi asit nitelikli besinler yumurta ile karıştırılıp kullanıldığında asit niteliğini kaybeder ve stafilokok için uygun bir ortam haline gelebilirler. Aynı şekilde salata mayonezlerinin içinde asetik asit bulunması sebebiyle stafilokok büyümesine elverişli değildir, ancak yiyeceklerle (haşlanmış patates vb.) karıştırılınca stafilokok gelişmesine elverişli bir ortam hazırlanır. Isı işleminin

uygulandığı süt ve süt mamullerinde ısının yeterli olmaması ve bu gibi mamullerin uygun hijyenik koşullarda işlenmemesi halinde ortamda kalan mikroorganizmalar gıda zehirlenmesine neden olmaktadır [2, 17].

#### 1.4. Gelişme ve Yaşama Karakteristikleri

Zehirlenme belirtilerinin görülebilmesi için gıda maddesinde yeteri kadar *S. aureus* enterotoksinin oluşması ve bunun içinde belli miktarda bakteri hücrelerinin bulunması gerekmektedir. Ayrıca bu tip zehirlenmeler gıda üzerinde enterotoksin yapma yeteneğinde olan stafilokok suşlarının çoğalmasına, çevre şartlarına ve gıda çeşidinin toksin teşekkülüne elverişli olmasına bağlıdır. Genel olarak gıda maddelerinde  $1 \times 10^6$ /gr hücre bulunması halinde zehirlenme olayları görülmektedir. Bu seviyede geliştiğinde toksin gıda üzerinde zehirlenmeye neden olabilecek dozda üretilmiş olur. Yapılan çalışmalar sütle zehirlenmede bu miktarın  $5 \times 10^7$  olması gerektiğini ortaya koymaktadır. Hastalık belirtileri gıda tüketiminden yaklaşık 4 saat sonra görülmeye başlar. Bu süre 5 ve 7 saat arasında değişebilir. Hastalık belirtileri kusma ve diyaredir. Bulantı, bitkinlik, terleme, hatta vücut sıcaklığının düşüşü de gözlenebilir [2, 3, 16, 25, 30-32].

Gıdaların oda sıcaklığında hazırlanması sırasındaki aşamalarda bekletilme süresi veya oda sıcaklığında kendi kendine soğumaya bırakılması bakteri çoğalmasına ve toksin üretimine yardımcı olur [16, 17, 30]. Ancak stafilokok gıda zehirlenmesinde bakteri sayısı tek bir faktör değildir. Bunun yanında saklama sıcaklığı, su aktivitesi, suşların karakteri, ortamın pH'sı, ortamda toksin oluşumunu engelleyen maddelerle, rakip organizmaların bulunup bulunmaması gibi çok çeşitli faktörler etkili olmaktadır [12, 16].

Gelişme için minimum pH aerobik şartlarda anaerobik şartlarından daha düşüktür. Ette aerobik şartta minimum pH 4,8, anaerobik şartta 5,5 iken maksimum pH 9,0'dır. Etilerde, pH 4,0-4,3 de stafilokok gelişmesi azdır, pH 5,0'de ise gelişme çok iyidir. Stafilokokların aerobik şartlarda gelişmeleri ve toksin üretebilmeleri için su aktivitesinin en aşağı, 0,86 anaerobik şartlarda ise 0,90 olması gerekir. Düşük su aktivitesi ile bakterinin gelişme hızları ve enterotoksin oluşumu azalır. Koagülaz pozitif stafilokoklar ortamda süt asidi bakterileri ile

birlikte bulunmaları halinde, süt asidi bakterileri stafilocokların faaliyetine olumsuz etki yapmaktadır [2, 3, 16-18].

### 1.5. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri

Aerobik ve anaerobik şartlarda kanlı agar, nutrient agar, tryptic soy agar, brain heart infusion agar, baird parker agar besiyerinde ürerler, mezofil karakterdedirler. Sporsuz ve hareketsizdirler. *S. aureus* izolatları optimum 37 °C' de gelişirler. Gelişme sınırları 6-46 °C arasındadır. Toksin oluşturmaları için gerekli minimum ve maksimum sıcaklık dereceleri biraz daha yüksek olup, 10-48 °C' dir. Optimum olarak 7-7.5 pH' da gelişirlerken 4.0-9.3 pH sınırları arasında da gelişmesini sürdürürler. Gıdalarda toksin oluşturabilmek için minimum pH istekleri, vejetatif gelişme isteklerinin biraz üzerindedir. Benzer durum su aktivitesi (As) değerlerinde de görülür. Minimum su aktivite değeri aerob gelişme için As= 0.83-0.86, anaerob gelişme için As= 0.90 olarak belirlenmiştir. Toksin oluşturmak için ise daha yüksek su aktivitesi değerlerini tercih ederler.

Katı besiyerlerinde 6-8 mm çapında düzgün koloniler oluştururlar. Altın sarısı, limon sarısı ve porselen beyazı renklerinde pigment yaparlar. İnsanlardan hastalık etkeni olarak tanımlanan stafilocok izolatları bu ikisi arasında sarı ve turuncunun çeşitli renklerinde koloni yapabilirler. Pigment karotenoid yapısında olup, hücre zarında yer almaktadır. Pigment oluşması üreme ortamı koşullarından etkilenmektedir. Ortamda sığır kremasının bulunması, pigment oluşturma özelliğini artırıcı etki yapar. Aynı stafilocok kökeni değişik koşullarda değişik renkte pigment oluşturabilir. Sıvı besiyerlerinde pigment görülmeyebilir veya bej renkte görülürler. Pigment üretimi 24-48 saatte oda ısısında inkübasyon ile artırılabilir. Çoğu koyun, at, insan kanlı besiyerinde hemolizin üretir, hemoliz görülür. %10-15 NaCl içeren besiyerlerinde iyi ürerler ve %20 tuzlu ortamlara da tolerans gösteren izolatları bulunmaktadır. Tuzdan başka; tellürit, civa klorür, sodyum azid gibi kimyasal maddelere dirençlidirler.

İrinli enfeksiyon yapan *S. aureus*'ların hemen hepsi koagülaz pozitiflerdir. Genel olarak, pigment için oksijen gerekli olup oda ısısında daha iyi oluşur. Aerop şartlarda üretilen *S. aureus*'lar katalaz oluştururlar.

Buyyonda önce bulanıklık meydana getirerek ürerler, sonra besiyeri durulanır ve dipte ince bir çökelti oluşur. Besiyerlerine glukoz, kan, serum ve benzeri maddeler konularak besiyeri zenginleştirilirse üreme daha çabuk ve kolay olur. Başta glukoz olmak üzere bir çok karbonhidratları parçalarlar ve son ürün olarak laktik asit oluştururlar, fakat gaz oluşturmazlar. Şekerlerden mannitol üzerinde olan etkileri özellik taşımakta olup, bu karbonhidratı yalnız koagülaz pozitif stafilokoklar parçaladıkları halde koagülaz negatif stafilokoklar parçalayamazlar. Bu nedenle mannitole etki deneyi koagülaz testinden sonra *S. aureus*'u diğer stafilokoklardan ayırt etmede en yararlı deneydir. Nitratları nitritlere indirgerler [2, 4, 7, 8, 16, 18].

### **1.6. Antibiyotiklere Dirençlilik**

Antibiyotik direnci; bir mikroorganizma türünün bazı izolatlarının antibiyotikten etkilenmemesi ya da antibiyotiğe duyarlı bir izolatın çeşitli direnç mekanizmalarından biri ile dirençli hale dönmesi olarak tanımlanır. Kazanılmış antibiyotik direnci ya mikroorganizmaların kromozomunda oluşan mutasyonlarla ya da dirençli bir mikroorganizmanın direnç genini duyarlı mikroorganizmalara plazmidleri ile yada transformasyon veya transdüksiyon ile aktarması ile ortaya çıkar.

*S. aureus* oldukça dayanıklı bir bakteridir. Pastorizasyon ısısından bile *S. aureus*'un enterotoksinleri etkilenmemektedir [17]. Kemoterapötiklere karşı hızla direnç kazanarak onlardan etkilenmeyen kökenler haline gelirler. Her yeni çıkan antibiyotik başlangıçta etkili olduğu halde zamanla ona karşı direnç kazanılmaktadır. Bu olay özellikle kemoterapinin en çok kullanıldığı hastane ortamında gelişmektedir. Özellikle nazal *S. aureus* taşıyıcılığının riskli hasta grubunda enfeksiyon gelişimine ve epidemilere yol açtığı bilinmektedir. Hastane personeli el teması ile bulunduğu ortamda bu mikroorganizmaların taşınması ve yayılmasında büyük rol oynar. Cerrahi birimlerde yatan hastalar, hemodiyaliz hastaları ve toplum kaynaklı pnomoni hastaları taşıyıcılık esnasında gelişebilecek *S. aureus* enfeksiyonları açısından riskli grubu oluştururlar [33-38].

Stafilokok taşıyıcılığının en önemli kısmını da metisilin direnci oluşturmaktadır. Metisiline dirençli *S. aureus* taşıyıcıları bulunduğu hastane ortamı ve yoğun bakım birimlerinde bu bakterilerin yayılımını kolaylaştırmaktadır [33-40].

Başlangıçta penisiline duyarlı olan *S. aureus*'un 1950'li yıllarda antibiyotiklerin yaygın kullanımıyla birlikte bu bakterinin beta laktamaz üreten kökenlerinde artış saptanmıştır. Beta laktamaza dirençli penisilinlerin kullanıma girmesi direnç problemini bir süre için çözmüşse de, 1960'lı yıllardan itibaren metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA), özellikle hastane patojeni olarak ortaya çıkmıştır [41, 42].

Stafilokoklarda penisilinaz üretiminin saptanmasından sonra bu enzime dirençli anti-stafilokokal penisilinler (metisilin, oksasilin) geliştirilmiş ancak 1970'li yıllardan itibaren metisiline de direnç görülmeye başlanmıştır. Metisilin direncinin klinikteki önemi metisilin dirençli izolatların aynı zamanda eritromisin, sefalosporinler, karbapenemler, tetrasiklin, klindamisin, aminoglikozid, kinolonlar gibi bir çok antibiyotiğe de direnç göstermesidir.

*S. aureus*'un Beta laktam grubu antibiyotiklere direnci iki şekilde gerçekleşmektedir.

Birincisi; bu antibiyotikleri parçalayan beta-laktamazları üreterek gerçekleşmekte ve bu sayede metisilin gibi beta-laktamaza dirençli penisilinler gelişmektedir.

İkinci mekanizma Penisilin bağlayan proteinler (PBP'ler) de denilen enzimlerdeki değişikliklerdir. PBP'ler, zara bağlıdır, kromozomda yerleşmiş olan Mec A geni tarafından kodlanırlar ve peptidoglikan endopeptidaz olarak görev yaparlar. Bakterinin canlı kalmasında etkilidirler ve beta laktam grubu antibiyotiklerin hedefini teşkil ederler. Bu nedenle beta laktam grubu antibiyotiklerin etkili olabilmeleri için, bakteri PBP'i ile ilaç arasında yüksek afinite olması gerekir [41, 43].

## 1.7. Antijenik Özellikleri

*S. aureus*'un 30' dan fazla antijeni vardır. Bunların bir kısmı diğer Stafilokok türleri, mikrokoklar ve Listeria gibi başka bakterilerle ortakdır [43]. En önemli antijenik yapı hücre duvarıdır. Hücre duvarının temel yapısı, duvar ağırlığının % 50'ini oluşturan peptidoglikandır. Peptidoglikan, N-asetilmüramik asit ve N-asetilglukozamin'den oluşmuş polisakkaritlerdir [18, 21]. Bunlar Interlökin-1 üretimini sağlar, endotoksin benzeri aktiviteye sahiptir, komplemanı aktive eder ve antikorların üretimini sağlar.

Diğer önemli hücre duvar yapısı fosfat içeren teikoik asittir. Yaklaşık hücre duvar yapısının % 40 ını oluşturur [43].

Ayrıca *S. aureus*'un dış peptidoglikan seviyesinde 42.000 dalton molekül ağırlığına sahip PROTEİN A bulunur, en önemli özelliği çeşitli memeli türlerinde bulunan bazı immüoglobulin G (IgG) alt sınıflarının (insan immüoglobulinin (IgG 1) (IgG2 ) (IgG4 alt sınıfları) Fc uçlarına bağlanarak uygun koşullarda komplemanı aktivite edebilmesidir [4, 21, 43].

## 1. 8. Enzim ve toksinleri

*S. aureus*, patojenik özelliğe sahip çeşitli enzim ve toksinler salgılar.

### 1.8.1. Enzimler

Katalaz; Bütün stafilokoklar hidrojen peroksiti katalaz salgılayarak su ve oksijene parçalar.

Koagülaz; Protrombine bağlanarak fibrinojenin fibrine çevrimini stimule eder.

Clumping faktör; *S. aureus* kolonileri plazma ile karıştırıldığında, bakteri hücre yüzey bileşenleri ve fibrinojen arasındaki etkileşimle pıhtılaşır. Bu reseptör *S. aureus*'un fibrinojen ve fibrine bağlanmasından da sorumludur.

Deoksiribonükleaz (DNase); DNA'yı hidrolize eder.



Hyalüronidase; hiyalünorik asidi hidrolize eder, antijen özelliği olan bir maddedir.

Beta laktamazlar; Çoğu plazmid geçişlidir. Beta laktam antibiyotiklere dirençte rol oynarlar.

Nukleaz; fosfodiesterazdır.

Lipase; İnfeksiyonun yayılımında rolü olduğu düşünülen enzimlerdir [4, 21].

### 1.8.2. Toksinler

Konak hücre fonksiyon ve yapısını etkileyen, ekstrasellüler ürünlerdir.

Alfa toksin; Eritrosit, lökosit, trombosit gibi çeşitli ökaryotik hücre membranlarını etkiler. Eritrositler en duyarlı hücrelerdir, hemoliz görülür.

Beta toksin; Sfingomyelin üzerine etkilidirler.

Gama toksin; Eritrositleri hemoliz eder.

Delta toksin; bazı stafilokokkal enfeksiyonlarda etkilidir. Eritrositler, makrofajlar, lenfositler, nötrofiller üzerinde litik etkileri vardır.

Leukocidin; fagositik hücrelerde etkilidir.

Epidermolitik toksinler, enterotoksinler ve toksik şok sendromu toksini gibi toksinler de patojeniteye etkilidirler [4, 21] .

#### 1.8.2.1. Enterotoksinler

*S. aureus* tarafından oluşturulan toksinlerin sindirim sistemine etkisini gösterenlere enterotoksin denilmiştir. Stafilokokal gıda zehirlenmeleri enterotoksin üreten gıdaların tüketilmesi sonucu oluşur. İnsanlar besinleri stafilokok türleri ile kontamine edebilirler. Başta *S. aureus* olmak üzere enterotoksijenik stafilokok türleri elverişli şartlarda çeşitli besinlerde üremeleri sırasında sentezledikleri enterotoksinlerin alınmasıyla gıda zehirlenmeleri görülür. İnsanlar besinleri kontamine edebilirler. Ancak intoksikasyonun esas kaynağı hayvansal besinlerdir. Özellikle mastitisli ineklerden elde edilen süt intoksikasyonda önemli rol oynamaktadır. Gıdalarda stafilokokların bulunması

her zaman gıda zehirlenmesine neden olmayabilir; çünkü gıdada bulunan diğer mikroorganizmalarca bu mikroorganizmaların üremeleri inhibe olabilir ya da var olan izolatın enterotoksin üretme yeteneği olmayabilir. İntoksikasyonun oluşması için gerekli toksin besinden besine, kişiden kişiye değişir. Ayrıca enterotoksinler stafilokokkal gıda zehirlenmesinin yanında, septisemi gibi akut enfeksiyonlara da neden olur. *S. aureus* formları özellikle ekzotoksin ve agresinlerle hastalık yapmaktadır. Stafilokokal enterotoksinlerin molekül ağırlıkları düşüktür (26.000-34.000 Da), basit zincir şeklinde proteinlerdir [2, 4, 17].

Son zamanlarda Stafilokok enterotoksinlerin 7 antijenik tipi (SEA, SEB, SEC<sub>1</sub>, SEC<sub>2</sub>, SEC<sub>3</sub>, SED ve SEE) tanımlanmıştır. *S. aureus* uygun şartlar bulunduğu hem hızla çoğalır hem de izolata bağlı olarak bu toksinlerden birini veya birkaçını oluşturabilir [2-4, 7, 8, 14-16].

F toksini diğerlerinden şok sendrom denilen ciddi toksik rahatsızlıkla ayrılmakta ve F toksini Toksik Şok Sendromu Toksini olarak adlandırılmaktadır. [2, 31]. Esas gıda zehirlenmesi yapan A ve D tipi toksinlerdir. *S. aureus* tarafından oluşturulan enterotoksinler insan ve hayvanlarda farklıdır [2, 14, 15, 20, 29].

Enterotoksin, ısıya ve barsak enzimlerine dayanıklıdır. Kaynamaya 30 dakika dayanır. Gıdalarda ısı işlemi sebebiyle stafilokok izole etme şansı azdır. Ancak toksinin inaktive edilmemesi sebebiyle gıda zehirlenmeleri meydana gelebilir [1, 2, 4, 17].

Enterotoksin protein tabiatındadır. Barsak bölgesinde irritasyona neden olduğu gibi merkezi sinir sistemine de etki yapar. Enterotoksin üreten izolatların çoğu koagülaz (+) özellik gösterirler. Fakat koagülaz (+) stafilokokların hepsi enterotoksijen değildir. Stafilokok enterotoksininin etkisi şahıslara göre değişmektedir. Aynı miktarda toksin alan şahıslar arasında zehirlenme belirtileri göstermeyenler olabileceği gibi, çok hafif zehirlenenler veya şiddetli zehirlenenler de olabilir. Bebekler, yaşlılar ve hastalar gibi riskli gruplarda çok düşük kontaminasyon seviyelerinde de sağlık sorunları ortaya çıkabilmektedir. İnsanlar, kediler ve maymunlar stafilokok enterotoksinine karşı hassastırlar [4, 17].

## 1.9. Patojenite

*S. aureus* türü bakteriler insanlar için fırsatçı patojendir, tüm yaş gruplarında enfeksiyonlara neden olur ve her yerde bulunabilirler. Bakteri, sıcakkanlı hayvanların vücut yüzeylerinde geçiçi flora üyesi olarak bulunabilir. *S. aureus* hastane enfeksiyonlarının en önemli etkenlerindedir. Son yüz yılda cerrahi yara enfeksiyonlarının major etkeni olarak tanımlanmıştır. Esas olarak direkt temas ile bulaşır. Daha seyrek olarak ta hava yolu ile taşınan partiküllerle veya kuru ortamlarda bir süre canlı kalabildikleri için kontamine eşyalarla temas sonucu bulaşır. Ayrıca bakteri ile enfekte bir kişiden sağlık personelinin elleri veya giysileriyle diğerlerine aktarılmaktadır, bu nedenle belli servisler, ameliyathaneler ve gıda işletmeleri için özel bir tehlike arzederler [2, 4, 6-9, 11, 21, 38].

*S. aureus*'un yol açtığı enfeksiyonların büyük çoğunluğu, fronkül, sellülit, impetigo ve operasyon sonrası yara enfeksiyonları gibi cilt enfeksiyonlarıdır. Bu mikroorganizma, bakteriyemi, pnömoni, osteomyelit, akut endokardit, miyokardit, perikardit, serebrit, menenjit ve bir çok doku ve organda apse formasyonu gibi ciddi enfeksiyonlara yol açabilir. Özellikle enterotoksin ile besin zehirlenmesine ve yine ekzotoksin olan 'Toksik Şok Sendrom Toksin 1'(TSST 1) ile toksik şok sendromuna neden olabilir [4, 11, 21, 44, 45].

Yine gıda işiyle uğraşan ve 'Gıda Elleyicileri' olarak tanımlanan ve bu gruba mensup kişilerdeki (aşçı, çaycı, garson,fırıncı vb.) nazofaringeal ve özellikle nazal stafilokok taşıyıcılığı ile stafilokoksik besin zehirlenmesi arasında belirgin bir ilişki vardır [1].

Gıdaların aracı olduğu mikrobiyal kökenli hastalıklar gıda kaynaklı enfeksiyonlar ile gıda intoksikasyonları olmak üzere iki şekilde oluşmaktadır.

Gıda kaynaklı enfeksiyonlarda; hastalık etmeni olan patojen mikroorganizmalar gıdalar üzerinde çoğalmış olarak vücuda alınırlar. Bunlar barsak sisteminde tutunarak yayılır ve yangıya neden olurlar. Bazıları da vücuda alındıktan sonra barsak sisteminde oluşturdukları toksinler ile hastalığa sebep olurlar. Gıda kaynaklı mikrobiyal intoksikasyonlar; mikroorganizmaların gıdalar

üzerinde oluşturdukları toksinlerin vücuda alınması sonucu görülen toksik etkilerdir [29].

Mikroorganizmanın hastalığa ve zehirlenmeye yol açıp, açmayacağı mikroorganizmanın özelliğine, söz konusu gıdada beslenme ortamı bulabilmesine, mikroorganizmanın gıda içerisindeki miktarına, kişinin dayanıklılığına, beslenme alışkanlığına ve ortamın, nem, ısı, ışık, oksijen ve pH şartlarına bağlıdır.

Stafilokok zehirlenmelerinde hastalık belirtileri salya çıkarma ile başlar. Daha sonra bulantı, öğürme ve karın ağrısı görülür. Şiddetli zehirlenmelerde dışkı ve kusmukta kana rastlanabilir. Görülen diğer belirtiler; baş ağrısı, terleme, üşüme, kramplar, düşük nabız, halsizlik ve şok durumlarıdır. Vücut sıcaklığı genellikle düşüktür. Vücutta su kaybı oldukça fazladır. Zehirlenme belirtileri stafilokoklarla bulaşmış gıda maddelerinin yenmesinden 1-6 saat sonra genellikle 2-4 saat içinde görülmekte ve hasta 1-2 günde normale dönmektedir. Genellikle tam iyileşme görülür [2, 4, 6, 7, 11, 13, 16, 21, 30, 46].

### **1.9.1. Toksinlere bağlı olarak ortaya çıkan hastalıklar**

#### **1-Besin Zehirlenmesi;**

Uygun şartlar ve ısıda bekleyen *S. aureus* ile kontamine, bol karbonhidratlı besin maddelerinin yenmesiyle oluşur. Enterotoksinin alınmasından 1-6 saat sonra bulantı, kusma ve bazen de ishal başlar. Pişirme ile bakteriler ölse bile, ısıya dirençli enterotoksinin etkisi sürebilir [2, 4, 12, 13, 16, 17].

#### **2-Stafilokokal soyulmuş deri sendromu;**

En sık beş yaş altında saptanır. Yeni doğanlarda hastane salgınları şeklinde görülür. Bu yaş grubundaki Stafilokokal soyulmuş deri sendromuna Ritter hastalığı adı verilir.

Daha büyük çocuklarda ve erişkinlerde ise, kırmızı ve nemli görünümlü yerel büller ortaya çıkar. Bu sendrom Lyell hastalığı veya haşlanmış deri sendromu olarak bilinir.

Büyük çocuklarda ve erişkinlerde kızıl benzeri bir döküntü de ortaya çıkabilir.

3-Toksik şok sendromu; İlk olarak (vajinal tampon kullanan kadınlarda görülen ) 8-17 yaşlarındaki çocuklarda görülen, ve yüksek ateş, hipotansiyon, derin diyare, deride yaygın kırmızı döküntü, bilinç bulanıklığı ve böbrek yetmezliği gibi bulgularla seyrederek. Etiyolojisinde *S. aureus*'un ürettiği bir toksinin (enterotoksin F) rol oynadığı düşünülmektedir. Sıklıkla öldürücü seyreden bu hastalık, sentetik maddelerden yapılmış vajinal tamponların çok uzun süre kullanılmasıyla ilişkili bulunmuştur. *S. aureus* derinin doğal florasında bulunup, el teması ile yara pansumanı veya tampon kontamine olur. En sık görülen ölüm nedeni şoktur [2, 4, 11, 13, 21].

### 1.9.2. İnvazyon ve sistemik yayılım sonucu ortaya çıkan hastalıklar

#### 1-Dermal enfeksiyonlar;

Genellikle cilt bütünlüğünü bozan, büyük veya küçük travma ya da ekzema gibi cilt hastalıklarını teşkil ederler. Burun taşıyıcılarında sık olarak tekrarlayan enfeksiyonlara yol açarlar. İmpetigo, fronkül, karbonkül, sellülit, lenfanjit, lenfadenit, mastit ve yara enfeksiyonları [9, 11, 21, 47, 48].

#### 2-Kemik, kas ve eklem enfeksiyonları;

Travma ve yaralarla kemik ve eklem dokusuna ulaşır. Osteomyelit, septik artrit, bursit, pyomyozit.

#### 3-Stafilokok pnömonisi;

Stafilokokların solunum yolundan aspirasyonları ya da kan yolu ile akciğerlere yerleşmeleri suretiyle gelişir. Bazen akciğerlerde geniş apselerin oluşmasına bazen de stafilokokların diğer organlara yayılmasıyla seyrederek.

#### 4-Menenjit ve beyin absesi;

*S. aureus*'un etken olduğu menenjitler sıklıkla santral sinir sistemine tanısal amaçla yapılan bir girişim veya cerrahi işlem komplikasyonu olarak ortaya çıkar.

#### 5-Üriner sistem enfeksiyonları;

#### 6- Stafilokokal endokardit [4, 11, 21].

## 1. 10. İdentifikasyon

*S. aureus*'un identifikasyonunda koloni morfolojisi kesin ayırıcı tanı sağlamaz, bu nedenle stafilokokların hem cins hem de tür farklılıkları için diğer özelliklerinin de değerlendirilmesi gerekir. Şüpheli kolonilerden doğrulama testlerinde kullanılmak üzere nutrient broth besiyerine inokülasyon ve yatık nutrient agar besiyerine sürme yapılır. 35-37° C 'de 18-24 saat inkübe edilir. Seçilen tipik veya atipik kolonilerin Gr(+) koklar olup olmadığı belirlenmelidir. [4]. Genellikle koagülaz ve nükleaz testleri kullanılmaktadır. Lesitinaz aktivitesi de kullanılan diğer testlerden biridir. *S. aureus* iki tip koagülaz enzimi içermektedir. Bunların biri serbest, diğeri ise bağlı koagülazdır. Koagülaz testi için ideal olarak heart infusion broth kültürü kullanılmaktadır [16, 19].

Gram pozitif kokların ayırımında katalaz pozitif organizmalar için, ileri aşama olarak koagülaz bakılır. İki farklı koagülaz testi yapılabilir.

- 1.Serbest koagülaz için tüp testi,
- 2.Bağlı koagülaz için slide test veya clumping faktör,

Son yıllarda *S. aureus*'u tanımlamak için ticari koagülaz test kitleri yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu amaçla çeşitli plazmalardan yararlanılmaktadır. EDTA'lı tavşan plazması da en çok tercih edilen ticari koagülaz test kitlerinden birisidir. Sitrata kullanan organizmalar, sitratı tüketerek pıhtı oluşturabildiklerinden EDTA'lı plazmalar daha üstündür. Lam testi *S. aureus* identifikasyonunda hızlı tarama testidir. Lam testi için alternatif medotlar, ticari hemaglutinasyon lam testleri ve hem clumping faktör hem de protein A'yı belirleyebilen ticari latex aglutinasyon testleridir [2, 18, 30, 31, 36].

Koagülaz ve DNaz testi *S. aureus* izolatlarının patojenliğini belirlemede önemli bir indikatördür. Deoksiribonükleaz pozitif mikroorganizmaların tesbiti için DNaz testinden yararlanır. Yine mannitolden asit oluşumu da *S. aureus* için ayırt edici bir özelliktir. Bu amaçla mannitol salt agar besiyerine sürme yapılır, sarı rengin görülmesi pozitif olarak kabul edilir [2, 19, 23, 39, 49, 50].

*S. aureus* suşları genellikle fosfolipaz C; lesitinaz aktivitesi gösterir. Bu özelliği nedeniyle *S. aureus* 'un yumurta sarısının emülsiyon halde katıldığı besiyerlerinde tanımlanması kolaylaşmaktadır. Ürettikleri lesitinaz, besiyerinde

yumurta sarısı emülsiyonunda bulunan lesitini hidrolize ederek koloninin etrafında berrak bir zonun oluşmasına neden olur [2, 18, 31].

Ancak böyle besiyerlerinde zonsuz atipik koloni oluşturan suşlarının da geliştiği belirlenmiştir [2].

*S. aureus* glukozu anaerobik şartlarda kullanarak, glukoz içeren karbonhidrat fermentasyon besiyerinde sarı renk oluşturur [18,19].

Son yıllarda kullanılmaya başlanılan ELISA testleri lateks aglutinasyon testlerinden daha duyarlıdır [13].

### 1. 11. *S. aureus* İzolatlarında Tiplendirme Çalışmaları

İdentifikasyon; ‘tanıma’ anlamına gelir. Bu sayede izole edilmiş bir mikroorganizmanın cins ve türünün (ya da serotipinin) belirlenmesi anlaşılır. *S. aureus* identifikasyonunda basit biyokimyasal testlerin yanında immonolojik, genetik, immunoenzimatik vb. pek çok gelişmiş yöntemler bulunmaktadır. İdentifikasyonda genel olarak üç basamak vardır. Bunlar sırasıyla morfolojik ve fizyolojik özelliklerin belirlenmesi, biyokimyasal testler ve gerekli ise serolojik veya toksin belirleme testleridir. İdentifikasyonda tüm aşamalar doğru bir şekilde yapıldıktan sonra bakterinin cins ve türü belirlenir. Elde edilen bulgular ‘Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology’ gibi temel kaynaklarda verilen sonuçlarla karşılaştırılır ve buna göre sonuç elde edilir.

Tiplendirme; ise tür altı seviyesinde yapılan ve nomenclatüre yani isimlendirmede etkisi olmayan daha ileri seviyede identifikasyon işlemidir. Fenotipik kriterlere (serolojik özellikler, fajlara hassasiyet ve protein özellikleri vb.) dayalı testler yanında genotipik kriterlere (DNA ve RNA özellikleri) dayalı testler de vardır [51]. Ancak fenotipik özelliklerin her zaman genotipik özellikleri yansıtmadığı unutulmamalıdır.

Vitek Sistem (Auto Microbic Sistem) ile identifikasyon [52] Faj tiplendirmesi [5, 6, 28, 51, 53-55 ], kapsüler sero tiplendirme [6, 22, 55] antibiyogram ve biyotiplendirme [5, 6, 9, 41, 56], MIS (Microbiyal İdentifikasyon Sistem) ile hücresel yağ asitlerinin analizi [57, 58], toplam hücre proteinlerinin analizi [6, 59-61], ribotiplendirme [5, 6, 62], multilokus enzim elektroforezi [5, 6,

59, 63], plasmid analizi [6, 59], kromozom DNA'nın RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) ile analizi [5, 6], PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis) ile kromozomal DNA'nın *SmaI* restriksiyon enzim fragment paternleri [5, 6], PCR (Polymerase Chain Reaction) [24, 29, 37, 64] Ribotyping-PCR [62] arbitrarily-primed PCR [14] gibi yöntemler de *S. aureus* için bu güne dek uygulanmış çeşitli fenotipik ve genotipik tiplendirme yöntemleridir.

Otomatik, bilgisayarlı bakteriyolojik sistem (Vitek Sistem, Biomeriux sa Inc. France) ile bakterilerin daha hızlı bir şekilde identifikasyonu gerçekleştirilebilmektedir. Gram pozitif bakterilerin otomatik identifikasyonu için Ruoff ve ark. [52]; yaptıkları bir çalışmada; Vitek Sistem ile elde edilen sonuçlar ile geleneksel metotlar kullanılarak elde edilen sonuçlar birbiriyle uyumlu bulunmuştur. Koagülaz reaksiyonların temel alındığı GPI kart sistemiyle identifikasyonda *S. warneri*'nin yedi izolatu Stafilocok türleri olarak idendifiye edilirken; geleneksel metotlar ile *S. cochni* olarak idendifiye edilen izolatların altısından üçü *S. saprophyticus*, biri *S. aureus* ya da *S. simulans*, biri *S. aureus* ya da *S. haemolyticus*, diğeri de *Staphylococcus sp.* olarak identifiye edilmiştir. *S. capitis*'in yirmi dört izolatatının sekizi *S. hominis*, yedisi *Staphylococcus sp.* beşi *S. aureus* ya da *S. simulans* ikisi *S. aureus* ya da *S. haemolyticus* biri *Corynebacterium xerosis*, biri de hiç identifiye edilememiştir [52].

Uygun antibiyotikler kullanılarak yapılan antibiyogram testleriyle bakteriler gruplandırılabilir. Bu testler sonucunda bakterilerin ortak direnç paternleri oluşturulmaktadır [6, 9, 35, 40-42, 47, 49, 56, 65-68].

Stafilocoklarda metisilin direnci son yıllarda giderek artmaktadır [9, 34, 39, 41, 42, 56, 67]. MRSA infeksiyonlarının yayılışı hem coğrafik bölgeler arasında hem de aynı bölgede yer alan sağlık kuruluşları arasında değişkenlik göstermektedir [54].

Amerika'da 1944'de penisilinin uygulandığı *S. aureus* izolatlarının %94'ün üzerindeki de duyarlılık saptanırken, 1950'lere kadar yarısı dirençli hale gelmiştir. 1960'lardan sonra bir çok antibiyotiğe ve metisiline dirençlilik bildirilmiştir [41].

Japonya'da metisilin dirençli *S. aureus*'ların nadifloxasin ve diğeri yedi grup içeren fluoroquinolon (norfloxacin, ofloxacin, enoxacin, ciprofloxacin,



lomefloxacin, tosufloxacin ve sparfloxacin)'lara karşı duyarlılıkları araştırılmıştır.1991 ve1994 yılları arasında 114 deri enfeksiyonundan elde edilen izolatlardan hiç biri minimum inhibitör konsantrasyonlarda nadifloxasin'e dirençli bulunamazken diğer yedi grup içeren fluoroquinolonların tümüne karşı bazılarının dirençli olduğu bulunmuştur [47].

2000 yılında Brezilya'da insan sütünde metisilin direncinin araştırıldığı bir çalışmada analize alınan 500 örneğin 57'si metisilin dirençli olarak bulunmuştur [23].

Brezilya'da yapılan başka bir çalışmada araştırmacılar gıda elleyicilerinin burun mukozalarında kolonize olan birden çok sayıda *S. aureus* izolatlarını morfolojik yöntemler, biyokimyasal yöntemler, antibiyotik duyarlılık testleri ve PFGE yöntemlerini kullanarak tiplendirmişlerdir. Personelin %30'unun burun boşluğunda *S. aureus* taşıyıcılığı bulmuşlardır. İzolatlar penisilin'e karşı %70, Amoksisilin-klavulanik Asit'e karşı ise %45 oranında dirençli bulunurken, vankomisin, rifampisin, sephalothin, oksasilin, kloromfenikol, gentamisin, oflaksasin antibiyotiklerine karşı ise duyarlı bulunmuştur [69].

Ülkemizde yapılan bir çalışmada *S. aureus* suşlarında metisilin direnç oranı % 49 olarak belirlenirken, siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin ve moksifloksasin duyarlılıkları sırasıyla % 52, % 55, % 56 ve % 60 olarak bulunmuştur. Ayrıca çalışılan ajanların etkinliklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir [70].

Ülkemizde yapılan başka bir çalışmada hastaneden izole edilen nozokomiyal izolatların %20'sini *S. aureus*'un oluşturduğu bulunmuş, bunlar arasında MRSA olanlarının oranının %50 olduğu bildirilmiştir. Ortak antibiyotik duyarlılıklara sahip MRSA izolatlarının tiplendirilmesinde SDS-PAGE (Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez) ve N-PAGE (Nativ poliakrilamid jel elektroforez) kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre MRSA izolatlarının tümünün aynı klonal grup orjinli olabileceği düşünülmüş ve önceki çalışmalar ile uyum gösterdiği bulunmuştur [45].

Almanya'da 2006 yılında hemşirelerde *S. aureus* nazal taşıyıcılığı araştırılmış ve bulunan izolatların metisiline dirençli olmadığı belirlenmiştir [71].

İtalya’da marketlerde satılan gıda ürünlerinden elde edilen Koagülaz pozitif *S. aureus* ve Stafilokokların identifikasyonunda araştırmacılar API-Staph system ile izolatları idendifiye etmişlerdir. Aynı araştırmacılar SET-RPLA Stafilokokal Enterotoksin test kitiyle, gıda örneklerinden kültürleri filtre ederek, A, B, C ve D stafilokok enterotoksinlerini (SEA, SEB, SEC ve SED) belirlemişlerdir. Toplam 298 *S. aureus* izolatın bir yada birden çok enterotoksin ürettiğini (%55.5), (%33.9)’u sadece SEC, (%26.5)’i sadece SEA, (%20.5)’nin SEA+SED, (%13,4)’ü SED, (%2,7)’sinin SEB (%1,7)’sinin SEA+SEB, (%0,7)’sinin SEC+SED, (%0,3)’ünün ise SEA+SEC ve SEB+SEC enterotosinlerini birlikte ürettiklerini bulmuşlardır. Araştırmanın sonucunda bu organizmaların çok yaygın olduklarını ve tüketici sağlığı açısından potansiyel bir risk teşkil ettiğini bulmuşlardır [15].

Son yıllarda mikrobiyal taksonomistler türleri tanımlamak ve farklı organizmalar arasındaki ilişkileri ortaya çıkarmak için çeşitli analiz yöntemlerinin yanında protein profillerinin elde edilmesi gibi yöntemleri de sıklıkla kullanmaya başlamışlardır. Proteinler tüm canlılarda yapısal ve metabolik fonksiyonun temel ögesidirler. Proteinlerle yapılan identifikasyon ve tiplendirme sistemlerinde, proteinlerin sayısı ve çeşitliliği protein ve polipeptidlerin karşılaştırmalı analizlerine dayanır. Bu yöntem bakterilerin identifikasyonunda ve bakteriyel tür içerisinde subtiplendirme çalışmalarında başarıyla kullanılmaktadır. Genellikle aynı tür tarafından üretilen protein profilleri çok benzerdir, fakat türler arasında önemli ölçüde farklılıklar vardır. Bir tür içerisinde izolatlar arasındaki en küçük farklılıklar subtiplendirme sisteminin temelini oluşturmaktadır. Bakteriler tarafından üretilen proteinlerin sayısı ve çeşitliliği protein ve polipeptid karşılaştırmalı analizine dayanan identifikasyon ve tiplendirilme sistemleri geliştirilmiştir.

Protein profillerinin elde edilmesinde öncelikle bir takım işlemlerle mikrobiyal protein elde edilmekte, daha sonra elde edilen protein örnekleri poliakrilamid veya nişasta gibi jel matriksinde elektroforeze tabii tutulmaktadır. Elektroforez sisteminde proteinler büyüklük, elektrik yükü veya izoelektrik noktaları gibi fizikokimyasal özelliklerine göre ayrılabilirler. Kullanılan teknikler içinde en yaygın olanı SDS-PAGE (Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel

elektroforezi) tekniğidir. Bu teknikte proteinler ısı, deterjan ve indirgeme ajanları ile polipeptit üniteleri oluşturulmak üzere denatüre edilip, elektroforezde molekül ağırlıklarına göre ayrılmaktadır.

Toplam hücre proteinlerinin elektroforezi mikroorganizmaların identifikasyon ve tiplendirme sistemlerinde son yıllarda sıklıkla kullanılmaktadır. Bu teknik ile hem farklı mikroorganizmalar arasında karşılaştırmalı çalışmalar yapılabilen hem de akrabalık ilişkileri belirlenebilmektedir [72].

Genetik olarak aynı olan mikroorganizmaların hücrelerindeki yağ asitlerinin sayısı, çeşitliliği ve % olarak miktarları (yağ asitleri profili) aynıdır ve çere şartları aynı olduğu sürece değişmez. Yağ asitlerinin analizleri sonucunda farklı profillerin oluşması mikroorganizmalar arasındaki genetik akrabalıkların göstergesidir [58, 73]. Kültür ortamında çoğalabilen mikroorganizmaların gerek tanısı ve gerekse onların taksonomik sınıflarının belirlenmesi için yağ asitleri profillerini kullanılabileceği bir çok bilimsel çalışma ile ispat edilmiştir. İlk defa 1985 yılında, ABD’de MIDI, inc. firması tarafından mikroorganizmaları yağ asitlerine göre tanımlayan bir sistem geliştirilmiştir. Bu sistem üç ana parçadan ibarettir;

- 1-) Gaz Kromatografisi,
- 2-) Kromatografiyi besleyen gaz tankları (hidrojen, azot ve hava),
- 3-) Bilgisayar Sistemi (Sherlock system software, library generation software, bakteri ve funguslar için hazırlanmış paket kütüphaneler). Her bir mikroorganizmadan saf olarak izole edilen yağ asidi metil esterlerin profilleri MIS cihazında gaz kromatografisi belirlenmektedir. Test edilen gaz kromatografik çıktıları (yağ asitleri profilleri) sistemin veri tabanındaki bilinen mikroorganizmaların yağ-asit profilleri ile karşılaştırılarak tanısı yapılmaktadır [58].

Stoakes ve ark. [57]; Gaz-Sıvı Kromatografisi ‘ni kullanarak, Microbial Identification System (MIS) ile Stafilokokların identifikasyonu için hücresel yağ asitlerini belirlemişlerdir. İdentifikasyon için yağ asitleri analiz sonuçları ile geleneksel yöntemlerle gerçekleştirilen analiz sonuçlarını karşılaştırmışlardır. Analize aldıkları 470 izolatın 430’unun analiz sonuçları her iki yöntemle de uyumlu bulunurken; 45 izolat yanlış identifiye edilmiştir. 12 izolatın ise bu

sistemde karşılığı bulunamamıştır. *S. hominis* ve *S. saprophyticus* türleri % 52.6 oranında yanlış identifiye edilmiş ve 78 izolat yeniden test edilmiştir. Sonuç olarak 73'ünün isimlendirilmesi değişmezken, 5'inin isimlendirilmesinin değiştiği bulmuşlardır [57].

Çok büyük DNA moleküllerini (örneğin, maya kromozomlarının 200-300 kb boyutundaki DNA'ları) ayırabilme gücüne sahip Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) yöntemi de *S. aureus* tiplendirilmesinde kullanılmaktadır. Bu yöntemde DNA molekülleri belirli zaman aralıklarında birbirlerine farklı açıda iki elektriksel alan etkisinde bırakılır. Uygulanan elektrik alanı sabit değildir, ayırma sırasında yön ve şiddet tekrarlanan biçimde değiştirilmektedir [74].

Rodgers ve ark. [75]; Kuzey İrlanda'da yaptıkları çalışmada tavuk üretme çiftliğinde çalışan personelin ve bu işle uğraşan çiftçi ailelerinin *S. aureus* burun ve el taşıyıcılığını biyotiplendirme, protein A analizi ve PFGE yöntemleri ile araştırmışlar ve nazal taşıyıcılığın el taşıyıcılığından daha yaygın olduğunu bulmuşlardır. Çiftlikteki tavuklardan ve çalışan personelden elde edilen izolatların protein A ve biyotiplendirme yöntemleri ile analizleri sonucunda izolatlar arasında benzerliğe rastlamamışlardır. Buna karşın çiftçi ailelerinden izole edilen izolat ile hastalıklı karkastan elde edilen izolatları aynı grupta gruplandırmışlardır. PFGE ile tiplendirmede çiftçi ailesinden elde edilen izolat farklı bulunmuş ve bunu da Kuzey İrlanda'da hastalık yapan baskın *S. aureus* izolatıyla birlikte değerlendirmişlerdir. Bakterinin hastalıklı karkaslardan çiftçi ailelerinin el taşıyıcılığı ile yayıldığını bulmuşlardır.

Bir başka çalışmada Tenover ve ark. [5]; geleneksel ve moleküler medotlarla *S. aureus*'u tiplendirmiş ve bu amaçla kullanılan 12 tip tiplendirme yönteminin hiçbirinin tek başına diğerlerinden üstün olmadığını, biyotiplendirme yönteminin ise epidemik suşların belirlenmesinde etkisiz olduğunu belirtmişlerdir.

Shimizu ve ark. [76]; Japonya'da meydana gelen gıda zehirlenmelerinden elde ettikleri Koagülaz tipVII *S. aureus* izolatlarını poliakrilamid jel elektroforez ile analiz etmişler ve mikroorganizmayı protein profillerine göre sınıflandırmışlardır.

*S. aureus*'un moleküler tiplendirilmesinde Koagülaz gen restriksiyon profil analiz teknikleri ve pulsed field jel elektroforez teknikleri gıda

örneklerinden elde edilen izolatlar üzerinde araştırılmıştır. Moleküler tiplendirmede pulsed field jel elektroforez yönteminin Koagülaz gen restriksiyon profil analiz yönteminden daha etkili bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır [46].

16S ve 23S rRNA'yı kodlayan genleri kısmen ya da tamamen içeren genomik DNA restriksiyon fragmentlerin analizi olan Ribotiplendirme yöntemiyle *EcoRI* restriksiyon enzimiyle kesilen kromozomal DNA fragmentleri boyutlarına göre ayrılıp, işaretli rRNA operon problemleri ile hibridize olmaktadır. *S. aureus*'un bilgisayar ortamında kayıtlı referans marker fragmenti izolattan elde edilen fragment ile karşılaştırılarak izolatın ribotipi belirlenebilmektedir.

İtalya'da ortopedik Stafilocok izolatlarının genetik karakterizasyonu ve identifikasyonu için cerrahi hasarlardan elde edilen 64 koagülaz negatif Stafilocok ve 38 *S. aureus* izolatları otomatik olarak *EcoRI* restriksiyon enzimiyle tiplendirilmiş ve sonuçlar API Staph sistem ile doğrulanmıştır. Her iki yöntemin de güçlü bir ayırım gücüne sahip olduğu belirtilmiştir [77].

## **2. MATERYAL VE YÖNTEM**

### **2.1. Materyal**

#### **2.1.1. Örneklerin alınması**

##### **2.1.1.1. Gıda örnekleri**

Kütahya merkez ve bağlı köylerden çeşitli gıda örnekleri (süt, süt ürünleri, sütle yapılan gıdalar, et ve et ürünleri) ve Kütahya Halk Sağlığı Laboratuvarı'na analiz edilmek üzere getirilen çeşitli gıda örnekleri Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü'nün yayınladığı 'Gıda maddeleri Satış ve Toplu Tüketim Yerlerinden Numune Alma Rehberi' ne göre [78] en geç 8 saat içerisinde laboratuvarda olacak şekilde (sütlerde 4 saat) 2<sup>0</sup> C ve 4<sup>0</sup> C sıcaklık sağlayacak özel steril kaplarda toplanmıştır.

##### **2.1.1.2. Gıda elleycileri ile alet-ekipman**

Bu gıda örneklerinin işlendiği yerlerde gıdalarla direkt temas eden kişilerin boğaz-burun kültürlerinden, ellerinden ve de kullanılan alet ve ekipmandan alınan svap örnekleri laboratuvara getirilerek incelenmiştir [67, 79].

##### **2.1.1.3. Klinik materyaller**

Kütahya Halk Sağlığı Laboratuvarı'na analiz edilmek üzere getirilen çeşitli gıda örnekleri ile Kütahya Halk Sağlığı Laboratuvarı'na hasta olarak gelen ve farklı kültürler istenen hastalardan izole edilen klinik izolatlar da çalışmaya dahil edilmiştir.

### 2.1.2. Referans *S. aureus* izolatları

Çalışmamızda referans olarak kullandığımız NRRL B 767 *S. aureus* izolatı; United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service'den temin edilmiştir. Metisiline duyarlı (MSSA-6) ve Metisiline dirençli (MRSA-1) iki adet *S. aureus* izolatı ise Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji A.B.D'ndan sağlanmıştır.

### 2.1.3. Kullanılan besiyerleri

#### 2.1.3.1. ASS-agar (D.S.T. agar) (Antibiotic sulfonamide sensitivity-test agar for microbiology)

D.S.T.agar	40 gr
Distile su	1000 ml
pH	7,4

40 gr D.S.T.agar (Merck) tartılmış, distile suda hacim 1 lt'ye tamamlanmış ve eritilmiştir. Otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edildikten sonra besiyeri 50 °C'ye soğutulmuş, % 5-10 olacak şekilde steril kan ilave edilerek karıştırılmış ve petri kutularına dökülerek, 4 °C'de saklanmıştır.

#### 2.1.3.2. Mueller Hinton agar (MHA)

Mueller Hinton agar	38 gr
Distile su	1000 ml
pH	7,4

38 gr Mueller Hinton agar (Merck) distile suda süspanse edilerek, hacim 1 lt'ye tamamlanmış ve eritilmiştir. Besiyeri otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiş ve 50 °C'ye soğutulduktan sonra petri kutularına dökülerek, 4 °C'de saklanmıştır.

### 2.1.3.3. Yatık nutrient agar (YNA)

Nutrient agar	23 gr
Distile su	1000 ml
pH	6,8

23 gr nutrient agar (Merck) distile suda süspanse edilerek, hacim 1 lt'ye tamamlanmış ve eritilmiştir. Küçük tüplere 2'şer ml dağıtıldıktan sonra otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiş, sterilizasyondan sonra tüpler bir pipet üzerine yatık vaziyette konularak, besiyeri katılaştıktan sonra 4 °C'de saklanmıştır.

### 2.1.3.4. Nutrient agar (NA)

Nutrient agar	23 gr
Distile su	1000 ml
pH	6,8

23 gr Nutrient agar (Merck) distile suda süspanse edilerek, hacim 1 lt'ye tamamlanmış ve eritilmiştir. Otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiş, besiyeri 50 °C'ye soğutulduktan sonra petri kutularına dökülerek, 4 °C'de saklanmıştır.

### 2.1.3.5. Nutrient broth (NB)

Nutrient broth	8 gr
Distile su	1000 ml
pH	6,8

8 gr Nutrient broth (Merck) besiyeri 1 lt distile suda süspanse edilmiş ve tüplere 5'şer ml dağıtıldıktan sonra otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir.



### 2.1.3.6. Glukoz'un anaerobik fermentasyon besiyeri (GAFB)

Tripton	10 gr
Yeast ekstrakt	1 gr
Glukoz	10 gr
Brom timol mavisi	0.04 gr
Agar	2.2 gr
Distile su	1000 ml
pH	7.0

Tüm maddeler distile suda eritilmiş ve tüplere dağıtıldıktan sonra otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Sterilizasyondan sonra steril parafin ile besiyeri üzeri doldurulmuştur [45].

### 2.1.3.7. Mannitol'un anaerobik fermentasyon besiyeri (MAFB)

Tripton	10 gr
Yeast ekstrakt	1 gr
Mannitol	10 gr
Brom timol mavisi	0.04 gr
Distile su	1000 ml
pH	7.0

Tüm maddeler distile suda eritilmiş ve tüplere dağıtıldıktan sonra otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Sterilizasyondan sonra steril parafin ile besiyeri üzeri doldurulmuştur [45].

### 2.1.3.8. Mannitol tuzlu agar (MSA)

Mannitol tuzlu agar	111 gr
Distile su	1000 ml
pH	7.4

Mannitol tuzlu agar (GBL) besiyeri distile suda eritilmiş, otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. Besiyeri 50 °C’ye soğutulduktan sonra petri kutularına dökülerek, 4 °C’de saklanmıştır.

#### **2.1.3.9. Beyin kalp infüzyon (BHI) agar**

Beyin kalp infüzyon agar	52 gr
Distile su	1000 ml
pH	7.4

Beyin kalp infüzyon agar (GBL) besiyeri distile suda eritilmiş, otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. 50 °C’ye soğutulduktan sonra petri kutularına dökülmüş ve 4 °C’de saklanmıştır.

#### **2.1.3.10. Beyin kalp infüzyon (BHI) broth**

Beyin kalp infüzyon broth	37 gr
Distile su	1000 ml
pH	7.4

Beyin kalp infüzyon broth (GBL) besiyeri distile suda eritilmiş, tüplere veya erlenlere dağıtıldıktan sonra otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir.

#### **2.1.3.11. Triptik soy agar (TSA)**

Triptik soy agar	40 gr
Distile su	1000 ml
pH	7.3

Triptik soy agar (Merck) besiyeri 40 gr tartılarak 1lt suda eritilmiş, otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. Besiyeri 50 °C’ye soğutulduktan sonra petri kutularına dökülmüş ve 4 °C’de saklanmıştır.

### 2.1.3.12. Triptik soy broth(TSB)

Triptik soy broth	13 gr
Distile su	1000 ml
pH	7.3

Triptik soy broth (TSB) (Merck) besiyeri distile suda eritilmiş, tüplere dağıtıldıktan sonra otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir.

### 2.1.3.13. Deoksiribonükleaz (DNaz) agar

DNaz agar	39 gr
Distile su	1000 ml
pH	7.3

39 gr Deoksiribonükleaz agar (Merck) besiyeri 1lt suda eritilmiş, otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. Besiyeri 50 °C’ye soğutulduktan sonra petri kutularına dökülerek, 4 °C’de saklanmıştır.

### 2.1.3.14. Üre agar besiyeri (UAB)

Üre	21gr
Distile su	1000 ml
pH	6.8

Üre agar besiyeri (Oxoid) distile suda süspanse edilmiş, küçük tüplere 2’şer ml dağıtıldıktan sonra otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. Sterilizasyondan sonra tüpler bir pipet üzerine yatık vaziyette konmuş ve besiyeri katılaştıktan sonra 4 °C’de saklanmıştır.

### 2.1.3.15. Nutrient jelatin besiyeri (NJB)

Nutrient jelatin	128 gr
------------------	--------

Distile su	1000 ml
pH	6.8

Nutrient jelatin besiyeri (Oxoid) besiyeri distile suda süspanse edilmiş, küçük tüplere 2'şer ml dağıtıldıktan sonra otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Sterilizasyondan sonra tüpler bir pipet üzerine yatık vaziyette konmuş ve besiyeri katılaştıktan sonra 4 °C'de saklanmıştır.

#### **2.1.3.16. Fermentasyon besiyeri (FB)**

Trypton	10 gr
Yeast ekstrakt	1 gr
Brom timol mavisi	0.04 gr
Agar	15 gr
Distile su	1000 ml
pH	7.0

Besiyeri distile suda süspanse edilerek, otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. 50°C'ye soğutulduktan sonra %0.5- %1 olacak şekilde filtrasyonla steril edilen karbonhidratlar ilave edilerek steril petri kutularına dökülmüştür [45].

#### **2.1.3.17. Baird- Parker agar (PBA)**

Baird Parker agar	63 gr
Distile su	950 ml
pH	6.9

Baird- Parker agar (GBL)Besiyeri distile suda süspanse edilerek, otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. 50°C'ye soğutulduktan sonra üzerine 50 ml Egg Yolk Tellurit (GBL-1043) ilave edilerek, petri kutularına dökülmüş ve besiyeri katılaştıktan sonra 4 °C'de saklanmıştır.

#### **2.1.4. Kullanılan antibiyotik diskleri**

1. Mupirocin (MUP 200 µg Oxoid),
2. Clindamycin (DA 2 µg Oxoid),
3. Fusidic Acid (FA 10 Mcg Bioanalyse),
4. Trimethoprim-SMZ (SXT 25 µg Oxoid),
5. Vankomisin (VA 30 Mcg Bioanalyse),
6. Teicoplanin (TEC 30 Mcg Bioanalyse),
7. Penicilin G (P 10 Mcg Bioanalyse),
8. Oksasilin (OX 1 Mcg Bioanalyse)
9. Eritromycin (15 Mcg Bioanalyse)

#### **2.1.5. Enterotoksin kiti**

SET-RPLA; Staphylococcal Enterotoxin Test Kit (TD900, Oxoid ) (Oxoid Limited Wade Road, Basingstoke Hampshire RG24 8PW, England) kiti aşağıdaki enterotoksinleri içermektedir: Enterotoksin A (TD906), Enterotoksin B (TD907), Enterotoksin C (TD908) ve Enterotoksin D (TD909).

#### **2.1.6. Boyalar ve diğer solusyonlar**

##### **2.1.6.1. GBL egg yolk tellurit solusyonu**

Egg yolk tellurit solusyonu: 50ml  
(Gül Biyoloji Lab. 1043-50ml)

##### **2.1.6.2. Kristal viyole solusyonu**

Kristal viyole 2 g  
Etil alkol 20 ml

Amonyum oxalat 0.8 gr

### 2.1.6.3. Lugol solusyonu

İyot 1g  
Potasyum iyodür 2 gr  
Distile su 300 ml'ye tamamlanmıştır.

### 2.1.6.4. HCl

1NHCl asit DNase testinde kullanılmak üzere hazırlanmıştır.

### 2.1.6.5. Safranin solusyonu

Safranin 0.25 g  
Etil alkol 10 ml  
Distile su 90 ml

### 2.1.7. Poliakrilamid jel elektroforezde kullanılan tampon ve çözeltiler

#### 2.1.7.1. Tris citrate

Tris (Sigma T 8404) 12,1 gr  
Sitrik asit 6,6 gr  
Distile su 1000 ml

pH'sı 7,0'a ayarlanarak otoklavda steril edilmiş ve +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

**2.1.7.2. %30 Acrylamide karışımı**

Acrylamide %29 (Sigma A 3553)

N,N<sup>1</sup>-metilen bisacrylamide %1 (Sigma M 7279)

100 ml ye deiyonize sıcak su ile tamamlanarak kullanılmıştır.

**2.1.7.3. 1,5 M Tris**

Tris (Sigma T 8404) 18,15 gr

Distile su 100 ml

pH'sı 8,8'a ayarlanarak otoklavda steril edilmiştir.

**2.1.7.4. 1 M Tris**

Tris (Sigma T 8404) 12,1 gr

Distile su 100 ml

pH'sı 6,8'a ayarlanarak otoklavda steril edilmiştir.

**2.1.7.5. %10 SDS**

SDS (Sigma L 4509) 10 gr

100 ml distile su ile tamamlanarak 121 °C 15 dakika steril edilmiştir.

**2.1.7.6. %10 APS**

Amanyumpersülfat (Sigma A 3678) 1 gr

10 ml deiyonize suda Amanyumpersülfat çözdürülerek +4°C'de muhafaza edilmiştir.

### 2.1.7.7. %10'luk ayırma jeli (10 ml)

Distile su	4 ml
%30 Acrylamide karışımı ( 2.1.7.2)	3,3 ml
1,5 M Tris (2.1.7.3)	2,5 ml
% 10 SDS ( 2.1.7.5)	0,1 ml
% 10 AMPS ( 2.1.7.6)	0,1 ml
TEMED (Sigma T 9281)	0,004 ml

Tüm malzemeler sıra ile steril uçlar aracılığı ile temiz bir şişeye aktarılarak elektroforez aygıtına boşaltılmıştır.

### 2.1.7.8. %5'lik yükleme jeli (3ml)

Distile su	2,1 ml
%30 Acrylamide karışımı (2.1.7.2)	0,5 ml
1 M Tris(2.1.7.4)	0,38 ml
% 10 SDS ( 2.1.7.5)	0,03 ml
% 10 AMPS( 2.1.7.6)	0,03 ml
TEMED (Sigma A 9281)	0,004 ml

Tüm malzemeler sıra ile steril uçlar aracılığı ile temiz bir şişeye aktarılarak elektroforez aygıtına boşaltılmıştır.

### 2.1.7.9. 2x SDS jel yükleme tamponu

Tris HCl (Sigma T 8529)	100 mM
Dithiothreitol (Sigma D 9163)	200 mM
SDS (Sigma L 4509)	%4
Bromophenol blue(Sigma B 8026)	%2
Gliserol	%20

Yukarıdaki maddeler karıştırılarak +4 °C'de muhafaza edilmiştir.



**2.1.7.10. 5x yürütme tamponu**

Tris (Sigma T 8404)	15,1 gr
Glisin (Sigma G 8898)	94 gr
Deiyonize su	900 ml
% 10 SDS (1.11.2.26)	50 ml

Yukarıdaki maddeler karıştırılarak +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

**2.1.7.11. Coomasie brillant blue (Jel Boyası)**

Coomasie brillant blue (Sigma B 8647)	0,25 gr
Metanol	45 ml
Distile su	45 ml
Glacial asetik asit	10 ml

Hazırlanan solusyon filtre kâğıdından süzülerek kullanılmıştır.

**2.1.7.12. Yıkama tamponu**

Metanol	30 ml
Distile su	60 ml
Asetik asit	10 ml

Yukarıdaki maddeler karıştırılarak solüsyon elde edilmiştir.

**2.1.7.13. Jel koruma solüsyonu**

Distile su	860 ml
Glacial asetik asit	140 ml

## 2.1.8. Hücresel yağ asitlerinin analizinde kullanılan tampon ve çözeltiler

### 2.1.8.1. Çözelti 1 (hücre parçalayıcı)

Sodyum hidroksit(ACS grade)	45 gr
Metil alkol (HPLC grade)	150 ml
Saf su	150 ml

Önce metil alkol ve su, 1 lt'lik renkli çözelti şişesine ilave edildi daha sonra katı formdaki Sodyum hidroksit eklenip iyice çözülünceye kadar karıştırılmıştır.

### 2.1.8.2. Çözelti 2 (Metilleştirme)

Hidroklorik asit(6.00N)	325 ml
Metil alkol (HPLC grade)	275 ml

### 2.1.8.3. Çözelti 3 (Saflaştırma)

Hekzan (HPLC grade)	200ml
Metil-tert butil eter ( MTBE, HPLC grade)	200ml

MTBE hekzan üzerine ilave edilerek karıştırılmıştır.

### 2.1.8.4. Çözelti 4 (Bazik yıkama)

Sodyum hidroksit(ACS grade)	10.8 gr
Saf su	900 ml

Katı formdaki Sodyum hidroksit su içerisinde iyice çözülünceye kadar karıştırılmıştır.

### **2.1.8.5. İlave çözeltiler**

40 gr NaCl alınıp 100 ml su içerisinde iyice çözülünceye kadar karıştırılmıştır.

## **2.2. Yöntem**

### **2.2.1. İzolasyon**

İzolasyon; gıdalar, gıda elleçicileri ile alet-ekipman ve klinik örneklerden izolasyon şeklinde gerçekleştirilmiştir.

#### **2.2.1.1. Gıda örneklerinin incelenmesi**

Süt ve süt ürünleri Kütahya merkez ve bağlı köyler ile mandıra, pastaneler, semt pazarlarından toplanmıştır. Et ve et ürünleri için il merkezindeki kasap ve marketlerdeki et ve et ürünlerinden ( beyaz et ve beyaz et ürünleri de dahil) ve ayrıca Kütahya Halk Sağlığı Laboratuvarı'na analiz edilmek üzere getirilen aynı türdeki gıda örneklerinden (süt, süt ürünleri, sütle yapılan gıdalar, et ve et ürünleri) numuneler toplanmıştır (Çizelge 3.1). Örneklerin alınması Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü'nün yayınladığı “Gıda maddeleri Satış ve Toplu Tüketim Yerlerinden Numune Alma Rehberi” ne göre gerçekleştirilmiştir. Alınan örnekler en geç 8 saat içerisinde laboratuvarda olacak şekilde (sütlerde 4 saat) 2<sup>0</sup> C ve 4<sup>0</sup> C sıcaklık sağlayacak özel steril kaplarda Kütahya Halk Sağlığı Laboratuvarı'na analiz edilmek üzere getirilerek incelenmiştir [78].

Uygun şartlarda laboratuvara getirilen gıdaların bu amaçla analiz için daha önceden hazırlanmış 10 ml steril brain heart infusion broth besiyerine inokülasyonu sağlanmıştır. Brain heart infusion broth besiyerine transfer edilerek, soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiş, 37<sup>0</sup>C de 24 saat inkübe edilmiştir[80]. Daha sonra Baird- Parker agara ekim yapılarak, gri siyah renkli ve etrafında 2-5mm berrak bir

zon oluşmuş (Lesitinaz pozitif) parlak renkteki kolonilerden seçilerek kolonilerin beta hemoliz yapıp yapmadığı kanlı agar besiyerine ekim yapılmış 37<sup>0</sup>C de 24 saat inkübasyondan sonra hemoliz oluşturanlar seçilerek diğer identifikasyon testlerine geçilmiştir [2,16].

### **2.2.1.2. Gıda elleyicileri ile alet-ekipmandan alınan örneklerin incelenmesi**

Bu gıda örneklerinin işlendiği yerlerde gıdalarla direkt temas eden kişilerin boğaz-burun kültürlerinden, ellerinden ve de kullanılan alet ve ekipmandan svap örnekleri daha önce yapılan çalışmalarda önerildiği gibi alınmıştır [67, 79, 80]. Kişilerin el, burun ve boğazlarından örnekler klinik izolatlardaki gibi steril eküvyonlarla alınarak kanlı agar besiyerine ekim yapılmış ve petripler soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiştir 37<sup>0</sup>C de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası beta hemoliz yapan kolonilerden Baird- Parker agara ekim yapılmış, 37<sup>0</sup>C de 24 saat inkübe edilmiştir. Gri siyah renkli ve etrafında 2-5mm berrak bir zon oluşmuş (Lesitinaz pozitif) parlak renkteki koloniler seçilmiştir.Yine alet ve ekipmandan örnek alınımında steril svaplar önceden hazırlanmış steril Brain Heart Infusion Broth besiyerine batırılarak ıslatılmış ve ıslak svap yardımı ile örnek alınacak yüzeye iyice sürülerek örneklerin alınması gerçekleştirilmiştir. Alınan svap örnekleri içerisinde 10 ml steril Brain Heart Infusion Broth besiyeri bulunan tüplere transfer edilerek, soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiş, 37<sup>0</sup>C de 24 saat inkübe edilmiştir [80]. Daha sonra Baird- Parker agara ekim yapılarak, gri siyah renkli ve etrafında 2-5mm berrak bir zon oluşmuş (Lesitinaz pozitif) parlak renkteki kolonilerden seçilerek kanlı agar besiyerine ekim yapılmış 37<sup>0</sup>C de 24 saat inkübasyondan sonra beta hemoliz yapıp yapmadığına bakılmış ve beta hemoliz yapan koloniler seçilerek diğer identifikasyon testlerine geçilmiştir [2, 16].

### 2.2.1.3. Klinik materyallerin incelenmesi

Klinik izolatlar, Kütahya Halk Sağlığı Laboratuvarı'na kültür amaçlı gönderilen hastalardan izole edilen kulak, burun, boğaz, balgam, gaita, yara, abse, meni gibi değişik klinik materyaller de önceki çalışmalarla uyumlu bir şekilde analiz edilip değerlendirilmiştir.

Klinik örnekler steril eküvyonlarla alınarak direkt kanlı agar besiyerine inoküle edilerek, 37<sup>0</sup> C de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra beta hemoliz yapan kolonilerden seçilerek, Baird- Parker agara ekim yapılmış, 37<sup>0</sup> C de 24 saat inkübe edilmiş ve gri siyah renkli ve etrafında 2-5mm berrak bir zon oluşmuş (Lesitinaz pozitif) parlak renkteki koloniler seçilmiştir [2, 16, 23, 75].

### 2.2.2. İzolatların tanısı

Kanlı agarda hemolitik ve Baird- Parker agarda gri siyah renkli ve etrafında 2-5 mm berrak bir zon oluşmuş (Lesitinaz pozitif) parlak renkteki kolonilerin gram boyama sonucunda mikroskopta mor renkli, salkım görünümünde olan kok şeklindeki kolonileri seçilmiştir. Bu kolonilerden Yatık nutrient agar(YNA) besiyerine ekim yapılarak bir gece geliştirilmiş ve identifikasyon sonucu saf *S. aureus* olarak tanımlanan kültürlerin %15' lik gliserol stokları hazırlanarak - 80<sup>0</sup> C de saklanmıştır [23, 75]. İzolatlar identifikasyon için aşağıdaki testlere alınmıştır.

#### 2.2.2.1. Morfolojik ve biyokimyasal testler

##### Gram boyama

Besiyerinde geliştirilmiş saf kültürden lam üzerine bir öze dolusu alınarak, distile su ile yaydırılarak, havada kurumaya bırakılmış, lam alevden geçirilerek fikse edilmiş ve soğutulmuştur. Preperat kristal viyole ile boyanarak 1 dakika beklenmiştir. İyot-Lugol çözeltisi ile yıkanarak, kristal viyole uzaklaştırılmıştır. Preperata tekrar

İyot-Lugol çözeltisi damlatılarak,1-2 dakika boyanmış ve fazla boya distile su ile uzaklaştırılmıştır. Alkol ile 15saniye muamele edilerek distile su ile yıkanmış ve en son olarak ta preperat safranin ile boyanarak, 30 saniye bekletilip, tekrar distile su ile yıkanmıştır. Preperat havada kurutulduktan immersiyon yağı damlatılarak daha sonra 100'lük objektifte incelenmeye alınmıştır. Gram boyama sonucunda mor renkli, salkım görünümünde koklardan oluşan koloniler pozitif kabul edilmiştir [4, 81, 82].

### **Katalaz testi**

Nutrient agar ve BHI broth da üretilen ve 37<sup>0</sup>C de 24 saat inkübe edilen bakteri kültüründen serum fizyolojik (%0.85 NaCl) ile lam üzerinde süspansiyon hazırlanmış ve üzerine %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> damlatılarak gaz çıkışının olup olmadığı gözlenmiştir. Gaz kabarcıklarının çıkması pozitif olarak değerlendirilmiştir [2, 4, 36, 81, 82].

### **Koagülaz testi**

GBL Tavşan plazmalı koagülaz ayıracı(0540-5ml)'ndan tüplere 0.5ml konulmuş ve üzerine kontrol edilecek olan izolatın bir gecelik taze buyyon kültürlerinden 0.5 ilave edilerek 37<sup>0</sup>C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Tüpler 1, 2, 4 ve 24. saatlerde kontrol edilerek, pıhtılaşma görülen tüpler pozitif olarak değerlendirilmiştir [45, 75].

### **Pigment testi**

Test edilecek izolatın değişik besiyerlerine ekimi yapılarak oluşturacakları pigmentler incelenmiştir. Bu amaçla nutrient agar, Baird-Parker agar ve kanlı agar besiyerleri kullanılmıştır. İnokülasyonu takiben izolatlar 37<sup>0</sup>C de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Nutrient agarda altın sarısı, krem rengi, beyaz pigment; Baird-Parker

agar'da gri siyah renkli pigment; Kanlı agarda altın sarısı, krem rengi, beyaz pigment oluşumu gözlenmiştir [2, 18, 45, 82].

### **Lesitinaz testi**

Yumurta sarısı içeren Baird-Parker agar besiyerine bir gecelik kültürlerden ekim yapılmış ve bakterinin lesitini hidrolize edip etmediği kontrol edilmiştir. Kolonilerin etrafında berrak bir zonun oluşması pozitif olarak değerlendirilmiştir [2, 16, 18, 23].

### **Hemoliz testi**

Test edilecek suşun BHI broth'daki taze kültüründen öze ile kanlı agara ekim yapılmış ve 37<sup>0</sup>C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası hemoliz oluşturanlar pozitif olarak değerlendirilmiştir [2, 18, 81, 82].

### **Glukozun anaerobik fermentasyonu**

İzolatların NA besiyerinde bir gece geliştirilen kültürlerinden bir koloni alınarak fermentasyon broth besiyerine pasaj yapılmıştır. Besiyeri üzerine steril sıvı parafin ilave edilerek, anaerobik ortam sağlanmıştır. Ekim yapılan tüplerin 37<sup>0</sup>C'de 24,48-72 saatlik kültürleri kontrol edilerek, sarı renk oluşturan izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir [45, 81].

### **Mannitolun anaerobik fermentasyonu**

Mannitolün anaerobik fermentasyon besiyeri üzerine sterilizasyon sonrası steril parafin ilave edilerek, besiyerlerinin üzerleri doldurulmuş, izolatların NA besiyerinde bir gece geliştirilen kültürlerinden bir koloni alınarak pasaj yapılmıştır.

Ekim yapılan tüpler 37<sup>0</sup>C'de 5-7 gün inkübe edildikten sonra kültürler kontrol edilerek, sarı renk oluşturan izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir [45].

### **Mannitol tuzlu agar (MTA) besiyerinde gelişme**

MTA besiyeri seçici ve ayırıcı olması nedeniyle kullanılmış ve besiyerindeki gelişme durumuna göre tanımlama yapılmıştır [18, 31,35, 39].

### **Üreaz testi**

Üre agar içeren besiyerlerine ekimler yapılarak, bir gece inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra pembe renk oluşturan izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir [18, 82].

### **Jelatinaz testi**

Nutrient jelatin besiyerine ekimler yapılmış, tüpler oda ısısında 7 gün süre ile inkübe edilmiş ve izolatların jelatini eritip eritmediği kontrol edilmiştir[18, 45, 82].

### **Deoksiribonükleaz (DNaz) testi**

İzolatlar NA besiyerinde saflaştırılmış ve tek koloni alınarak DNaz besiyerine spot ekimler yapılarak bir gece geliştirilmiştir. Daha sonra üreyen koloninin üzerine 1N HCl asit damlatıldıktan sonra petri kutuları koyu zemin üzerinde incelenmiştir. Koloni üzerindeki açılmalar pozitif olarak değerlendirilmiştir [18, 31, 82].



### **Karbonhidratların aerobik fermentasyonu testi**

Fermentasyon temel besiyerine indikatör boya olarak brom timol mavisi katılarak, besiyeri sterilize edilmiştir. Sterilizasyondan sonra 45-50<sup>0</sup>C'ye soğutulan besiyerine %0,5'lik karbonhidrat filtrasyonla steril edilerek ilave edilmiş ve besiyeri petri kutularına dökülmüştür. Bu amaçla sükroz, laktoz, glukoz, ksiloz, rafinoz, D.mannitol, maltoz, arabinoz, trehaloz, fruktoz şeker çeşitlerinden yararlanılmıştır. İzolatların besiyerine inokülasyonundan sonra 72 saate kadar inkübe edilmiş, açık mavi yeşil rengi sarıya dönüştüren izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir [45].

#### **2.2.2.2. Vitek sistem ile analiz**

Tüm izolatların ön hazırlıkları ve uygulama prosedürleri Vitek analizörü (VITEK Microbiology Reference Manual, bioMerieux, Inc. Box 15969 Durham, North Carolina 27704-0969/USA) kullanma klavuzuna göre hazırlanmıştır.

Test edilecek suşun BHI broth'daki taze kültüründen öze ile kanlı agar ekim yapılmış ve 37<sup>0</sup>C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası 1.8 ml VITEC solusyonu doldurulmuş tüp içerisine taze kültürlerden aktararak dilue edilerek, Mc Farland No:0.5 bulanıklığına ayarlanmıştır. Kolorimetre üzerindeki kırmızı bölge sınır kabul edilerek, hücre miktarının az ya da çok olmamasına dikkat edilmiştir. Süspansiyon GPI kartına doldurularak ilk 20 dakika içerisinde alette okutulmuş ve 4-13 saat sonunda sonuçlar değerlendirilmiştir [19, 49].

Vitek analizörü kullanılarak izolatların *S. aureus* olduğu doğrulanmıştır. Vitek GPI kartı sırasıyla şu testleri içermektedir: pepton, basitrasin, optokin, hemisellüloz, %6 sodyum klorid, %10 safra, %40 safra, eskulin, dekarboksilaz baz kontrol, arjinin, üre, tetrazolyum tuzu, novobiosin, dekstroz, laktoz, mannitol, rafinoz, salisin, sorbitol, sukroz, trehaloz, arabinoz, piruvat, pullulan, inulin, melibiyoz, melezitoz, sellobiyoz, riboz, ksiloz, katalaz ve beta hemoliz testleridir.

### 2.2.3. Tiplendirme testleri

#### 2.2.3.1. Fenotipik testler

##### **Antibiyotik duyarlılık testi**

İzolatların antibiyotiklere duyarlılıkları Mueller hinton agar (MHA) besiyerinde disk diffzyon yöntemiyle incelenmiştir [35, 36, 38, 40]. Çalışmamızda; mupirosin (MUP 200 µg Oxoid), klindamisin (DA 2 µg Oxoid), fusidik asid (FA 10 Mcg Bioanalyse), trimethofrim-SMZ (SXT 25 µg Oxoid), vankomisin (VA 30 Mcg Bioanalyse), teikoplanin (TEC 30 Mcg Bioanalyse), penisilin G (P 10 Mcg Bioanalyse), oksasilin (OX 1 Mcg Bioanalyse) ve eritromisin (15 Mcg Bioanalyse) antibiyotikleri kullanılmıştır.

Bu amaçla önce tüm izolatlar öze ile kanlı agar besiyerine ekim yapılmış ve 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası taze kültürden steril eküvyonla 1.8 ml izotonik % 0.09 NaCL solusyonu doldurulmuş tüp içerisine aktarılarak dilue edilmiştir. Mc Farland No:0.5 (10<sup>8</sup> kob/ml) bulanıklığına ayarlanmıştır. Kolorimetre üzerindeki kırmızı bölge sınır kabul edilerek, hücre miktarının az ya da çok olmamasına dikkat edilmiş ve MHA besiyeri yüzeyine eküvyon ile inokülasyon yapılmıştır. Yüzey kuruduktan sonra değişik antibiyotik diskleri yerleştirilerek bir gece inkübasyona bırakılmış, bir sonraki gün diskler etrafında oluşan zon çapları ölçülmüştür. Elde edilen zon çapları NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standarts) tarafından önerilen zon tablosu ile karşılaştırılarak duyarlı, orta derece duyarlı ve dirençli olarak değerlendirilmiştir[83].

##### **SET-RPLA (*Staphylococcal enterotoxin test by reversed passive latex agglutination*) ile enterotoksin analizi**

Enterotoksin testi için SET-RPLA; Staphylococcal enterotoxin test kit (TD900, Oxoid) kullanılmıştır. Üretici firmanın tavsiye ettiği şekilde tüm izolatlar

Trypton soya broth besiyeri içerisinde 37°C’de 24 saat çalkalamalı etüvde inkübe edilmiştir. İnkübe edilen örnek 9000g’de 20 dakika 4°C’ santrifüj edilmiş, santrifüj edilen örneğin süpernetant kısmı temiz bir ependorf tüpe aktarılarak, çözeltiler çalkalanmıştır. Çalkalama işlemi kontrol çözeltileri üzerine 0.5 ml dilüent çözeltisi eklendikten sonra çözünmesi için tekrarlanmıştır. Tabanı çukur plaktan soldan sağa doğru sekiz çukur olacak şekilde sıra hazırlanarak, her bir örnek için yukarıdan aşağıya olacak şekilde beş sıra kullanılmıştır. Oluşturulan bu sıralardaki her bir çukura 25µl dilüent eklenmiştir. Yukarıdan aşağıya doğru beş sıradan oluşturulan sıranın ilk çukuruna 25µl test örneği eklenmiş, temiz bir uçla soldan sağa oluşturulan çukurların ilk çukurundan başlayarak, 25 µl alınarak sırayla 7. çukura kadar ½ oranında seyreltme işlemine devam edilmiş ve 8.çukur yani son çukur dilüe edilmeden bırakılmıştır. İlk sıradaki tüm çukurlara 25 µl anti-enterotoksin A çözeltisi, ikinci sıradaki tüm çukurlara 25µl anti-enterotoksin B çözeltisi, üçüncü sıradaki tüm çukurlara 25 µl anti-enterotoksin C çözeltisi, dördüncü sıradaki tüm çukurlara 25 µl anti-enterotoksin D çözeltisi ve beşinci sıradaki tüm çukurlara ise 25µl lateks kontrol çözeltisi ilave edilerek, plaklar elle çalkalanarak, kapağı nemli bir kutuda 24 saat inkübe edilmiştir. Aglütinasyon oluşumuna göre örneklerin hangi enterotoksinleri ürettikleri ya da hangilerini üretmedikleri şeklinde değerlendirme yapılmıştır [15, 23, 29, 48].

### **Toplam hücre proteinlerinin SDS- PAGE elektroforez ile analizi**

### **Toplam hücre proteinlerinin (THP) ekstraksiyonu**

BHI agar besiyerinde geliştirilmiş taze kültürlerden 3-4 koloni alınarak 100ml BHI broth içeren besiyerine inoküle edilmiş ve 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 10 000 g’de 10 dakika +4 °C’de soğutmalı olarak santrifüj edilerek hücreler çöktürülmüş ve bir enjektör yardımıyla üstteki süpernetant atılmıştır. Peletin üzerine 0,008 g lizozim (Sigma L 7651) ve 4000 µl tris-sitrat çözeltisi ilave edilerek çözdürülmüş, oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir.

Homojen süspansiyon elde edildikten sonra sonikasyonla hücreler parçalanmıştır. Sonikatörle parçalama esnasında sonikatör şişelerine aktarılan 4sn-4sn periyptlarda buz içerisinde 5-6 dakika sonike edildikten sonra kırılma 40X objektifte gözlenmiştir. Daha sonra parçalanan bu izolatlar ependorflara alınarak 20 000 g'de 20 dakika +4 °C'de soğutmalı olarak santrifüjlenerek protein ekstraları çıkartılmıştır. Pelete dokunulmadan üstteki süpernetant kısmı küçük hacimler halinde ependorflara paylaştırılarak, -20 °C'de muhafaza edilmiştir [72].

### **Elektroforez işlemi**

Bu amaçla %10'luk ayırma ve %3'lük yığma jeli kullanılmıştır. %10'luk ayırma jeli için H<sub>2</sub>O, %30 akrilamid karışımı, 1,5 M Tris (pH:8.8), %10 SDS, %10 AMPS (Amonyum persülfat) ve TEMED belirli oranlarda alınıp, temiz bir tüp içerisinde hazırlanıp daha sonra jel yükleme aygıtına boşaltılmıştır. Düz bir yüzey elde etmek için dökülen jel üzerine su ile doyurulmuş bütanolde 4-5 damla ilave edilmiştir. Jel donduktan sonra bütanol distile su ile temizlenmiş kurutma kağıtıyla da kalan su alınmıştır.

%3'lük yığma jelinin hazırlanması için gerekli olan H<sub>2</sub>O, %30 akrilamid karışımı, 1M Tris (pH:6.8), %10 SDS, %10 AMPS (Amonyum persülfat) ve TEMED belirli oranlarda alınıp, temiz bir tüp içerisinde hazırlanmış ve donmuş olan jelin üzerine dökülmüştür. Daha sonra Jelin üzerine 12 ya da 15 çukurlu tarak yerleştirilerek, jel kurumaya bırakılmıştır. Yığma jeli kurduktan sonra 1X yürütme tamponu ile elektroforez tankı doldurulmuş, tarak jeli bozmayacak şekilde dikkatlice çıkarılmış ve tarağın oluşturduğu çukurlara numara verilmiştir. Jel dökme işlemi bittikten sonra yürütülecek protein örnekleri ve işaretleyici protein temiz ependorf tüpleri içerisinde hazırlanmıştır. 30µl protein örneğinin üzerine 10µl 2x jel yükleme tamponu ilave edilerek, toplam 40µl hacim elde edilmiştir. Benzer şekilde 5µl geniş aralıklı işaretleyici protein üzerine 10µl 2x jel yükleme tamponu ve 25 ml distile su ilave edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan protein örnekleri 2-3 dakika kaynayan su içerisinde bekletilmiş, ve ependorflarda toplanan su buharını toplamak için 12.000

rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan örnekler %10'luk SDS-PAGE'de koşturulmuştur [72].

Hazırlanan protein örnekleri hamilton şırınga yardımı ile donmuş jel içerisindeki çukurlara aktarılmış ve elektroforez işlemi yığma jeline kadar elektrik gücü 80V'ta; indikatör olarak kullanılan brom fenol mavisi ayırma jeline ulaşınca ise güç kaynağı 120V'a çıkartılarak, yürütme işlemine devam edilmiştir. Brom fenol mavisi ayırma jelinin sonuna 0.5 cm yaklaştığında yürütme işlemi sonlandırılmıştır.

Jeller cam plaklar arasından çıkardıldıktan sonra, zarar vermeden boyama çözeltisi buluna küvetlere alınmıştır. Coomassie Brilliant Blue R-250 boya solüsyonunda çalkalayıcı üzerinde bir gece bekletilmiştir. Ertesi gün jeller boyama çözeltisinden alınarak, boya giderici çözelti içeren küvete alınmıştır. Bir gece de bu çözelti içerisinde bekletilerek boyanın tamamen giderilmesine çalışılmıştır [84].

Jellerde dağılım gösteren proteinlerin molekül ağırlıklarının hesaplanmasında molekül ağırlığı bilinen standart protein marker (Sigma Wide range M-4038 jele yüklenerek, diğer tüm yüklenen örneklerdeki proteinler bu markerle kıyaslanmış ve molekül ağırlıkları tayin edilmiştir. Bu amaçla boyası giderilmiş jel, jel dökümantasyon cihazına (Uvitec Gel Documentation, UVitec Limited Avebury House 36a Union Lane Cambridge CB4 1QB UK) yerleştirilerek, fotoğrafı çekilmiş, son olarak ta benzerlik oranlarını belirlemek için tüm jellerin dendogram analizleri yapılarak izolatların dendogram haritaları çıkartılmıştır [59, 61, 72, 84, 85].

### **Yağ asitleri metil esterlerinin (FAME) analizi**

İzolatların yağ asitleri analizi için gerekli tüm kimyasal bileşenler ve uygulama prosedürleri Microbial Identification System (MIS)(Microbial ID Inc. Newark De) kullanma klavuzuna göre hazırlanmıştır. Öncelikle test edilecek izolatın BHI broth'daki taze kültüründen öze ile %5 kan ilave edilerek hazırlanan besiyerine dört bölgeden oluşan çizgi ekim yapılarak, 35 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası olan üçüncü bölgede gelişen canlı bakteri

hücrelerinden steril bir öze ile 40 mg alınıp, steril cam tüplerde tartılarak, analiz için hazırlanmıştır.

İlk olarak, saponifikasyonla hücresel lipidlerin parçalanıp, yağ asitlerinin serbest kalması sağlanmıştır. Bu amaçla tartım yapılan tüpün üzerine 1.çözeltiden 1ml ilave edilmiş ve 5-10 saniye vortekslenmiştir. 100<sup>0</sup>C'ye ayarlanmış su banyosunda 5 dakika tutularak, cam tüpler soğutulmuş ve tekrar 5-10 saniye vortekslenmiştir. Bu aşamada son olarak 100 <sup>0</sup>C'ye ayarlanmış su banyosunda 25 dakika tutulmuştur.

Metilleştirme basamağı olan ikinci basamakta yağ asitlerinin metilatasyonu gerçekleştirilerek, serbest yağ asitlerine ester bağları ile metil eklenmiş ve yağ asitlerinden yağ asit metil esterler elde edilmiştir. Yağ asitlerine yüksek sıcaklıklarda buharlaşma özelliği kazandıran bu aşamada; tüpler soğutulmuş, üzerlerine 2.çözeltiden 2 ml ilave edilmiş ve 5-10 saniye vortekslenmiştir. Tüpler tekrar 80 <sup>0</sup>C'ye ayarlanmış su banyosunda 10 dakika tutularak hızla soğuması sağlanmıştır.

Üçüncü basamak olan saflaştırma basamağında; tüplerin üzerine 3.çözeltiden 1.25ml ilave edilmiş, 10 dakika karıştırıcıda çalkalanmıştır. Tüp içerisinde tüpün alt kısmında asidik, üst kısmında organik sıvı faz olmak üzere 2 ayrı faz oluşmuştur. Bu aşamada oluşan iki fazdan alttaki asidik faz pastör pipetiyle dışarı atılmış, yağ asit metil esterler asidik fazdan ayrılarak organik faz bölgesinde toplanmış ve organik faz muhafaza edilmiştir.

Son basamak olan yıkama aşamasında tüplerin üzerine bazik bir solusyon olan 4.çözeltiden 3 ml ilave edilerek, 5 dakika karıştırıcıda çalkalanmış ve bu çözelti serbest yağ asit metil esterlerinin daha saf elde edilmesini sağlamıştır. Üst kısımda toplanan ve yağ asit metil esterlerini içeren faz pastör pipetiyle 2 ml' lik cam şişelere alınmış ve şişelerin ağızları sıkıca kapatıldıktan sonra Microbial Identification System (MIS) (Microbial ID Inc., Newark De) cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirilerek, tavsiye edildiği gibi Gaz Kromatografi cihazında örnekler analiz edilmiştir. İdentifikasyon için önce TSBA 50 kütüphanesi kullanılmıştır. Ancak verilerin beklenenden çok farklı çıkması üzerine CLIN 50 kütüphanesi ile

analiz gerçekleştirilmiştir. ‘Analiz için yetersiz’ sonucunun alındığı izolatlar yeniden ekime alınıp yeniden yağ asitleri hazırlanmış ve tekrar analiz edilmişlerdir [57, 58].

### 2.2.3.2. Genotipik testler

#### **Kromozomal DNA’nın pulsed field jel elektroforez (PFGE) ile analizi**

Çalışmanın bu kısmı Prof Dr. Kıymet Güven ve Araştırma Görevlisi M. Burçin Mutlu tarafından yapılmış olup, kısaca şöyledir:

Kromozomal DNA analizleri ilişkisi için 28 izolat (aynı yerde çalışan kişiler, alet-ekipman ve gıda örnekleri) seçilmiş ve bu izolatların DNA örneklerinin hazırlanmasında Hennekinne ve ark. [86]; Vanderlinde ve ark. [87]; tavsiye ettikleri yöntemler modifiye edilerek uygulanmıştır [86, 87].

48.5 kb’dan daha büyük fragmentlerin ayırımı için restriksiyon enzimi olarak *SmaI* kullanılmıştır. % 1’lik jel 19 saat süre ile puls zamanı 5-40 sn arasında değişmek üzere 200V’luk elektroforeze tabii tutulmuştur. 48.5-1000 kb bandlar halinde ayırım gerçekleştirilmiştir. Marker olarak Lambda DNA (Marka:BioRad 170-3685) kullanılmıştır. Jeller 0.5 mg/lt Ethidium bromid ile boyanmış ve jel dökümantasyon sistemiyle (Uvitec Gel Documentation, UVitec Limited Avebury House 36a Union Lane Cambridge CB4 1QB UK) fotoğrafı çekilmiştir. Bandların pozisyonu görsel olarak işaretlenmiş ve benzerlik değerleri SPSS 10.0 istatistik yazılım programıyla hesaplanmıştır.

#### **Ribotiplendirme**

Tüm izolatlar üretici firmanın. [RiboPrinter (Microbial Characterisation System, DuPont Qualicon, Wilmington, De)] tavsiye ettiği şekilde analize hazırlanmıştır:

Test edilecek suşun BHI broth’daki taze kültüründen öze ile kanlı agara ekim yapılmış ve 37<sup>0</sup>C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası

üretici firmanın tavsiye ettiği şekilde 40µl örnek solusyonu doldurulmuş tüp içerisine taze kültürlerden aktarılarak 5 sn vortekslenmiştir. Tüpün içerisine ikinci kez aynı kültürden tekrar aktararak vorteksleme işlemi de tekrar edilmiştir. Hücre miktarının az ya da çok olmamasına dikkat edilmiştir. Süspansiyondan 30 µl cihazın kendi tüplerine aktarılmış ve 25 dakika ısıyla muamele cihazında tutulmuştur. Her bir tüpün üzerine 5µl A ve 5µl B solusyonlarından ilave edilmiş ve 90 dakika içerisinde cihaza yüklenmiştir. 24-30 saat sonunda sonuçlar değerlendirilmiştir.

Genetik parmak izi yöntemi kullanılarak *EcoRI* restriksiyon enzimi ile kesilen kromozomal DNA fragmentleri boyutlarına göre ayrılmış, işaretli rRNA operon problemleri ile hibridize olmuştur. *S. aureus*'un bilgisayar ortamında kayıtlı 252 referans marker fragmenti izolattan elde edilen fragment ile karşılaştırılarak *S. aureus* ribotipleri belirlenmiştir. Daha sonra ribogruplar belirlenerek, ribogruplar arasındaki benzerlik oranı SPSS 10.0 istatistik yazılım programıyla hesaplanmış ve dendogram oluşturulmuştur.



### 3. BULGULAR

#### 3.1. İzolasyon

Bu çalışmada Kütahya bölgesindeki gıda örnekleri, gıda çalışanları, gıda alet- ekipmanları ve klinik örneklerden toplam 106 *S. aureus* bakterisi izole edilmiştir (Çizelge 3.1).

Gıda örneklerinin izolasyonu için; süt ve süt ürünleri Kütahya merkez ve bağlı köyler ile mandıra, pastaneler, semt pazarlarından toplanmıştır. Et ve et ürünleri için il merkezindeki kasap ve marketlerdeki et ve et ürünlerinden ( beyaz et ve beyaz et ürünleri de dahil) ve ayrıca Kütahya Halk Sağlığı Laboratuvarı'na analiz edilmek üzere getirilen aynı türdeki gıda örneklerinden (süt, süt ürünleri, sütle yapılan gıdalar, et ve et ürünleri) olmak üzere toplam 82 gıda örneğinden izole edilmiştir (Çizelge 3.1).

Gıda elleyicileri ile alet-ekipmandan alınan örneklerin incelenmesinde bu gıda örneklerinin işlendiği yerlerdeki gıdalarla direkt temas eden kişilerin boğaz-burun kültürlerinden, ellerinden ve de kullanılan alet ve ekipmandan örnek alımı gerçekleştirilmiştir. Özellikle işleme kapasitesi küçük işletmelerden ve yerel semt pazarlarından numune alımı sırasında bazı güçlüklerle karşılaşmıştır. Buralarda çalışanlar ya da bu ürünleri pazarlayanlar olumsuz bir durum çıktığında kendilerinin şikayet edilecekleri korkusuna kapılmışlar ve ancak bu kişilerin ikna olmaları sonucuyla kendilerinden numune alma işlemi gerçekleştirilebilmiştir. Bu amaçla toplam 15 izolat izole edilmiştir (Çizelge 3.1).

Klinik izolatlar ise; Kütahya Halk Sağlığı Laboratuvarına kültür amaçlı gönderilen hastalardan izole edilen kulak, burun, boğaz, balgam, gaita, yara, abse, meni gibi değişik klinik materyallerden 9 izolat izole edilmiştir (Çizelge 3.1).

**Çizelge 3.1.** İzole edilen bakterilerin kaynaklara göre dağılımı

<b>Kaynak</b>	<b>Halk Sağ.Lab.</b>	<b>Köy</b>	<b>Saha</b>	<b>Kasap</b>	<b>Mandıra</b>	<b>Pastane</b>	<b>İncelenen Toplam Örnek</b>	<b>Pozitif Örnek</b>	<b>Yüzdelik Oram (%)</b>
Peynir	14	7	11	-	1	-	91	33	36,26
Tereyağı	1	-	3	-	1	-	13	5	38,46
Krema	-	1	-	-	1	-	10	2	20,00
Süt	1	2	1	-	1	-	21	5	23,81
Dondurma	2	-	-	-	-	4	54	6	11,11
Sucuk-Salam	5	-	3	4	-	-	43	12	27,91
Kuş başı et	-	-	-	8	-	-	21	8	38,10
Kıyma	-	-	-	2	-	-	18	2	11,11
Pişmiş Köfte	1	-	-	-	-	-	5	1	20,00
Tavuk	3	-	-	5	-	-	16	8	50,00
Gıda Elleyicisi	-	-	-	2	1	4	39	7	17,95
Alet-Ekipman	-	-	-	8	-	-	31	8	25,81
Klinik örnekler	9	-	-	-	-	-	45	9	20,00
<b>Toplam</b>	<b>36</b>	<b>10</b>	<b>18</b>	<b>29</b>	<b>5</b>	<b>8</b>	<b>407</b>	<b>106</b>	<b>26,04</b>

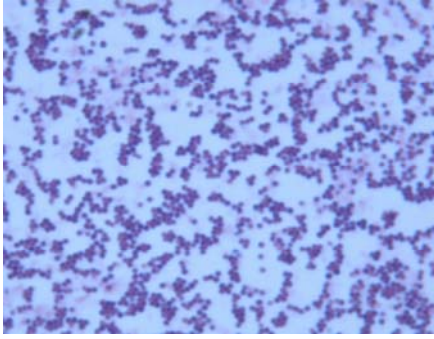
## 3.2. İdentifikasyon

### 3.2.1. Morfolojik ve biyokimyasal identifikasyonu

Yapılan biyokimyasal testler sonucunda NRRL B 767 referans izolatu, MRSA-1 ve MSSA-6 izolatları da dahil incelenen toplam 109 izolatın tamamında gram boyama, hemoliz, katalaz, koagülaz, lesitinaz aktivitesi, mannitol tuzlu agarda gelişme, mannitolun anaerobik fermentasyonu, glikozun anaerobik fermentasyonu, DNaz testleri ile karbonhidratların aerobik fermentasyonu testinde kullanılan sükröz, glikoz, mannitol, maltoz, trehaloz ve fruktoz karbonhidratları pozitif olarak bulunmuştur. Buna karşılık üreaz testinde izolatların 38'i pozitif, 71'i negatif olarak değerlendirilirken; jelatinaz testinde ise 24'ü pozitif 85'i negatif olarak değerlendirilmiştir. Karbonhidratların aerobik fermentasyonu testinde kullanılan laktoz, ksiloz, rafinoz, arabinoz karbonhidratları ise negatif olarak bulunmuştur. İzolatların 53'ünün altın sarısı, 39'unun krem rengi, 15'inin beyaz pigment oluşturduğu belirlenmiştir. Tüm izolatlar *S. aureus* olarak tanımlanmıştır (Çizelge 3.2). Her bir izolatın biyokimyasal test sonuçları EK-1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. *S. aureus*'un Baird Parker ve kanlı agardaki görünümü



**Şekil 3.2.** Gram boyama ile *S.aures*'un mikroskopik görünümü

**Çizelge 3.2.** Biyokimyasal test sonuçları

Yapılan Test	Test Sonuç Sayısı	
	+	-
Katalaz	109	-
Glikozun anaerobik fermentasyonu	109	-
Koagülaz	109	-
Mannitolün anaerobik fermentasyonu	109	-
DNaz	109	-
Üreaz	38	71
Jeletinaz	24	85
Lesitinaz	109	-
Hemoliz	109	-
Karbonhidratların Fermentasyonu		
Sükroz	109	-
Laktoz	-	109
Glikoz	109	-
Ksiloz	-	109
Rafinoz	-	109
Mannitol	109	-
Maltoz	109	-
Arabinoz	-	109

**Çizelge 3.2. (Devam)** Biyokimyasal test sonuçları

Yapılan Test		Test Sonuç Sayısı	
		+	-
Trehaloz		109	-
Fruktoz		109	-
Pigmentasyon	Altın sarısı	Krem rengi	Beyaz
	53	39	15

### 3.2.2. Vitek otomatik sistem ile analiz

Pepton, basitrasin, optokin, hemisellüloz, %6 sodyum klorid, %10 safra, %40 safra, eskulin, dekarboksilaz baz kontrol, arjinin, üre, tetrazolyum tuzu, novobiosin, dekstroz, laktoz, mannitol, rafinoz, salisin, sorbitol, sukroz, trehaloz, arabinoz, piruvat, pullulan, inulin, mellibiyoz, melisitoz, sellobiyoz, riboz, ksiloz, katalaz ve beta hemoliz testlerini içeren Vitek analizörü (VITEK Microbiology Reference Manual, bioMerieux, Inc. Box 15969 Durham, North Carolina 27704-0969/USA) GPI kartı kullanılarak tüm izolatların %99 oranında *S. aureus* olduğu doğrulanmıştır. Ayrıca hem geleneksel yöntemlerle hem de Vitek GPI kartında da yer alan aynı karbonhidrat türleri olan sukroz, laktoz, ksiloz, rafinoz, mannitol, arabinoz, trehaloz karbonhidratlarıyla şeker testleri ve üreaz testi yapılmış, sonuçlar uyumlu bulunmuştur. Çalışmamızda 109 izolat Vitek Otomatik Sistem ile analiz edilmiş ve analiz sonuçları Çizelge 3.3'de verilmektedir. Buna göre; test edilen izolatların tümünde pepton, optokin, %6 sodyum klorid, %10 safra, %40 safra, dekstroz, mannitol, sukroz, trehaloz, katalaz ve beta hemoliz testlerinin pozitif olup, eskulin, arjinin, novobiosin, laktoz, rafinoz, salisin, sorbitol, arabinoz, piruvat, pullulan, inulin, mellibiyoz, melisitoz, sellobiyoz, riboz, ksiloz testlerinin ise negatif olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında izolatların basitrasin testinde 101'inin pozitif 8'inin negatif; hemisellüloz testinde 46'sının pozitif 63'ünün negatif; üre testinde 38'inin pozitif 71'inin negatif; tetrazolyum tuzu testinde ise 58'inin pozitif 51'inin negatif sonuç verdiği belirlenmiştir. Her bir izolatın biyokimyasal test sonuçları EK-2'de

verilmiştir. Her bir izolatin basitrasın, optokin ve novobiosine ait antibiyogram profili EK-3’de verilmiştir.

**Çizelge 3.3.** *S. aureus*’un Vitek Otomatik Sistem ile Analiz Sonuçları

Test	Test Sonuç Sayısı	
	+	-
Pepton	109	0
Basitrasın hassasiyeti	101	8
Optokin hassasiyeti	109	0
Hemisellüloz	46	63
%6 Sodyum Klorit	109	0
%10 Safra	109	0
% 40 Safra	109	0
Eskulin	-	109
Arjinin	-	109
Üre	38	71
Tetrazolyum	58	51
Novobiosin hassasiyeti	-	109
Dekstroz	109	-
Laktöz	-	109
Mannitol	109	-
Rafinoz	-	109
Salisin	-	109
Sorbitol	-	109
Sukroz	109	-
Trehaloz	109	-
Arabinoz	-	109
Püruvat	-	109
Pullulan	-	109
Inulin	-	109
Mellibiyoz	-	109
Melesitoz	-	109

**Çizelge 3.3. (Devam)** *S. aureus*'un Vitek Otomatik Sistem ile Analiz Sonuçları

Test	Test Sonuç Sayısı	
	+	-
Sellobiyoz	-	109
Riboz	-	109
Ksiloz	-	109
Katalaz	109	-
Beta Hemoliz	109	-

### 3.3. Tiplendirme testleri

#### 3.3.1. Fenotipik testler

##### 3.3.1.1. Antibiyotik duyarlılık testi

*S. aureus* izolatlarının Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile NCCLS (National Commitee for Clinical Laboratory Standarts) standartlarına göre yapılan antibiyotik duyarlılık testinde toplam 9 antibiyotiğe karşı antibiyogram yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre mupirosin, teikoplanin, vankomisin'e karşı direnç saptanmamıştır. İzolatların % 91,74'ü penisilin G'ye karşı dirençli bulunmuştur. Çizelge 3.4' de 109 izolatın antibiyotik duyarlılık sonuçları özetlenmiştir. Her bir izolatın antibiyogram profili EK-3'de verilmiştir. Muller Hinton agar besiyerinde antibiyotik disklerinin oluşturduğu inhibisyon zonlarının görünümü Şekil 3.3'de verilmektedir.

Çalışmamızda gıda elleyicilerinin burun boğaz sürüntülerinden ve bu kişilerin çalıştıkları işletmelerden alınan gıdalardan izole edilen *S. aureus* izolatları arasındaki antibiyotik direnci ilişkisi  $X^2$  testi ile yapılarak belirtilmiştir Gıda elleyicileri ve gıdalardaki *S. aureus* izolatlarının bu antibiyotiklere karşı duyarlılıkları arasında istatistiksel olarak fark olmadığı saptanmıştır ( $p>0.05$ ). Test sonuçları Çizelge 3.5' de gösterilmiştir. Her bir izolatın ayrıntılı istatistik bulguları EK-4'de verilmiştir.



**Şekil 3.3.** Muller Hinton Agar besiyerinde antibiyotik disklerinin oluşturduğu inhibisyon zonlarının görünümü

**Çizelge 3.4.** *S.aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları

Antibiyotik kodu	D*	ODD	R	%D	%ODD	%R
Klindamicin	74	16	19	67,89	14,68	17,43
Eritromisin	73	18	18	66,97	16,51	16,51
Fusidik asit	82	17	10	75,23	15,6	9,17
Mupirosin	109	0	0	100	0	0
Oksasilin	103	0	6	94,5	0	5,5
Penisilin G	9	0	100	8,26	0	91,74
Teikoplanin	104	5	0	95,41	4,59	0
Trimethofrim/Sulfamethoksazole	12	7	90	11,01	6,42	83,48
Vankomisin	109	0	0	100	0	0

\* **D:** Hassas, **ODD:** Orta Derecede Hassas, **R:** Dirençli, **%:** yüzde oran



**Çizelge 3..5.** Gıda elleyicileri ile gıdalardaki *S. aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının karşılaştırılması

Antibiyotik kodu	P değeri
Klindamisin	(p>0.05)
Eritromisin	(p>0.05)
Fusidik asid	(p>0.05)
Mupirosin	(p>0.05)
Oksasilin	(p>0.05)
Penisilin G	(p>0.05)
Teikoplanin	(p>0.05)
Trimethofrim/Sulfamethoksazol	(p>0.05)
Vankomisin	(p>0.05)

### 3.3.1.2. SET-RPLA (Staphylococcal Enterotoxin test by reversed passive latex agglutination) ile enterotoksin analizi

Test edilen toplam 99 izolat arasında NRRL B-767, Peynir 7 ve Sucuk 2-10 izolatlarının hiçbir enterotoksini üretmediği (%3.03), Peynir 2, Y-4 (tavuk eti), 438 (tavuk) izolatları olmak üzere üç izolatın C ve D enterotoksinlerini birlikte ürettiği (%3.03), geri kalan 93 izolatın tümünün ise D enterotoksinini ürettiği (%93.93) belirlenmiştir (Çizelge 3.6). Klinik izolatlara SET-RPLA ile toksin analizi uygulanmamıştır.

Çizelge 3.6. SET-RPLA ile Enterotoksin Testi Analizi Sonuçları

İzolat	Kaynak	Toksin Üretimi
NRRL B 767	United States Department of Agriculture, A.R.S	Negatif
Pey.7	Ahiler Köyü	Negatif
Pey.8	Ahiler Köyü	D
Pey.10	Belkavak Köyü	D
Krema.39	Ahiler Köyü	D
Pey.18	Kütahya Merkez	D
Pey.19	Kütahya Merkez	D
Pey.22	Kütahya Merkez	D
Yağ.25	Kütahya Merkez	D
Süt.26	Kütahya Merkez	D
Kakaolu Dondur.27	Kütahya Merkez	D
Peynir.28	Kütahya Merkez	D
Peynir.28-A	Kütahya Merkez	D
Peynir.29	Belkavak Köyü	D
Süt.30	Kumluyurt Köyü	D
Tereyağ.31	Muhatboğazi Köyü	D
Tereyağ.32	Kütahya Merkez	D
Peynir.33-A	Kütahya Merkez	D
Yeni Sucuk	Halk Sağ.Lab.	D
Süt.36	Kumluyurt Köyü	D
Süt.36-B	Muhatboğazi Köyü	D
Peynir-38	Kütahya Merkez	D
Tereyağ-39	Kütahya Merkez	D
Peynir-40	Kütahya Merkez	D
Peynir-41	Kütahya Merkez	D

**Çizelge 3.6. (Devam) SET-RPLA ile Enterotoksin Testi Analizi Sonuçları**

<b>İzolant</b>	<b>Kaynak</b>	<b>Toksin Üretimi</b>
Peynir-43	Kütahya Merkez	D
Peynir-44	Kütahya Merkez	D
Peynir-1	Mandıra	D
Peynir-2	Halk Sağ.Lab.	C, D
Peynir-3	Halk Sağ.Lab.	D
Peynir.11-10	Halk Sağ.Lab.	D
Peynir.4-L	Halk Sağ.Lab.	D
Peynir.5-C	Halk Sağ.Lab.	D
Krema16.	Halk Sağ.Lab.	D
Tereyağ.2-M	Halk Sağ.Lab.	D
Süt.1-H	Halk Sağ.Lab.	D
Peynir.D	Mandıra	D
Peynir.9	Halk Sağ.Lab.	D
İ-8.Sakızlı Don.	Pastane	D
İ-1	Gıda Elleyicisi-Pastane	D
Y-1.Kuşbaşı Et	Kasap	D
Y-4.Tavuk Et	Kasap	C,D
Y-7.Kuzu Eti	Kasap	D
Y-8.Kesim Yeri	Kasap	D
Y-8-A.Kuşbaşı Et	Kasap	D
Y-11	Gıda Elleyicisi-Kasap	D
Y-15.Et Çengeli	Kasap	D
Y-17.Kıyma Makinesi	Kasap	D
Y-18.Et Leğeni	Kasap	D
Y-19.Kıyma Et	Kasap	D
Y-20. Et	Kasap	D
Y-20-A. Sucuk	Kasap	D

**Çizelge 3.6. (Devam) SET-RPLA ile Enterotoksin Testi Analizi Sonuçları**

<b>İzolat</b>	<b>Kaynak</b>	<b>Toksin Üretimi</b>
Y-Satır	Kasap	D
Y-Makine-6	Kasap	D
Y-* Tavuk	Kasap	D
E-1-6 Sucuk	Kasap	D
E-1-7 Et	Kasap	D
E-1-10 Salam	Kasap	D
E-2-17 Sucuk	Kasap	D
E-2-18 Sucuk	Kasap	D
438 Tavuk.	Halk Sağ.Lab.	C, D
439 Tavuk.	Halk Sağ.Lab.	D
464 Sucuk.	Halk Sağ.Lab.	D
468 Köfte.	Halk Sağ.Lab.	D
Sucuk –B	Kütahya Merkez	D
Sucuk 22-9	Kütahya Merkez	D
Sucuk –8	Kütahya Merkez	D
Sucuk –2-A	Kasap	D
Kuşbaşı Et.2-A	Kasap	D
Baget-14	Kasap	D
Bonfile-13	Kasap	D
Kanat-10	Kasap	D
Kanat10-A	Kasap	D
Kıyma	Kasap	D
Sucuk 2-10	Kasap	Negatif
Dana Eti –A	Kasap	D
Dana Eti –2a	Kasap	D
Tahta	Kasap	D
Satır-1	Kasap	D

**Çizelge 3.6. (Devam) SET-RPLA ile Enterotoksin Testi Analizi Sonuçları**

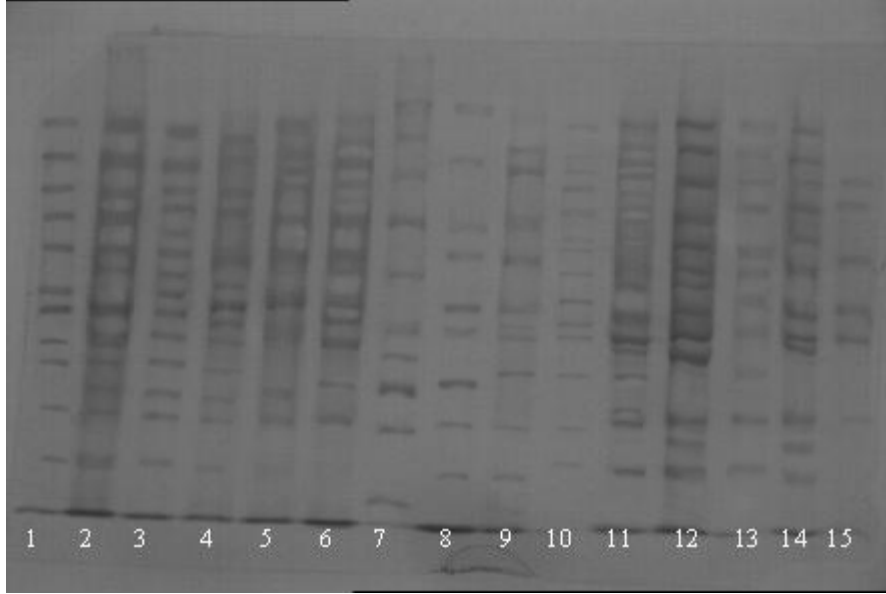
İzolat	Kaynak	Toksin Üretimi
Burun	Gıda Elleyicisi-Kasap	D
K-1 Burun	Gıda Elleyicisi-Kasap	D
M.K.(Boğ.Bur.)	Gıda Elleyicisi-Mandıra	D
48-Peynir	Kütahya Merkez	D
528-Peynir	Halk Sağ.Lab.	D
Peynir.5-G	Halk Sağ.Lab.	D
Peynir.377	Halk Sağ.Lab.	D
Peynir.432	Halk Sağ.Lab.	D
Peynir.433	Halk Sağ.Lab.	D
Peynir.433-B	Halk Sağ.Lab.	D
Peynir.506	Halk Sağ.Lab.	D
Peynir.508	Halk Sağ.Lab.	D
Dondurma.454	Halk Sağ.Lab.	D
Dondurma.482	Halk Sağ.Lab.	D
İ-3	Gıda Elleyicisi-Pastane	D
İ-2	Gıda Elleyicisi-Pastane	D
İ-6.Karamelli Don.	Pastane	D
İ-7	Gıda Elleyicisi-Pastane	D
İ-5.Çilekli Don.	Pastane	D

### 3.3.1.3. Toplam hücre proteinlerinin SDS- PAGE elektroforez ile analizi

SDS-PAGE tekniği ile %12 ayırma ve %3 yığma jelinde bazı izolatlardan elde edilen protein bantları Şekil 3.4'te gösterilmiştir.

Şekildeki örnek protein profilinde de görüldüğü gibi aynı molekül ağırlığına sahip proteinler jel üzerinde benzer bantlar oluşturmuştur. Band oluşumlarının standart marker bantlarıyla ve standart referans *S. aureus* izolatına ait bantlarla

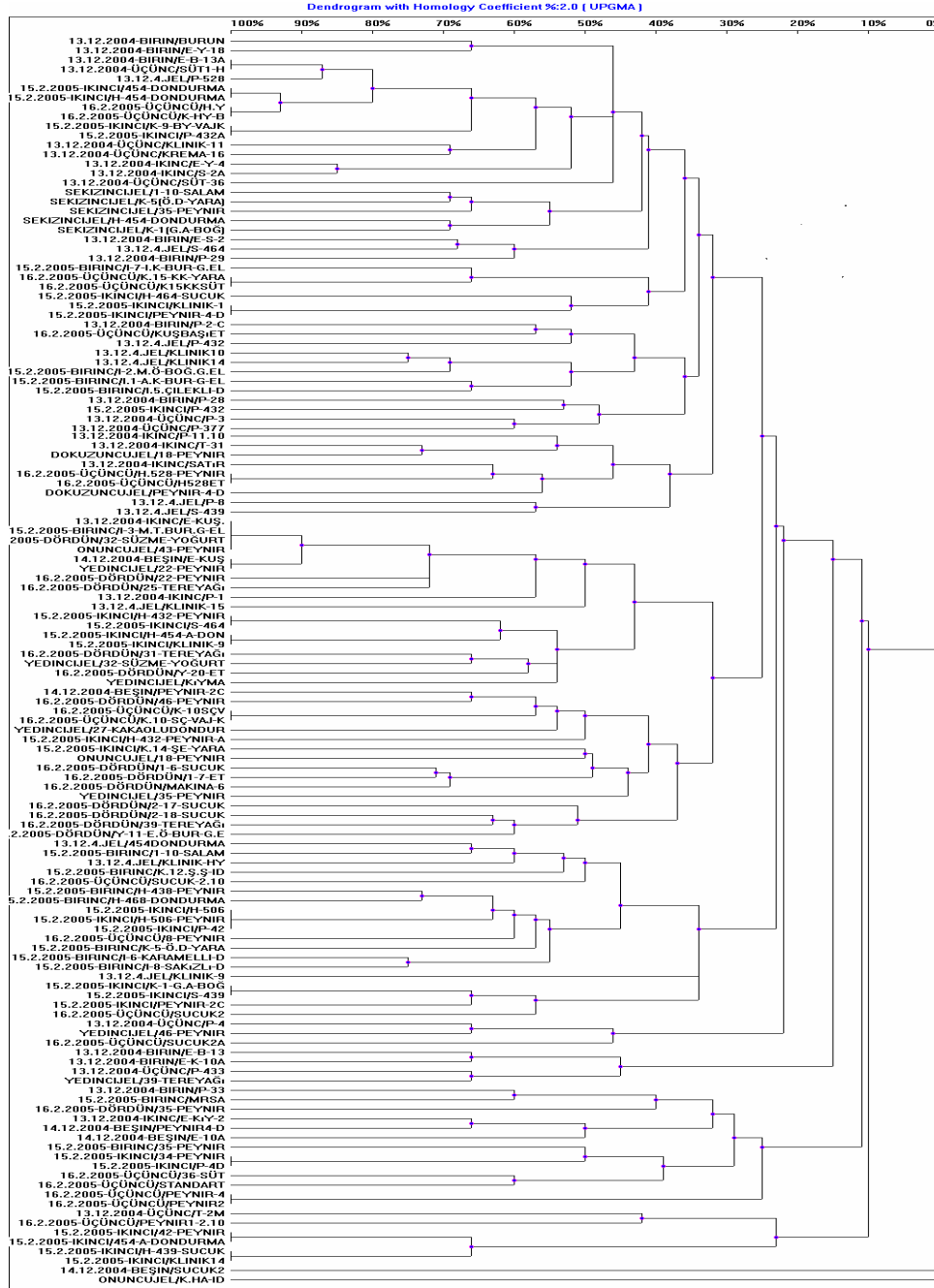
uyumlu olduğu gözlenmiştir. Bazı kısımlarda molekül ağırlıkları aynı ya da birbirine çok yakın olan bu bandların, birbirleriyle çakışarak net bir ayırımı yapılamamıştır. Şekilde de görüldüğü gibi marker olarak kullanılan ve 7 no'lu çukurda yer alan geniş aralıklı protein işaretleyicisi jel üzerinde farklı molekül ağırlığına sahip 11 farklı molekül ağırlığında bandlar oluşturmuştur.



**Şekil 3.4.** Toplam hücre protein profilleri. Soldan sağa doğru 1; İ-3 (Gıda elleycisi-pastane) 2; İ-7 (Gıda elleycisi-pastane) ,3; İ-1 (Gıda elleycisi-pastane), 4; İ-2 (Gıda elleycisi-pastane), 5; İ-6 (Karamelli Don.), 6; İ-8 (Sakızlı Don.), 7; marker, 8; MRSA-1, 9; İ-5 (çilekli dondurma), 10; Peynir-38, 11; Peynir-508, 12; 468 köfte,13; E 1-10 (salam),14; K-12,(İdrar), 15; K-5 (Yara) izolatları yer almaktadır

Marker ve izolatlara ait protein bandlarının birbirlerine yüksek oranda benzerlik gösterdikleri ve ortak band oluşturdukları belirlenmiştir. Birinci çukurda yer alan; İ-3 ile üçüncü çukurda yer alan; İ-1 izolatlarıyla; ikinci çukurda yer alan; İ-7, dördüncü çukurda yer alan; İ-2, beşinci çukurda yer alan; İ-6, altıncı çukurda yer alan; İ-8 ve dokuzuncu çukurda yer alan İ-5 izolatları birbirleriyle benzer band oluşturmuşlardır. Tüm izolatların bu şekilde SDS-PAGE ile protein bandları oluşturulmuş ve benzer sonuçlar elde edilmiştir. Oluşan protein band profilleri

Şekil.3.5'deki dendogramda gösterilmektedir Band oluşumu düzgün çıkmayan izolatlar yeni jellere yüklenerek işlemler tekrarlanmıştır.



Şekil 3.5. SDS-PAGE profilleri

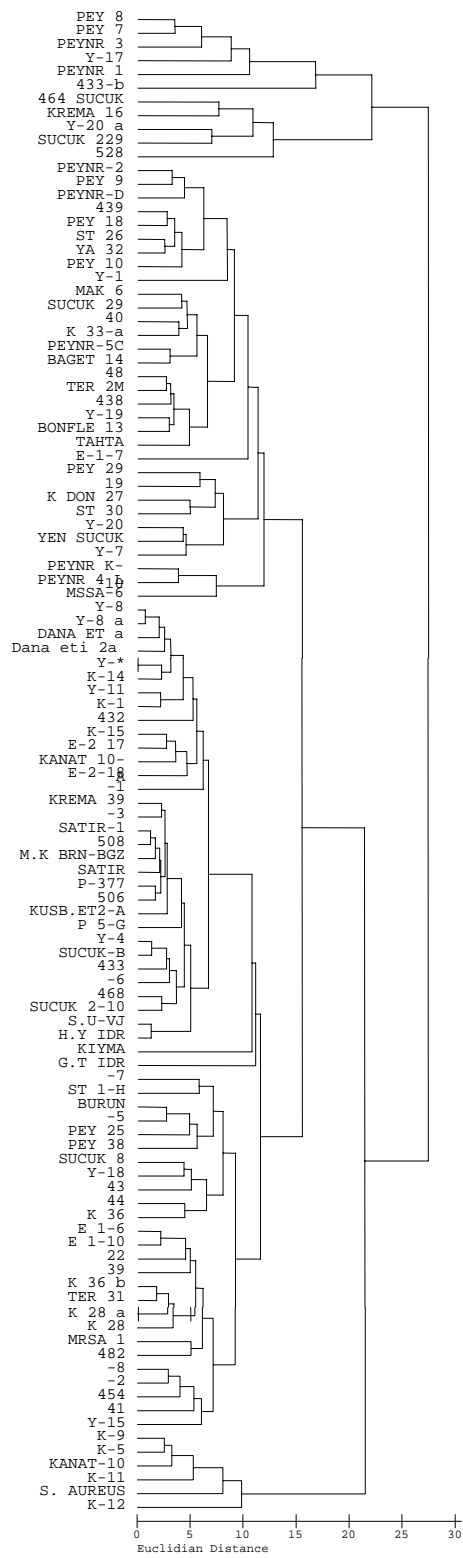
Çalışmamızda özellikle aynı yerde çalışan kişilerle oradaki gıdalardan ve alet-ekipmandan izole ettiğimiz izolatlar arasında, diğer izolatlardan farklı olarak belirgin bir band ayırımı gözlenmemiştir. Elde ettiğimiz dendograma göre oluşan grupların aralarındaki benzerlik yüzdesi düşük olarak belirlenmiştir.

#### 3.3.1.4. Yağ asitleri metil esterlerinin (FAME) analizi

Hücre sel yağ asiti profilleri, MIS (Microbial İdentification System)'in içerdiği veri tabanına göre analiz edilmiştir. Analize alınan toplam 109 izolatın 22'si (% 20.18) *Staphylococcus* sp. (*S. xylosus*, *S. warneri*, *S. simulans*,) olarak tanımlanırken, bu izolatlar içerisinde sadece 7'si (% 6.42) *S. aureus* olarak tanımlanmıştır. Bir bölüm izolatın ise veri tabanında karşılığı bulunamamıştır. EK-5'de test edilen bütün izolatların MIDI sistem ile elde edilen yağ asitleri profilleri verilmektedir. EK-6'da CLIN 50 veri tabanına göre *S. aureus* izolatlarının identifikasyon sonuçları verilmiştir.

Test edilen izolatların içerdikleri yağ asitlerine göre akrabalık ilişkileri cluster analizi ile belirlenmiştir (Şekil 3.6). Buna göre birbiriyle ilişkili A, B, C, D, E olmak üzere 5 ana grup oluşturmuşlardır. Bu gruplarda yağ asitleri bulunma oranının çok yüksek olduğu ve ortak olarak bulunan yağ asitleri 14:O ISO, 15:O ISO, 15:O ANTE ISO, 16:O, 17:O ANTE ISO, 18:1W9C yağ asitleri olmakla birlikte 15:O ANTE ISO yağ asitinin tüm izolatlarda bulunma oranının % 99.09, ortalamasının; 43,12, Standart sapmasının; 7,87 oranında olduğu belirlenmiştir. Oluşan dendograma göre gruplar içerisindeki izolatlar arasındaki mesafe izolatların tamamına yakın kısmında 10 ve daha altında olduğu ve bu izolatların aynı türe ait olabileceği belirlenmiştir. En düşük oranda bulunan yağ asitleri ise %0.91 oranıyla 10:OO,12:O3OH, 14:OANTEISO, 16:OALCOHOL, 16:1W11C, ISO17:1W9C, 18:O2OH,20:1W7C yağ asitlerinde elde edilmiştir.





Şekil 3.6. Yağ asitleri profillerine göre *S. aureus* izolatları arasındaki benzerlik oranı

Test edilen izolatlarda %1 ve daha fazla oranda görülen yağ asitlerinin ortalaması, yüzdeleri ve standart sapması Çizelge 3.7'de verilmektedir. Yağ asitleri metil esterlerinin (FAME) ayrıntılı analiz sonuçları EK-5'de verilmiştir.

Farklı yerlerden alınan izolatlar arasında aynı yağ asitleri bulunmuş ve izolatların yağ asitleri analizlerinde geniş bir heterojenite belirlenmiştir.

Aynı yerden izole edilen Y-17, Y-18, Y-20-A, Y-19, Y-20, Y-7, Y-Mak.6, Y-satır, Y-8, Y-8-A, Y-4, Y-11, Y-1, Y-15 izolatları; E 2-17, E 2-18, E 1-10, E 1-6, burun, kıyma; K-1, tahta, Dana eti a, Baget 14, Bonfile 13, sucuk 22.9 izolatları ile yine aynı yerden izole edilen İ-5, İ-7, İ-8, İ-3, İ-6 İ-1, İ-2 izolatları; farklı yerlerden izole edilen izolatlarla benzer yağ asiti profili oluşturmuşlardır.

*S. aureus* izolatlarının hücresel yağ asitleri analizi ile yaptığımız identifikasyonda spesifik bir identifikasyon elde edilememiştir. İzolatlar ile elde edildikleri kaynaklar arasında bir ilişki belirlenememiştir. Kullanılan NRRLB-767 *S. aureus* izolatının içerdiği yağ asitleri diğer izolatların yağ asitleriyle benzer bulunmuş olmasına rağmen MIS 'in veri tabanında izolatların isimlendirilmelerinin tam karşılığı bulunamamıştır.

Cluster analizine göre; izolatlar arası mesafe 2.5 ve daha altı ise bu izolatların aynı izolatın farklı tiplerinin olabileceği belirtilmektedir (57). Bu değerlendirmeye göre çalışmamızda izolatlar arası mesafesi 2.5 ve altı olan ve aynı izolatın farklı tipleri şunlardır: K-15 –E 2-17; Y-11-K-1; Y-\*K-14; Baget 14-Peynir 5C; Yağ 32-süt 26;Peynir 18-439; Peynir 9- Peynir 2; Peynir 8- Peynir 7; K-5- K-9;E 1-10- E 1-6; Burun İ-5; S.U.Vaj-HY idr; Sucuk 2-10- 468; İ-2-İ-8; izolatları ikişerli ilişkilendirilirken, Y-8-Y-8 a izolatları önce kendi aralarında daha sonra da Dana eti a izolatıyla ilişkili bulunmuştur. Bonfile-13-Y-19 izolatları arasında önce ikili bir ilişkisinin olduğu ve daha sonra bu izolatlar ile Ter-2M-48 izolatlarının 438 izolatıyla oluşturduğu grubun ilişkili olduğu bulunmuştur.

**Çizelge 3.7.** İzolatların %1 ve daha fazla oranda içerdikleri yağ asitlerinin bulunma yüzdesi, ortalaması ve standart sapması

Yağ asidi	Bulunma oranı (%)	Ortalama	Standart Sapma
09:00	1,81	0,1	0,08
10:00	0,9	0,5	0
11:0 ANTEİSO	1,82	0,27	0,25
12:00	8,18	0,26	0,18
13:0 ISO	33,63	0,31	0,20
13:0 ANTEİSO	51,82	0,41	0,13
12:030H	0,91	0,44	0
13:00	1,82	0,05	0,07
14:0 ISO	99,09	5,73	2,12
14:0 ANTEİSO	0,91	0,04	0
14:00	95,5	2,34	1,07
15:0 ISO	99,09	4,08	1,02
15:0 ANTEİSO	99,09	43,12	7,87
16:0 NALCOHOL	0,91	0,5	0
16:0 ISO	98,18	1,95	1,09
16:1W11C	0,91	0,11	0
16:00	99,09	6,54	2,45
16:010 METHYL	6,36	0,36	0,44
ISO17:1W9C	0,91	0,45	0
15:030H	38,18	4,98	4,51
16:010 METHYL	3,64	0,56	0,33
17:0 ISO	60,91	0,84	0,58
17:0 ANTESO	99,09	3,06	3,06
17:1W8C	1,82	0,33	0,3
17:0 CYCLO	1,82	0,44	0,29
17:00	47,27	0,41	0,16
18:0 ISO	40,91	0,63	0,39
18:1W9C	99,09	4,04	2,34
18:1W7C	66,36	1,10	0,42
18:00	94,55	9,00	3,38
17:030H	1,82	0,96	1,1
19:0 ISO	10,0	0,30	0,14
19:0 ANTEİSO	38,18	0,63	0,36
19:0 CYCLOW8C	1,82	0,34	0,33
19:00	34,55	0,78	0,38
18:020H	0,91	0,31	0
20:4W6,9,12,15C	86,36	1,12	0,35
18:030H	2,73	0,42	0,21
20:0 ISO	2,73	0,32	0,12
20:2W6,9C	88,18	2,77	1,47
20:1W9C	73,64	2,14	1,00
20:1W7C	0,91	0,15	0
20:00	94,55	4,22	2,78

Aynı şekilde K-36-b- ile Ter-31 kendi aralarında daha sonra da K-28-a izolatu ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Y-4-Sucuk B arasında önce ikili bir ilişki daha sonra bu izolatlar ile 433-b arasında bir ilişki ve tümünün ise İ-6 izolatu ile aralarında bir ilişki belirlenmiştir. 508-satır-1 arasında önce ikili bir ilişki daha sonra bu izolatlar ile M.K.Bur-Boğ arasında bir ilişki ve tümünün ise satır izolatu ile aralarında bir ilişki belirlenirken; bu grup önce P-377-506 izolatları arasında yeni bir grup oluşturmuş ve oluşan bu yeni grup da ve krema 39 ile İ-3 izolatları arasındaki ikili grupla birleşmiş ve daha sonra ise tüm sayılan grup ilişkili bulunmuştur. Kaynağı aynı olan izolatlar arasındaki benzerliğe karşılık, kaynakları birbirinden farklı olan klinik izolatlarla gıda örneklerinin ve süt örnekleri ile et örnekleri gibi farklı gıda örneklerinin yağ asitleri benzer bulunmuştur.

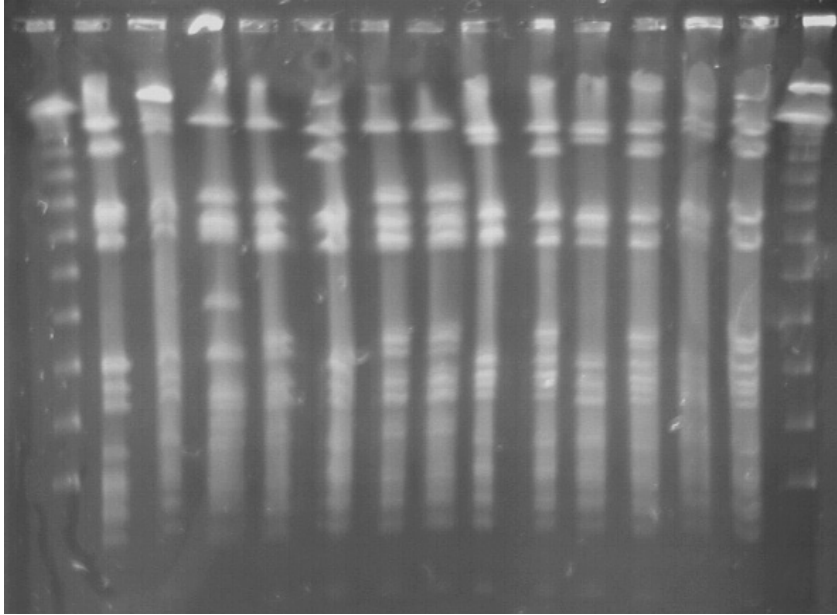
### 3.3.2. Genotipik testler

#### 3.3.2.1. Kromozomal DNA'nın pulsed field jel elektroforez (PFGE) ile analizi

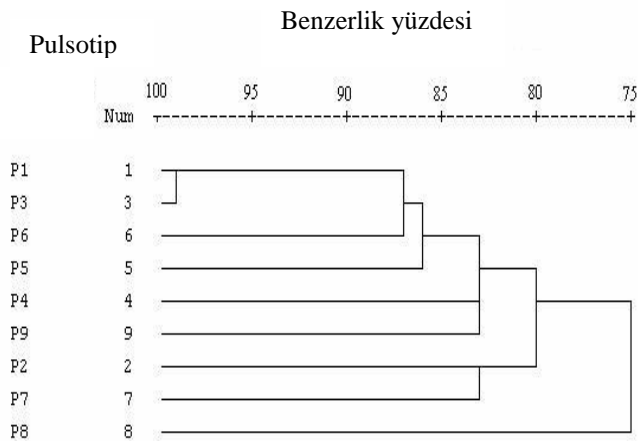
PFGE Analiz Yöntemiyle 28 izolatu genotipik benzerlikleri *SmaI* enzimi kullanılarak araştırılmıştır. İzolatların oluşturdukları gruplar Çizelge 3.8'de verilmiştir. Gıda elleyicileri ile alet-ekipmandan alınan örneklerin incelenmesinde bu gıda örneklerinin işlendiği yerlerdeki gıdalarla direkt temas eden kişilerin burun kültürlerinden, ellerinden ve de kullanılan alet ve ekipmandan alınan örnekler analiz edilmiştir. PFGE band profilleri Şekil 3.7'de görüldüğü gibidir.

Oluşan band profillerine göre dokuz farklı band profili ortaya çıkmıştır. Şekil 3.8'de PFGE analizi ile izolatların örnek PFGE profili görülmektedir. E 2-17, E 2-18, E 1-10, E 1-6, Y-8, Y-15- Y-20-a izolatları birinci grup; Y-18, Y-19, Y-Mak.6, Tahta izolatları ikinci grup; İ-1, İ-3, İ-6 izolatları üçüncü grup; İ-2, İ-5, İ-7, İ-8 izolatları dördüncü grup; Y-satır, Y-\*, Y-17, satır-1 beşinci grup; Y-8 a, E 1-7; altıncı grup; Burun izolatu yedinci grup ve Y-20, Y-11 izolatları sekizinci grup ve Dana eti a izolatının da dokuzuncu grubu oluşturdukları belirlenmiştir. Oluşan dendograma göre 1 ve 3. grubun birbirlerine yaklaşık % 98 oranında benzer olduğu;

bu iki grubun 6. grup ile %85'in üzerinde benzer ve diğer tüm grupların birbirleriyle %75'in üzerinde benzer oldukları belirlenmiştir. Gruplar arası benzerlik yüzdesi Şekil 3.8'de görüldüğü gibidir.



**Şekil 3.7.** Test edilen bazı *S. Aureus* izolatlarının PFGE profilleri . 1.ve 15. çukur, marker; 2: Y-8 a; 3: satır-1; 4: Burun; 5: E 1-6; 6:E 1-7; 7:E 1-10; 8: E 2-18; 9 :İ-1; 10: İ-2; 11: İ-3; 12: İ-5; 13: İ-6; 14: İ-7



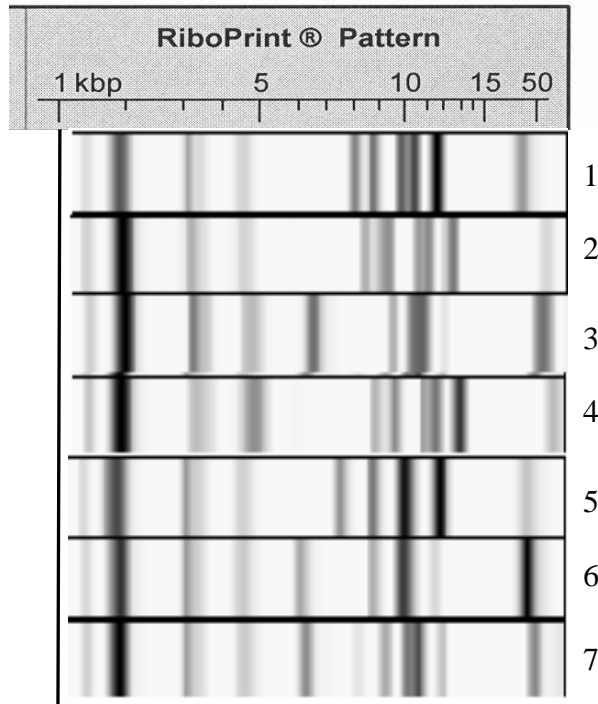
**Şekil 3.8.** *S.aureus* izolatlarının PFGE analizi ile benzerlik oranları

**Çizelge 3.8.** İzolatların PFGE analizine göre oluşturdukları gruplar

<b>İzolat</b>	<b>Kaynak</b>	<b>PFGE grubu</b>
KASAP 1		
Y-8-A.Kuşbaşı Et	Kasap	6
Y-8.Kesim Yeri	Kasap	1
Y-11	Gıda Elleyicisi-Kasap	8
Y-15.Et Çengeli	Kasap	1
Y-17.Kıyma Makinesi	Kasap	5
Y-18.Et Leğeni	Kasap	2
Y-19.Kıyma Et	Kasap	2
Y-20. Et	Kasap	8
Y-20-A. Sucuk	Kasap	1
Y-Satır	Kasap	5
Y-Makine-6	Kasap	2
Y-* Tavuk	Kasap	5
KASAP 2		
E-1-6 Sucuk	Kasap	1
E-1-7 Et	Kasap	6
E-1-10 Salam	Kasap	1
E-2-17 Sucuk	Kasap	1
E-2-18 Sucuk	Kasap	1
Dana Eti –A	Kasap	9
Tahta	Kasap	2
Satır-1	Kasap	5
Burun	Gıda Elleyicisi-Kasap	7
PASTANE		
İ-8.Sakızlı Don.	Pastane	4
İ-1	Gıda Elleyicisi-Pastane	3
İ-3	Gıda Elleyicisi-Pastane	3
İ-2	Gıda Elleyicisi-Pastane	4
İ-6.Karamelli Don.	Pastane	3
İ-7	Gıda Elleyicisi-Pastane	4
İ-5.Çilekli Don.	Pastane	4

### 3.3.2.2. Ribotiplendirme

Bu çalışmada, 32 izolatın *Eco* RI enzimi kullanılarak ribotiplendirme ile benzerlikleri araştırılmıştır. İzolatların Ribotiplendirme yöntemine göre oluşturduğu ribogruplar Çizelge 3.9'da görülmektedir. Benzer band profilleri oluşturan yedi grup belirlenmiştir. Şekil 3.9'da test edilen izolatlar ve bunların ribogruplarını verilmektedir.

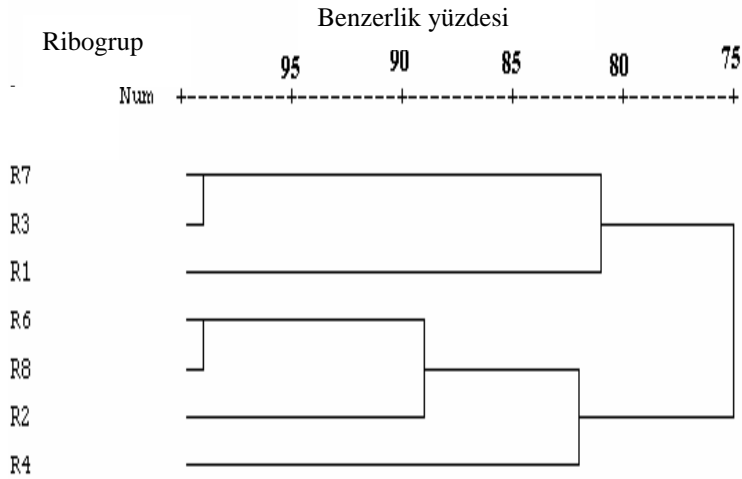


Şekil 3.9. *S.aureus* izolatlarının ribotiplendirme profilleri

Birinci grup; NRRL B 767, E 2-17, E 2-18, E 1-10, E 1-6, Y-15, Y-7, Y-8, Y-18, Burun ve Y-tahta izolatlarından oluşmuştur. İkinci grupta sadece Y-20-A izolatı yer almaktadır. İ-5, İ-7, İ-8, İ-3, İ-6 Y-20, Y-11, E 1-7 Y-8 A,Y-satır, Y-17 izolatları üçüncü grubu oluşturmuştur. Dördüncü grupta Y-19 izolatı yer almaktadır. Altıncı grupta; Y-1 ve Kıyma izolatları yer almıştır. Yedinci grupta; İ-1, Y-Mak.6

izolatları ve sekizinci grupta ise; Dana eti a, Y-\*, satır-1, İ-2 izolatları benzer band profilleri vererek farklı grupları oluşturmuşlardır.

Oluşan dendograma göre 3. ve 7. grup ile 6. ve 8. grubun birbirlerine yaklaşık % 98 oranında benzer oldukları ve diğer tüm grupların birbirleriyle %75'in üzerinde benzer oldukları belirlenmiştir. Gruplar arası benzerlik yüzdesi Şekil 3.10'da görüldüğü gibidir.



Şekil. 3.10. Ribotiplendirme gruplarının benzerlik yüzdesi

Çizelge 3.9. İzolatların Ribotiplendirme yöntemine göre oluşturdukları gruplar

İzolat	Kaynak	Ribotiplendirme grubu
NRRL B 767	United States Department of Agriculture, A.R.S	1
KASAP 1		
Y-1.Kuşbaşı Et	Kasap	6
Y-7.Kuzu Eti	Kasap	1
Y-8.Kesim Yeri	Kasap	1
Y-8-A.Kuşbaşı Et	Kasap	3
Y-11	Gıda Elleyicisi-Kasap	3
Y-15.Et Çengeli	Kasap	1
Y-17.Kıyım Makinesi	Kasap	3



**Çizelge 3.9. (Devam)** İzolatların Ribotiplendirme yöntemine göre oluşturdukları gruplar

<b>İzolat</b>	<b>Kaynak</b>	<b>Ribotiplendirme grubu</b>
Y-18.Et Leğeni	Kasap	1
Y-19.Kıyma Et	Kasap	4
Y-20. Et	Kasap	3
Y-20-A. Sucuk	Kasap	2
Y-Satır	Kasap	3
Y-Makine-6	Kasap	7
Y-* Tavuk	Kasap	8
Y-Tahta	Kasap	1
KASAP 2		
E-1-6 Sucuk	Kasap	1
E-1-7 Et	Kasap	3
E-1-10 Salam	Kasap	1
E-2-17 Sucuk	Kasap	1
E-2-18 Sucuk	Kasap	1
Kıyma	Kasap	6
Dana Eti –A	Kasap	8
Satır-1	Kasap	8
Burun	Gıda Elleyicisi-Kasap	1
PASTANE		
İ-8.Sakızlı Don.	Pastane	3
İ-1	Gıda Elleyicisi-Pastane	7
İ-3	Gıda Elleyicisi-Pastane	3
İ-2	Gıda Elleyicisi-Pastane	8
İ-6.Karamelli Don.	Pastane	3
İ-7	Gıda Elleyicisi-Pastane	3
İ-5.Çilekli Don.	Pastane	3

#### 4. TARTIŞMA , SONUÇ ve ÖNERİLER

*S. aureus*, yumuşak doku enfeksiyonları, toksik şok sendromu, solunum sistemi enfeksiyonları, endokardit, besin zehirlenmesi, septik artrit, osteomyelit, menenjit, sepsis ve bakteriyemi gibi bir çok enfeksiyonun primer etkenidir [41, 70]. Ayrıca gıdalarda zehirlenmelere yol açan ve hastane enfeksiyonlarında ilk sıralarda yer alan fırsatçı patojendir. Tüm yaş gruplarında enfeksiyonlara neden olur ve her yerde bulunabilir. Enfekte kişiler ve sağlıklı taşıyıcılar bu hastalığı yaydıkları için belli servisler, ameliyathaneler ve gıda işletmeleri için özel bir tehlike arzederler. Son yıllarda cerrahi yara enfeksiyonlarının en büyük etkeni olarak tanımlanmışlardır.

Hayatı tehdit eden nozokomiyal enfeksiyonlardan en sık soyutlanan etkenlerin başında gelen Stafilokoklar, antibiyotiklere karşı gittikçe artan dirençlilikleri sebebiyle gerek hastanelerde ve gerekse toplum kökenli enfeksiyonlarda büyük bir sağlık sorunu haline gelmiştir [33, 36, 41, 70].

Özellikle kişisel temas ile yayılmakta, daha seyrek olarak ta hava yolu ve kontamine eşyalar ile temas sonucu bulaşmaktadırlar. Hastane ortamında bakterinin enfekte kişiden sağlık personelinin elleri ve giysileri ile aktarılması önemli bir bulaşma yoludur. İnsan ve hayvanlarda sebep oldukları apse, sivilce ve enfekte yaralarda yerleşerek buralardan gıda maddelerine bulaşabilirler. Yetişkinlerde burun, *S. aureus*'un en yoğun bulunduğu bölgelerden biridir. Nazal taşıyıcılık oranı genel popülasyonda %10-40 arasında değişmektedir. Bu gibi kişiler kendileri ve başkaları için tehlike kaynağıdırlar. Bunların herhangi bir gıdanın hazırlanması, depolanması veya dağıtılmasında çalışması o gıdanın söz konusu mikroorganizmalarla bulaşma olasılığını arttırmakta, bu kişilerce kontamine edilen gıdalar besin zehirlenmesine neden olmaktadır. *S. aureus* enfeksiyon ve besin zehirlenmesi geliştirme riski açısından, gıdalar ile sürekli içli dışlı olan gıda elleyicilerinin özellikle burun patojen mikroorganizma taşıyıcılığının toplum için ne kadar büyük bir risk oluşturduğu ortadadır [1].

Gıda enfeksiyon ve intoksikasyonlarına neden olan çok sayıda mikroorganizmadan sadece bazıları çok özel öneme sahiptir. *S. aureus*'da bu bakterilerden biridir. Neden olduğu patojenitenin en alt düzeye indirilmesi için verilen uğraşlara karşın enfeksiyon ve intoksikasyonların istenilen düzeyde azalmaması, gıda kaynaklı bu patojen ve toksinlerin gıdalarda her geçen gün daha güvenilir yöntemlerle ve doğru olarak belirlenmesini zorunlu hale getirmektedir.

Gerek enfeksiyonlara yol açmadaki patojenitesi ve gerekse gıdalarda meydana getirdiği zehirlenmeler sebebiyledir ki; bu bakterinin üzerinde çok sayıda araştırma yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir.

Çalışmamızda kullandığımız izolatlar Kütahya İli'nde çok geniş dağıtım kapasitesine sahip ve çoğu ürünlerinde Türk Gıda Kodeksi'ne göre üretim sertifikası almış olan; kasap, mandıra ve pasta imalathanelerinden toplanmıştır.

Bu amaçla, büyük bir pasta imalathanesi, her türlü büyük baş, küçük baş ve kümes hayvanı et çeşitlerini bünyesinde bulunduran kasaplar; yine çok fazla süt ve süt ürününün işlendiği mandıralar seçilmiştir. Aynı zamanda imalathanelerin ilin değişik mahalle ve semtlerinde ürünlerini pazarladıkları satış noktalarından da gıda numuneleri alınmıştır. Süt ürünleri işlendikleri mandıralara ildeki köylerden büyük süt tanklarıyla gelmektedir. Bunun yanında belirli köylerden imkanlar ölçüsünde süt ve süt ürünleri steril kavanozlara alınarak ve soğuk zincir halkasıyla laboratuvara getirilmiş ve analize alınmıştır. Yine farklı mandıralardan, kasaplardan, pastanelerden, semt pazarlarından alınan gıda numuneleri aynı şartlarda analiz için laboratuvara getirilerek, incelemeye alınmıştır.

İkinci grup izolasyon olan gıda elleycileri ve alet ve ekipmandan örneklerin alınmasında, örneklerinin işlendiği yerlerdeki gıdalarla direkt temas eden kişilerin boğaz-burun kültürlerinden, ellerinden ve de kullanılan alet ve ekipmandan örnek alımı gerçekleştirilmiş ve laboratuvara getirilerek analiz edilmiştir.

Üçüncü grup izolasyonda ise, Kütahya Halk Sağlığı Laboratuvarı'na kültür amaçlı gönderilen hastalardan izole edilen kulak, burun, boğaz, balgam, gaita, yara, abse, meni gibi değişik klinik materyaller alınmış ve incelenmiştir.

Çalışmamızda 3'ü referans *S. aureus* olmak üzere toplam 109 izolat biyokimyasal testlere tabii tutularak identifiye edilmiştir.

Çalışmamızda izolatların identifikasyonu için geleneksel identifikasyon yöntemlerine paralel olarak farklı test gruplarını içeren Vitek analizörü (Vitek Microbiology Reference Manual, BioMerieux, Inc. Box 15969 Durham, North Carolina 27704-0969/USA) GPI kartı kullanılarak tüm izolatların %99 oranında *S. aureus* olduğu doğrulanmıştır. Ayrıca hem geleneksel yöntemlerle hem de Vitek GPI kartında da yer alan aynı karbonhidrat türleri olan sukroz, laktoz, ksiloz, rafinoz, mannitol, arabinoz, trehaloz karbonhidratlarıyla şeker testleri yapılmış, sonuçlar uyumlu bulunmuştur. Yine geleneksel yöntemlerle yapılan üre testi de Vitek analizörü ile uyumlu bulunmuştur.

Odemeru ve ark. [19] gıda zehirlenmelerine yol açan bakterileri geleneksel yöntemler ve Vitek analizörü ile identifiye etmişler ve Vitek analizörü ile identifikasyonun geleneksel yöntemlerle yapılan identifikasyonla karşılaştırıldığında bu yöntemin işgücünü ve insan kaynaklı hataları azalttığını, özellikle gıda zehirlenmelerine yol açan bakterilerin identifikasyonunda güvenilir ve spesifik bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada araştırmacılar Gülhane Askeri Tıp Akademisi mutfağında çalışan ve gıda işi ile uğraşan personelin ellerindeki bakteriyel kontaminasyonu belirlemeyi amaçlamışlardır. Gıda işi ile uğraşan personelin eldiven giymeden ve giydikten sonra alınan örnekleri incelenmiş ve en yaygın bakteri olarak %70 oranında *S. aureus* bulunurken, bunu %56.7 ile Koagülaz Negatif Stafilokoklar, %21.7 ile Difteroid basiller, %10.5 ile Basillus türleri, %7.8 ile *Escherichia coli* takip etmiştir. *S. aureus* ve *Escherichia coli*'nin yüksek oranlarda görülmesi; zayıf hijyen olarak belirtilmiştir.  $X^2$  testi ile yaptıkları istatistiksel analiz sonuçlarına göre eldiven giyildikten sonra elde edilen bakteriyel yük oranı ile eldiven giyilmeden önce elde edilen bakteriyel yük oranı arasındaki ilişki incelendiğinde, eldiven giyildikten sonra kaydedilen bakteriyel yükün daha düşük olduğunu ve ( $p < 0.05$ ) değeri bulmuşlardır, bu sonuç anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Araştırmalarının sonucunda gıda elleycilerinin önemli bir kontaminasyon kaynağı olduklarını, kurumların gıda güvenliği açısından personel hijyenine önem vermeleri gerektiğini önermişlerdir [11].

Shale ve ark. [32] Güney Afrika'da farklı mezbahalardaki kesim yerlerindeki inek etlerinden izole ettikleri Stafilocok türleriyle yaptıkları araştırmada karkaslardan bulaşan stafilocokların kontaminasyon seviyesini azaltıcı hijyen uygulamalarının yetersiz olduğunu belirtmişler ve gıda elleycilerinden, yüzeyden, ekipman ile çevreden kaynaklanan Stafilocokal kontaminasyon seviyesinin azaltılması için üretim aşamasında hijyen kriterlerinin yeniden gözden geçirilmesini tavsiye etmişlerdir.

*S. aureus* izolatlarının Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapılan antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre mupirosin, teikoplanin, vankomisin'e karşı direnç saptanmamıştır. İzolatların % 91,74'ü penisilin G'ye karşı dirençli bulunmuştur.

Saçılık [45], değişik hastanelerden topladığı izolatların tümünün vankomisine duyarlı olduğunu, MSSA izolatlarının %91.70'inin penisilin G'ye dirençli olduklarını bildirmiştir.

Gündoğan ve ark. [50]; et ve tavuk örneklerinden izole ettikleri *S.aureus* izolatlarında antibiyotik direncini Kirby-Bauer yöntemiyle araştırmışlar %67.5'inin metisiline, %87.5'inin basitrasine, %53.8'inin penisilin-Gye ve %7.5'inin ise eritromisine dirençli olduğunu; tüm izolatların ise vankomisine, duyarlı olduklarını belirtmişlerdir. Araştırmacılar, penisilin-Gye olan direnci hayvan ve insanlarda tedavi amacıyla çok yaygın bu antibiyotiğin kullanıldığına bağlamışlardır. Özellikle gıdalardaki antibiyotik dirençli izolatların, gıda hazırlanmasında zayıf sanitasyonun göstergesi olabileceğini ve de tüketicinin sağlığı yönünden risk taşıyabileceğini vurgulamışlardır.

Tondo ve ark. [67]; süt ürünleri işleyen bir fabrikadaki gıdaların *S. aureus* ile kontaminasyonu analizinin yapılması ve değerlendirilmesinde; PFGE ve antibiyotik direncini araştırmışlardır. Çalışmalarında penisilin G, eritromisin, klindamisin, oksasilin, sephalotin, gentamisin, sulfametoksazol/trimethofrim ve vankomisin antibiyotiklerinden yararlanmışlardır. Bu amaçla personelden, işlenmemiş süttten ve işlenmiş süt ürünlerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarını değerlendirmişlerdir. İzolatların penisilin G'ye sırasıyla %94.4, %47.3 ve %50 oranlarında direnç gösterdiklerini; oksasilin,

sephalotin, gentamisin, sulfametoksazol/trimethofrim ve vankomisin'e karşı ise duyarlı olduklarını tesbit etmişlerdir .

Pesavento ve ark. [33]; işlem görmemiş et ürünlerinden izole ettikleri *S. aureus* izolatlarında antimikrobiyal direnç profillerini araştırmışlar ve toplam 42 izolatta gerçekleştirdikleri çalışmada izolatların tümünün metisilin, teikoplanin ve vankomisine karşı duyarlı olduklarını belirlemişlerdir. Sonuç olarak sadece nozokomiyal değil, çevresel kaynaklı izolatlarda da antibiyotiklere karşı direncin olduğunu belirlemişlerdir.

Vankomisine ve teikoplanine karşı bulunan duyarlılık oranları ile penisilin Gye karşı bulunan dirençlilik oranları bizim çalışma sonuçlarımızla benzer bulunmuştur.

Prassana ve Thomas [56]; farklı yıllarda yaptıkları çalışmalarda antibiyotik kullanımının artmasıyla birlikte antibiyotiklere karşı duyarlılığın azaldığını bulmuşlardır. Yine aynı çalışmada araştırmacılar vankomisin ile yaptıkları çalışmalarda 1995 yılında %1.4 oranında orta derecede duyarlılık belirlerlerken, 1996'da bu oranın %1.1'e düştüğünü bildirmişlerdir. Çalışmalarında elde ettikleri bulgularla gelecekte *S. aureus* izolatları arasında vankomisine direncin gelişebileceği yönünde tahminde bulunmuşlar ve bu direncin genetik ve mikrobiyolojik çalışmalarla doğrulanacağını belirtmişlerdir.

Çalışmamızda gıda elleyicilerinin burun sürüntülerinden ve bu kişilerin çalıştıkları işletmelerden alınan gıdalardan izole edilen *S. aureus* izolatları arasındaki antibiyotik direnci ilişkisi  $X^2$  testi ile yapılarak belirtilmiştir Gıda elleyicileri ve gıdalardaki *S. aureus* izolatlarının bu antibiyotiklere karşı duyarlılıkları arasında istatistiksel olarak fark olmadığı saptanmıştır ( $p>0.05$ ).

SET-RPLA Stafilokokkal Enterotoksin test kitiyle, A, B, C ve D stafilokok enterotoksinleri (SEA, SEB, SEC ve SED) belirlenmiştir. Toplam 99 izolat arasında NRRL B 767, Peynir 7 ve Sucuk 2-10 izolatlarının hiçbir enterotoksini üretmediği (%3.03), Peynir 2, Y-4 (tavuk eti), 438 (tavuk) izolatları olmak üzere üç izolatin C ve D enterotoksinlerini birlikte ürettiği (%3.03), geri kalan 93 izolatin tümünün ise D enterotoksini ürettiği (%93.93) belirlenmiştir. Klinik izolatlara SET-RPLA ile toksin analizi uygulanmamıştır.

Atanassova ve ark., [29] işlem görmemiş domuz eti, tuzlanmış et ve kolay hazırlanan tütsülenmiş janbonlardan oluşan toplam 135 örnekte *S. aureus*'un prevelansını ve A'dan D'ye kadar içerdikleri stafilokokal enterotoksinleri klasik kültürel medotlar SET-RPLA ve moleküler yöntem olan PCR ile çalışarak sonuçları karşılaştırmışlardır. Araştırmalarında *S. aureus*'un patojenlik oranı kültür yöntemiyle %25.9'u belirlenirken PCR ile %51.1'i olarak belirlenmiştir. Enterotoksin genlerinin araştırmasında ise işlem görmemiş domuz etlerinde PCR ile %57.1 oranında belirlenen oran kültür+SET-RPLA ile %34.6; tuzlanmış etlerde ise PCR ile %8, kültür+SET-RPLA ile %25; tütsülenmiş janbonlarda PCR ile %37.5 oranında belirlenirken, kültür+SET-RPLA ile hiçbir enterotoksin genine rastlanmamıştır. Çalışmalarında stafilokokal genlerin PCR yöntemiyle SET-RPLA testinden daha hızlı ve daha kolay belirlenebileceğini belirtmişlerdir .

Villard, L. ve ark. [20] Fransa'da süt ürünlerinde gıda zehirlenmelerinde ikinci etken olan *S. aureus*'un enterotoksin üreten ve enterotoksin üretmeyen izolatlarını *SmaI* enzimi ile PFGE yöntemini kullanarak tiplendirmişlerdir. Enterotoksin D üreten izolatların tek profil oluşturduğunu, enterotoksin D'nin de gıda zehirlenmelerine en çok neden olan enterotoksin A'dan sonra geldiğini, bu durumda oluşan tek pulsotipin ilginç olduğunu belirtmişlerdir.

Fueyo, J.M., ve ark. [31], insan ve gıda örneklerinden izole ettikleri *S. aureus* izolatlarının A, B, C, D enterotoksinlerinden hangi toksinleri üretilip üretilmediğini SET-RPLA ve PCR yöntemleriyle belirleyerek sonuçları karşılaştırmışlardır. SET-RPLA testi ile elde ettikleri sonuçlara göre izolatların %44'ünün sadece SEC enterotoksinini, %32'sinin sadece SEA enterotoksinini, %16'sının SEDJ enterotoksinini ürettiklerini geri kalan izolatların ise birden fazla enterotoksinini birlikte ürettiklerini belirlemişlerdir. SEC enterotoksininin taşıyıcı kişilerle gıdalara taşındıklarını savunmuşlardır.

Normanno ve ark. [15] yaptıkları çalışmada *S. aureus* izolatlarının çoğunun Stafilokokal Enterotoksin (SE) üretme yeteneğinde olduğunu, gıdalarda bu SE formasyonunun uygun önlemler alınmadığı takdirde tüketiciler için potansiyel bir risk taşıdığını belirtmişlerdir. Ayrıca gıdaların tüm işlem basamaklarında güçlü hijyen ve sanitasyon standartlarının uygulanmasının gerekli

olduğunu ve gıdaların pişirildikten yenilinceye kadar geçen sürede buzdolabında ve 7° C'nin altında bekletilmesini önermişlerdir.

SET-RPLA test kitiyle, toplam 99 izolattan 93 izolatin sadece D enterotoksini, üç izolatin ise C ve D enterotoksinlerini birlikte üretmesi, bu konuda yapılan çalışmalarda da belirtildiği gibi gıda zehirlenmelerine en fazla neden olan enterotoksin A'dan sonra gelen enterotoksin D'nin izolatlarımızda yüksek oranda bulunması toplu gıda zehirlenmelerinin zaman zaman gündeme geldiği ülkemizde tükettiğimiz gıdaların ne derece riskli olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda SET-RPLA testinin rutin laboratuvar çalışmalarında kullanışlı olacağı belirlenmiştir. Fakat bu testin yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlar verebileceği çalışmalarda belirtilmiştir [81].

Çalışmamızda SDS-PAGE ile izolatların protein profilleri belirlenmiştir. Aynı molekül ağırlığına sahip proteinler jel üzerinde benzer bandlar oluşturmuştur. Band oluşumlarının standart marker bandlarıyla ve standart referans *S. aureus* izolatına ait bandlarla uyumlu olduğu gözlenmiştir. Bazı kısımlarda molekül ağırlıkları aynı ya da birbirine çok yakın olan bu bandların, birbirleriyle çakışarak net bir ayırım yapılamamıştır.

Berber ve ark. [88] SDS-PAGE ile *Stafilokok* türlerinin toplam hücre ve ekstrasellüler proteinlerini belirledikleri çalışmalarında, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. simulans* ve diğer *Stafilokok* türlerinin protein profillerinin analizinde birkaç bantta farklılık belirlemişler ve bu yöntemin *Stafilokok* türlerinin ayırımında güvenilirliğinin yetersiz olduğunu savunmuşlardır.

Araştırmacılar SDS- PAGE metodunun kolay tekrarlanabilir olması ve dendogramlarda elde edilen proteinlerin molekül ağırlıklarına göre hareket etmesinden dolayı yöntemin üstün olduğunu belirtmişlerdir [60, 61].

Çalışmamızda özellikle aynı yerde çalışan kişilerle oradaki gıdalardan ve alet-ekipmandan izole ettiğimiz izolatlar arasında, diğer izolatlardan farklı olarak belirgin bir band ayırımı gözlenmemiştir. Elde ettiğimiz dendograma göre oluşan grupların aralarındaki benzerlik yüzdesi düşük olarak belirlenmiştir. Bu nedenle *S. aureus* izolatlarının identifikasyonunda daha duyarlı yöntemlerin kullanılması gerektiği kanaatindeyiz.



Tüm izolatların hücresele yağ asitleri Microbial Identification System (MIS) kullanma klavuzuna göre hazırlanarak, Gaz Kromatografisi cihazında tanımlanmıştır. Kütüphanede yüklü yağ asitleri çalışmamızda kullandığımız izolatlar ile karşılaştırılmış ve bir bölüm 39 izolatın veri tabanında karşılığı bulunamazken, analize alınan toplam 109 izolatın 22'si (% 20.18) Stafilokok sp. (*S. xylosus*, *S. warneri*, *S. simulans*,) olarak tanımlanmış ve bu izolatlar içerisinde sadece 7'si (% 6.42) *S. aureus* olarak belirlenmiştir.

Test edilen izolatlar, içerdikleri yağ asitlerine göre birbiriyle ilişkili A, B, C, D, E olmak üzere 5 ana grup oluşturmuşlardır. Bu gruplarda yağ asitleri bulunma oranının çok yüksek olduğu ve ortak olarak bulunan yağ asitleri 14:O ISO, 15:O ISO, 15:O ANTE ISO, 16:O, 17:O ANTE ISO, 18:1W9C yağ asitleri olmakla birlikte 15:O ANTE ISO yağ asitinin tüm izolatlarda bulunma oranının % 99.09, ortalamasının; 43,12, Standart sapmasının; 7,87 oranında olduğu belirlenmiştir. Oluşan dendograma göre gruplar içerisindeki izolatlar arasındaki mesafe izolatların tamamına yakın kısmında 10 ve daha altında olduğu ve bu izolatların aynı türe ait olabileceği belirlenmiştir. En düşük oranda bulunan yağ asitleri ise %0.91 oranıyla 10:OO,12:O3OH, 14:OANTEISO, 16:OALCOHOL, 16:1W11C, ISO17:1W9C, 18:O2OH,20:1W7C yağ asitlerinde elde edilmiştir.

Aynı yerden izole edilen Y-17, Y-18, Y-20-A, Y-19, Y-20, Y-7, Y-Mak.6, Y-satır, Y-8, Y-8-A, Y-4, Y-11, Y-1, Y-15 izolatları; E 2-17, E 2-18, E 1-10, E 1-6, burun, kıyma; K-1, tahta, Dana eti a, Baget 14, Bonfile 13, sucuk22.9 izolatları ile yine aynı yerden izole edilen İ-5, İ-7, İ-8, İ-3, İ-6 İ-1, İ-2 izolatları; farklı yerlerden izole edilen izolatlarla benzer yağ asiti profili oluşturmuşlardır.

Stoakes ve ark. [57]; Gaz-Sıvı Kromatografisi 'ni kullanarak, Microbial Identification System (MIS) ile Stafilokokların tanımlanması için hücresele yağ asitlerini belirlemişlerdir. Bu amaçla geleneksel yöntemlerle tanımladıkları 76 *S. aureus* izolatlarının analiz sonuçlarını, MIS ile elde ettikleri yağ asitleri analiz sonuçları ile karşılaştırmışlardır. Analize aldıkları izolatların 69'unun analiz sonuçları her iki yöntemle de uyumlu bulunurken; 7 *S. aureus* izolatının ise bu sistemde karşılığı bulunamamıştır. Buna karşılık *S. cohnii*, *S. epidermidis*, *S. intermedius*, *S. lugdunensis*, *S. schleiferi*, *S. sciuri*, *S. simulans*, *S. xylosus* izolatlarının her iki yöntemle de analiz sonuçlarını uyumlu bulmuşlardır. *S. aureus*

izolatlarının yağ asiti bileşenlerinin, hiç isimlendirilemeyen ya da yanlış isimlendirilen tüm koagülaz negatif Stafilokok izolatlarının yağ asiti bileşenlerinden farklı olduğunu belirlemişlerdir. İsimlendirilemeyen 7 *S. aureus* izolatına ait yağ asiti bileşenlerinin, doğru identifiye edilen diğer *S. aureus* izolatlarına ait yağ asiti bileşenleriyle aynı olduğunu ve 3-6 arasında maksimum ya da minimum pik veren değerler elde ettiklerini belirtmişlerdir.

Araştırmacılar *S. aureus* izolatlarına ait yağ asiti profillerinin diğer bakterilerin yağ asiti profillerinden farklı olduklarını ve bunun da *S. aureus* izolatlarının diğer türlerden ayırımlarında kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Çalışmalarında MIS ile 470 Stafilokok izolatının identifikasyonunda % 87.8 oranında doğru identifikasyon gerçekleştirdiklerini ve bu yöntemin Stafilokokların identifikasyonunda alternatif bir yöntem olabileceğini belirtmişlerdir [57].

*S. aureus* izolatlarının hücresel yağ asitleri analizi ile yaptığımız identifikasyonda kullanılan NRRLB-767 *S. aureus* izolatının içerdiği yağ asitleri diğer izolatların yağ asitleriyle benzer bulunmuş olmasına rağmen MIS 'in veri tabanında izolatların tümü *S. aureus* olarak tanımlanmamıştır. Ancak, biyokimyasal testlerle ve Vitek ile *S. aureus* olduğu önceden ispatlanan bu izolatların *S. aureus* yağ asitleri kütüphanesi oluşturulmuştur. Bundan sonraki *S. aureus* yağ asidi ile identifikasyon çalışmalarında bu kütüphane temel teşkil edecektir.

Krishnan ve ark. [54] 1994-1998 yılları arasında Bangalere 'deki bir hastanenin yanık ünitesinde (Hindistan) yaptıkları bir çalışmada; PFGE ile yapılan tiplendirmede 12 farklı patern gözlemişler ve izolatların yarısından çoğunu tek patern oluşturduğunu belirlemişler ve aynı araştırmacılar izolatların ayırımında antibiyogramla identifikasyonu ayırt edici bir metot olarak önermemişlerdir. Hindistan'dan izole ettikleri bu izolatların endemik izolatlar olup, bunların Amerika Birleşik Devletleri'nde çoğu çalışmalarda kaydedilen MRSA izolatlarından olduğunu belirtmişlerdir.

*S. aureus* izolatlarının identifikasyonunda genotipik yöntemlerin kullanılması, fenotipik yöntemlerle kıyaslandığında bu yöntemlerin daha güvenilir ve daha spesifik olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda fenotipik analizlerin yanında genotipik analiz yöntemleri olan PFGE ve Ribotiplendirme yöntemleri kullanılmıştır.

PFGE analiz yöntemiyle, gıda örneklerinin işlendiği yerlerdeki gıdalarla direkt temas eden kişilerin boğaz-burun kültürlerinden, ellerinden ve de kullanılan alet ve ekipmandan izole edilen 28 izolatin genotipik benzerlikleri *SmaI* enzimi kullanılarak araştırılmıştır.

Hennekinne ve ark. [86]; *SmaI* enzimini kullanarak 73 *S. aureus* ve 1 *S. simulans* izolatu PFGE analiz yöntemiyle analiz etmişler ve 62 patern oluşturduğunu gözlemlemişlerdir. Birbirleriyle %20 oranında benzerlik gösteren iki grubun oluştuğunu, bu gruplardan *S. aureus* izolatlarının birinci grubu oluşturduğunu ve bunun da birbiriyle %50 oranında benzerlik gösteren 14 alt grubu olduğunu, diğer grubun ise sadece *S. simulans* izolatu içerdiğini belirlemişlerdir. Aynı biyotipler içerisindeki izolatların %86'sının aynı alt grupları oluşturduklarını ve pulsotip ve biyotipler arasında bu derece güçlü bir korelasyonu ilk kez kendi çalışmalarında gösterdiklerini savunmuşlardır. Çalışmalarında mezbahaya ait biyotip izolatlarının özel bir PFGE grubu oluşturduklarını belirlemişlerdir.

Benzer bir çalışmayı Vanderlinde ve ark. [87] mezbahadan, karkaslardan, ellerden ve çevre örneklerinden izole ettiği koagülaz pozitif *Stafilokok* izolatlarını *SmaI* enzimini kullanarak PFGE analiz yöntemiyle analiz etmişlerdir. Hayvanların organları çıkarılmadan önceki ve sonraki paternlerinin birbirinden farklı olduklarını bulmuşlardır. Hayvanların organları parçalandıktan sonra elde edilen paternlerle burada çalışan kişilerin el izolatlarının paternleri %93 oranında benzer bulunmuş, bunun da nedeninin özellikle parçalama sırasında oluşan kontaminasyonla ellerden etlere portörlükle geçebileceğini belirtmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada tüm izolatlardan sadece Bonfile-13, Y-11, Y-8-a, Yağ 25, ve G.T. idrar izolatlarında metisilin direnci belirlenmiştir. Çalışmada özellikle aynı yerden izole edilen gıdalar ve buralardaki gıda elleycilerinin antibiyotik duyarlılık testleri benzer bulunmuştur.

SET-RPLA Stafilokokal Enterotoksin test kitiyle, A, B, C ve D stafilokok enterotoksinleri belirlenmiş olup klinik izolatlar hariç toplam 99 izolat arasında sadece üç izolatin hiçbir enterotoksin üretmediği (%3.03), üç izolatin C

ve D enterotoksinlerini birlikte ürettiği (%3.03), geri kalan 93 izolatın tümünün ise D enterotoksinini ürettiği (%93.93) belirlenmiştir. Aynı yerden izole edilen gıdalar ile buralardaki gıda elleyicilerinin aynı enterotoksinleri üretmeleri bu enterotoksinin taşıyıcı kişilerle gıdalara taşınabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda SDS-PAGE ile *S. aureus*'un protein profillerinin belirlendiği tiplendirme yönteminde izolatlar ile elde edildikleri kaynaklar arasında bir ilişki belirlenememiştir.

*S. aureus* izolatlarının hücresel yağ asitleri MIS kullanılarak, Gaz Kromatografisi cihazında tanımlanmıştır. Test edilen izolatlar, içerdikleri yağ asitlerine göre birbiriyle ilişkili A, B, C, D, E olmak üzere 5 ana grup oluşturdukları ve bu gruplarda yağ asitleri bulunma oranının çok yüksek olduğu ve ortak olarak bulunan yağ asitleri 14:O ISO, 15:O ISO, 15:O ANTE ISO, 16:O, 17:O ANTE ISO, 18:1W9C yağ asitleri olmakla birlikte 15:O ANTE ISO yağ asitinin tüm izolatlarda bulunma oranının % 99.09, ortalamasının; 43,12, standart sapmasının; 7,87 oranında olduğu belirlenmiştir. En düşük oranda bulunan yağ asitleri ise %0.91 oranıyla 10:OO,12:O3OH, 14:OANTEISO, 16:OALCOHOL, 16:1W11C, ISO17:1W9C, 18:O2OH,20:1W7C yağ asitlerinde elde edilmiştir.

Aynı yerden izole edilen Y-17, Y-18, Y-20-A, Y-19, Y-20, Y-7, Y-Mak.6, Y-satır, Y-8, Y-8-A, Y-4, Y-11, Y-1, Y-15 izolatları; E 2-17, E 2-18, E 1-10, E 1-6, burun, kıyama; K-1, tahta, Dana eti a, Baget 14, Bonfile 13, sucuk22.9 izolatları ile yine aynı yerden izole edilen İ-5, İ-7, İ-8, İ-3, İ-6 İ-1, İ-2 izolatları; farklı yerlerden izole edilen izolatlarla benzer yağ asiti profili oluşturmuşlardır.

PFGE analiz yöntemiyle yapılan analizde sekiz farklı band profili ortaya çıkmıştır. Oluşan dendograma göre 1 ve 3. grubun birbirlerine yaklaşık % 98 oranında benzer olduğu; bu iki grubun 6. grup ile %85'in üzerinde benzer ve diğer tüm grupların birbirleriyle %75'in üzerinde benzer oldukları belirlenmiştir.

E 2-17, E 2-18, E 1-10, E 1-6, Dana eti a, Y-8, Y-15- Y-20-a izolatları birinci grup; Y-18, Y-19, Y-Mak.6, Tahta izolatları ikinci grup; İ-1, İ-3, İ-6 izolatları üçüncü grup; İ-2, İ-5, İ-7 izolatları dördüncü grup; Y-satır, Y-\*, Y-17, satır-1 beşinci grup; Y-8 a, E 1-7; altıncı grup; Burun izolatı yedinci grup ve Y-20, Y-11 izolatları da benzer band profilleri vererek sekizinci grubu oluşturdukları belirlenmiştir.

Birinci grubu oluşturan E 2-17, E 2-18, E 1-10, E 1-6, Dana eti a; izolatları aynı kasaptan, Y-8, Y-15- Y-20-a izolatları bir başka kasaptan izole edilmiştir. Aralarında %98 benzerlik oranı bulunan üçüncü gruba ait İ-2, İ-5, İ-7 izolatlar aynı pastaneden izole edilmiş ve birbirinden farklı örneklerdir. Yine bu iki grubun %85 oranında benzer olduğu Burun izolatı ilk grubu oluşturan örneklerin bir kısmıyla aynı kasaptan izole edilmiştir. Gruplar arası benzerlik oranının yüksek olması, portörler aracılığıyla bakterinin gıdalara, alet ekipmana bulaştığını ve en son tüketiciye ulaşım gıda zehirlenmelerine yol açabileceği görülmektedir.

Çalışmamızda, gıda örneklerinin işlendiği yerlerdeki gıdalarla direkt temas eden kişilerin boğaz-burun kültürlerinden, ellerinden ve de kullanılan alet ve ekipmandan izole edilen 32 izolatın genotipik benzerlikleri *EcoRI* enzimi kullanılarak ribotiplendirme yöntemiyle de araştırılmıştır. Benzer band profilleri oluşturan yedi ribogrup belirlenmiştir.

Birinci grubu oluşturan E 2-17, E 2-18, E 1-10, E 1-6, burun; izolatları ile Y-15, Y-7, Y-8, Y-18, Y-Tahta izolatları iki ayrı kasaplardan izole edilmiş ve bu iki grup; referans izolatımız olan NRRL B 767 ile aynı ribogrup içerisinde yer almıştır. İkinci grupta sadece Y-20-a izolatı yer almaktadır. Üçüncü grubu oluşturan İ-5, İ-7, İ-8, İ-3, İ-6 izolatları bir pastaneden, Y-20, Y-11, Y-8 a, Y-satır, Y-17 izolatları bir kasaptan ve E 1-7 izolatları ise diğer bir kasaptan izole edilmiştir. Dördüncü grupta Y-19 izolatı yer almaktadır. Altıncı grupta; Y-15 ve Kıyma izolatları yer almıştır ve farklı kasaplardan izole edilmişlerdir. Yedinci grupta yer alan ve pastaneden izole edilen İ-1 izolatı ile kasaptan izole edilen Y-Mak.6 izolatları tamamen birbirinden farklı yerlerden izole edilmiştir. Sekizinci grupta ise; Dana eti a, satır-1, izolatları bir kasaptan, Y-\* izolatı başka bir kasaptan, İ-2 izolatı ise bir pastaneden izole edilmiş ve benzer band profilleri vererek farklı grupları oluşturmuşlardır.

Oluşan dendograma göre 3. ve 7. grup ile 6. ve 8. grubun birbirlerine yaklaşık % 98 oranında benzer oldukları ve diğer tüm grupların birbirleriyle %75'in üzerinde benzer oldukları belirlenmiştir. Üçüncü ve yedinci grubu oluşturan kasap, pastane örnekleri aynı yerlerden izole edilmiştir. Altıncı grupta iki farklı kasaptan alınan izolatlar yer alırken, yine aynı kasaplardan izole edilen

sekizinci grupta yer alan izolatlarla yüzde benzerlik oranı çok yüksek riboguplar oluşturmuşlardır.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre aynı yerden izole edilen Y-17, Y-18, Y-20-A, Y-19, Y-20, Y-7, Y-Mak.6, Y-satır, Y-8, Y-8-A, Y-4, Y-11, Y-1, Y-15 izolatları; E 2-17, E 2-18, E 1-10, E 1-6, burun, kıyma; K-1, tahta, Dana eti a, Baget 14, Bonfile 13, sucuk 22.9 izolatları incelendiğinde; Y-11 izolatu gıda elleyicisine ait olup bu kişinin öncelikle Y-17 kıyma makinesi, Y-18; et leğeni, Y-satır ,Y-makine-6, Y-15 et çengeli izolatları gibi öncelikle bakteriyi alet ekipmana ve gıdalara bulaştırdığı belirlenmiştir. Yine diğer kasaptan izole edilen izolatlar arasında Burun ve diğer bir gıda elleyicisinden izole edilen K-1 izolatının da bakteriyi aynı şekilde alet ekipmana ve gıdalara bulaştırdığı belirlenmiştir. Pastaneden izole edilen İ-2, İ-1, İ -3, İ-2, İ-7 izolatları gıda elleyicilerinden izole edilmiş olup, pastanedeki gıda örneklerini enfekte ettikleri ve bunlardan izole edilen İ-5, i-6 ve İ-8 izolatlarının benzer yağ asidi profilillerine sahip oldukları belirlenmiştir.

Gerek geleneksel biyokimyasal testler, Vitek, antibiyotik duyarlılık testleri, enterotoksin belirleme testi, SDS-PAGE, yağ asitleri analizleri gibi fenotipik yöntemler ve gerekse genotipik testler olan PFGE ve Ribotiplendirme yöntemleriyle analiz sonuçları incelendiğinde farklı gıda örneklerinin işlendiği yerlerdeki gıdalarla direkt temas eden kişilerin burun kültürlerinden, ellerinden ve de kullanılan alet ve ekipmandan izole edilen izolatlar arasında benzerlik oranlarının yüksek çıkması yayılımın insan kaynaklı olduğu düşüncesini kuvvetlendirmektedir.

### **Sonuç olarak;**

1. Yapılan çalışmada analize alınan örneklerden *S. aureus*' un izole edilmesi amaçlandığı için, bakterinin o örnekte bulunması yeterli kabul edilmiştir. Bu nedenle analize alınan çoğu örnekte bu bakteri izole edilememiştir. Örneklerin zenginleştirme ön-işlemine alınması *S. aureus*' un izole edilme şansını arttıracaktır.

2. Çalışmada izolatların identifikasyonu için klasik biyokimyasal testler yerine farklı test gruplarını içeren Vitek analizörünün kullanılmasının iş gücünü ve insan kaynaklı hataları azaltan ve daha güvenilir bir yöntem olduğu belirlenmiştir. Özellikle gıda zehirlenmelerinde son derece önemli yer tutan *S. aureus*' un identifikasyonunda spesifik bir yöntem olarak kullanılabilir.

3. Bu çalışmada sadece dört gıda ve iki klinik izolatta metisilin direnci belirlenmiştir. Son derece önemli olan metisilin direncinin düşük olarak belirlenmesi sevindiricidir. Mupirosin, teikoplanin, vankomisin'e karşı direnç saptanmamıştır. İzolatların % 91,74'ü penisilin G'ye karşı dirençli bulunmuştur. Penisilin-G'ye karşı yüksek direnç olması bu antibiyotiğin hayvan ve insanlarda tedavi amacıyla çok yaygın kullanıldığının göstergesidir.

4. SET-RPLA Stafilokokal Enterotoksin test kitiyle yapılan çalışmada sadece enterotoksin D üreten izolatların yüzde oranını (%93.93) olarak belirlenirken, C ve D enterotoksinlerini birlikte üreten izolatların yüzde oranı (%3.03) olarak belirlenmiştir. Enterotoksin D üreten izolatların yüzde oranının yüksek olması enterotoksin D'nin de gıda zehirlenmelerine en çok neden olan enterotoksin A'dan sonra geldiği göz önüne alındığında bu gıdaların tüketimi ile meydana gelebilecek gıda zehirlenmeleri açısından sonuç düşündürücüdür.

5. Çalışmamızda SDS-PAGE ile *S. aureus*'un protein profillerinin belirlendiği tiplendirme yönteminde izolatlar ile elde edildikleri kaynaklar arasında bir ilişki belirlenememiştir. Elde edilen dendograma göre oluşan grupların aralarındaki benzerlik yüzdesi düşük olarak belirlenmiştir. Bu nedenle tiplendirme amaçlı *S. aureus* çalışmalarında tercih edilmemelidir.

6. *S. aureus* izolatlarının hücresel yağ asitlerinin (FAME) identifikasyon için kullanılabilmesi için çalışmamızda biyokimyasal testlerle ve Vitek ile doğrulama gerekli olmuştur. Ancak bu çalışma ile 109 *S. aureus* izolatına ait yağ

asitleri kütüphanesi oluşturulmuştur. Bu kütüphane bundan sonraki *S. aureus* yağ asidi ile identifikasyon çalışmalarında temel teşkil edecektir.

7. Bu çalışmada kullanılan PFGE analiz yöntemiyle izolatların kaynak-pulsotip ilişkisi gösterilmiş olup, *S. aureus* epidemiyolojik araştırmalarında güvenilir şekilde kullanılabilceği gösterilmiştir.

8. Çalışmamızda, ribotiplendirme yöntemiyle belirlenen ribogruplar (7 ribogrup) ile pulsotipler (9 pulsotip) tamamen çakışmasa da yüksek oranda benzerlik saptanmıştır. Ribotiplendirme de alternatif bir yöntem olarak kullanılabilir.



## Öneriler

Üreticiden tüketiciye uzanan kontaminasyon zincirinde nazal Stafilokoklar; taşıyıcılar ve başkaları için tehlike kaynağıdır, Enterotoksinleri vasıtasıyla gıda zehirlenmelerine sebep olmaları nedeniyle bu bakterinin halk sağlığı açısından ne denli önemli olduğu görülmektedir. Çevreye kolay yayıldıkları için patojen mikroorganizmayı bulduran yiyeceği alan hemen herkeste görülebilmektedirler ve Stafilokoksik besin zehirlenmelerinin epidemiyolojisi kişiden kişiye karakterize olduğundan, çözüm için deri enfeksiyonu olan ve burun taşıyıcılarının eradikasyonu sağlanmalıdır.

Rutin laboratuvar çalışmalarında gıdalar; Türk Gıda Kodeksi(TGK)'nin ilgili hükümlerine göre değerlendirilmektedir. TGK'nin et ürünleri(10.2.2000-23960 sayılı resmi gazete), hazırlanmış taze etler- hazırlanmış dondurulmuş etler ile hazırlanmış taze et karışımları -hazırlanmış dondurulmuş et karışımları (17.3.2001-24345 sayılı resmi gazete) için yayımladığı mikrobiyolojik kriterlere göre bu tip gıdalarda en fazla  $5 \cdot 10^3$  cfu/gr *S. aureus* bulunabileceği belirtilmiştir.

TGK'nin Süt ve süt ürünleri( peynir, tereyağı, sade ve kakaolu dondurmalar) (2.9.2001-24511 sayılı resmi gazete) için yayımladığı mikrobiyolojik kriterlere göre ise süt ve süt ürünlerinde en fazla  $1 \cdot 10^2$  cfu/gr *S.aureus*'un bulunmasına izin verilmiştir.

Bu çalışmada gıda örneklerinden *S.aureus*' un izole edilmesi amaçlandığı için, *S.aureus*' un gıdada bulunması yeterli kabul edilmiş ve pek çok örnekte sayım yapılmadan identifikasyon çalışmalarına devam edilmiştir. Fakat çoğu gıda örneğinde (analiz için gelen örneklerde), TGK'nin izin verdiği oranın üstünde bakteri ile karşılaşmış ve resmi yoldan Halk Sağlığı Lab.'na gelen gıdaların analiz raporlarında bu durumun T.G.K' nin ilgili kriterlerine uygun olmadığı rapor halinde ilgili resmi kurumlara belirtilmiş, kurumca yapılması gereken yasal işlem prosedürleri başlatılmıştır.

Bu çalışmada resmi yollardan laboratuvara getirilmemiş örneklerin alındığı işletmeler Türk Gıda Kodeksi'ne göre üretim sertifikası almış olmalarına rağmen yer yer hijyen açısından olumsuz durumlarla karşılaşmıştır. Özellikle pasta imalatçıları pastaya şekil verirken eldivenle bu işin zor yapıldığını belirtmişlerdir. İşletmelerde eldiven giyilmesi hususu büyük oranda çözülmüş

olmakla birlikte maske takma alışkanlığı personel tarafından uygulanmamaktadır. Özellikle satış noktalarında dağıtım işi yapan personelde örnek alınan işletmelerin hiç birinde maskeye rastlanılmamıştır.

Çoğu gıda örneklerinde TKG'nin izin verdiği oranın üstünde bakteri ile karşılaşmış olması hijyen yönünden işletmelerin sorgulanması gerektiğini göstermiştir. Portörler aracılığıyla son derece kolay yayılan *S. aureus*' un yayılımının engellenmesi için öncelikle gıda üretim ve tüketimi ile uğraşan kişilerin eldiven ve maske takma alışkanlıkları kişilere kesinlikle kazandırılmalıdır.

Çalışmamızda süt ve süt ürünlerinin üreticiden işlenmemiş alınarak, süt tanklarıyla işletmelere ulaştırıldığını, bu durumun da herhangi bir mastititli ineğin sütünün diğer tüm sütleri enfekte edebileceğini, yine ülkemizde köy peynirleri adında tüketilen peynirlerin hiçbir işleme tabii tutulmadan yapıldığını gözlemledik. Köylerde süt sağım makinalarının çoğu üreticiye göre pahalı bir sistem olduğunu, bu durumda üreticilerin süt sağım işlemini elle ve eldivensiz gerçekleştirdiklerini belirledik. Portör bir üreticiden başlayan enfeksiyon zincirinde, kirli kapların kullanımı, hayvanların kesim işlemlerinin ardından parçalama safhasında enfeksiyon riskinin artmasında yine portör kişilerin rolü çok büyüktür. Üreticilerden satış noktalarındaki satış elemanlarına kadar gıdalarla direkt ilgisi olan kişilerin hijyen konusunda bilinçlendirilmeleri zaman zaman bu konularda eğitime tabii tutulmaları gereklidir.

Üretim yerleri; modern aletlerle donatılmalı alet-ekipmanın sterilitesine dikkat edilmeli, çalışan personel eğitime tabii tutulmalı, koruyucu giysiler giymeli, maske ve eldiven kullanılmalıdır. Gerek üretim aşamasında ve gerekse gıda satış yerlerinde çalışan personellerin kanunun da ön gördüğü üzere portör muayenelerinin yılda bir kez düzenli yapılması, portör çıkan kişilerin tedavileri tamamlanıp ikinci kez temiz raporu alana kadar yaptıkları işten uzaklaştırılmaları gereklidir. Hijyen kriterleri yönünden personel zaman zaman eğitime tabii tutulmalıdır.

Bu çalışmada kullanılan biyokimyasal identifikasyon ve Vitek testi, antibiyogram duyarlılık testi, SET-RPLA ile enterotoksin testi, rutin laboratuvar çalışmaları için ekip çalışması gerektirmemesi, daha ucuz olması, hızlı sonuç vermesi bakımından tercih edilmekle birlikte; moleküler yöntemlerle

kıyaslandığında güvenilirlikleri az olan yöntemlerdir. Fakat Vitek analizör, toplu zehirlenmelerde *S. aureus*'un identifikasyonu için güvenilir bir şekilde uygulanabilir. Ancak tiplendirme çalışmalarında yeterli değildir, enfeksiyon kaynağını açıklayamaz.

Vitek analizör ile yapılan identifikasyon testlerinde *S. aureus* olarak tanımlanan izolatların tümünün , Gaz Kromotografi ile MIS sisteminde *S. aureus* olarak tanımlanmasının nedeni sistem kütüphanesinde yeterli veri olmaması olarak açıklanabilir. Ancak bu çalışma sonucu elde edilen *S. aureus* yağ asitleri veri tabanı bundan sonraki çalışmalarda iyi bir kütüphane oluşturacaktır. Yağ asitleri analizne dayalı bir tiplendirme yöntemi rutin uygulamalarda kullanılmadan önce bu çalışmada olduğu gibi zengin ve güvenilir bir veri tabanına sahip olmalıdır.

PFGE ve Ribotiplendirme pahalı olması, ve ribotiplendirmenin kit gerektirmesi yönünden dezavantajlı olmasına karşın, son derece güvenilir metotlardır. Ribotiplendirme ile 8 saat gibi kısa bir sürede günde 24 izolat karakterize edilebilir. PFGE yöntemiyle bu süreden daha uzun zaman almaktadır ama daha az masraflı olup, ayırdedici gücü en az ribotiplendirme kadar yüksektir.

Gerek geleneksel biyokimyasal testler, Vitek, antibiyotik duyarlılık testleri, enterotoksin belirleme testi, SDS-PAGE, yağ asitleri analizleri gibi fenotipik yöntemler ve gerekse genotipik testler olan PFGE ve Ribotiplendirme yöntemleriyle analiz sonuçları incelendiğinde PFGE ve Ribotiplendirme yöntemleriyle elde edilen sonuçların son derece güvenilir olduğu görülmektedir. *S.aureus*'un yol açtığı gıda zehirlenmelerinin çok sık ortaya çıktığı ülkemizde etkenin ve bulaşma yolunun bir an evvel belirlenmesi için Sağlık Bakanlığı'na bağlı bu tip laboratuvarlarda da artık yüksek ayırım gücüne sahip, iş gücü gerektirmeyen moleküler yöntemlerle analizlerin yapılmasının halk sağlığı açısından son derece faydalı olacağı kanaatindeyiz.

Sağlık Bakanlığı'nın 31 Ocak 2005 tarihli yönetmeliği ile gıda işi ile uğraşanlarda ve sıhhi müesseselerde çalışanlarda portör taraması için yapılacak tetkikleri arasında yılda bir burun-boğaz kültürlerinin *S. aureus* taşıyıcılığının araştırılması yönünden yapılmasını zorunlu kılmıştır. Bu amaçla laboratuvarlarda ve kliniklerde tanı konulup, taşıyıcı özelliği olan Enteropatojenlerle ilgili kaynak

ve bulaşma yolları çalışmasının yapılmasını ve ayrıca portörlüğü tesbit edilenlerin geçiçi olarak işten uzaklaştırılması ve işyerinde yaptığı işin geçiçi olarak değiştirilmesi ile hastalık yayılımını engelleyici tedbirlerin alınmasını önermektedir.

Tez konusunun belirlenme tarihi olan 2003 tarihinde çalışmamıza temel teşkil edecek mahiyette olan yasa güncelleşmeden çok önce *S. aureus* 'un gıda ve gıda elleyicileri arasındaki kontaminasyon zincirini belirlemeyi amaçlamıştık. Günümüzde bu uygulamanın Sağlık Bakanlığı tarafından zorunlu hale getirilmesi doğru bir hedef belirlediğimizin kanıtıdır.

Temennimiz bu çalışmada kullanılan ve tavsiye edilen uygulamaların en yakın gelecekte bakanlık laboratuvarlarında kullanılmaya başlanmasıdır.

## KAYNAKLAR

1. Hacıbektaşoğlu, A., Eyigün, C. P. ve Özsoy, M.F., “*Gıda Elleyicileri*”nde *Burun ve Boğaz Portörlüğü*, Mikrobiyol. Bült., **27**, 62-70, 1993.
2. Tunail, N., “*Mikrobiyal enfeksiyonlar ve intoksikasyonlar*”, *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, (Ed. Tunail, N.), Ankara Üniv. Ziraat Fak. Gıda Müh. Bölümü yayını, Sim Matbaacılık, Ankara, 82-88, 2000.
3. Vural, H. ve Öztan, A., *Effects of Starter Culteres on Growth of Staphylococcus aureus in Fermented Meat Products*, Gıda, **18(4)**, 259-263, 1993.
4. Bilgehan, H., *Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları*, İzmir, 2000.
5. Tenover, F.C., Arbeit, R., Archer, G. ve ark., *Comparison of traditional and molecular methods of typing isolates of Staphylococcus aureus*, Journal of Clinical Microbiology, Feb., 407-414, 1994.
6. Weller, T.M.A., *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus typing methods: which should be the international standard?*, Journal of Hospital Infection, **44**, 160-172, 2000.
7. Brock, T.D. ve Madigan, M.T., *Biology of Microorganisms*, 11. Edition, Pearsen Prentice Hall, New Jersey, A.B.D, 2006.
8. Tortora, G.J., Funke, B.R. ve Case, L.C., *Microbiology An Introduction*, The Benjamin/ Cummings Publishing Company, California, A.B.D., 2001.
9. Nishijima, S., Namura, S., Nakagawa, M., Kurokawa, I. ve Kawabata, S., *Sensitivity to Antibacterials of Staphylococcus aureus Isolated from different Types of Skin Infections*, The Journal of International Medical Research, **25**, 1-7, 1997.
10. Wertheim, H.F.H., Melles, D.C., Vos, M.C., Leeuwen, W.C., Belkum, A.V., Verbrugh, H.A. ve Nouwen, J.L., *The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections*, Lancet Infect. Dis., **5**, 751-762, 2005.
11. Ayçiçek, H., Aydoğan, H., Küçükkaraslan, A., Baysallar, M. ve Başustaoğlu, A.C., *Assesment of the bacterial contamination on hands of hospital food handlers*, Food Control, **15**, 253-259, 2004.

12. Lues, J.F.R. ve Tonder, I. Van., *The occurrence of indicator bacteria on hands and aprons of food handlers in the delicatessen sections of a retail group*, Food Control, Basımda
13. Jay, J.M., *Modern Food Microbiology*, Chapman and Hall Comp., 5.Edition, New York, A.B.D., 1996.
14. Kwon, N.H., Kim, S.H., Park, K.T., Bae, W.K., Kim, J.Y., Lim, J.Y., Ahn, J.S., Lyoo, K.S., Kim, J.M., Jung, W.K., Noh, K.M., Bohach, G.A. ve Park, Y.H., *Application of extended single- reaction multiplex polymerase chain reaction for toxin typing of Staphylococcus aureus isolates in South Korea*, International Journal of Food Microbiology, **97**, 137-145, 2004.
15. Normanno, G., Firinu, A., Virgilio, S., Mula, G., Dambrosio, A., Poggiu, A., Decastelli, L., Mioni, R., Scuota, S., Bolzoni, G., Di Giannatale, E., Salinetti, A.P., La Salandra, G., Bartoli, M., Zuccon, F., Prino, T., Sias, S., Parisi, A., Quaclia, N.C. ve Celano, G.V., *Coagülase-Positive resistant resistant Staphylococci and Staphylococcus aureusin Food Products Marketed in Italy*. International Journal of Food Microbiology, **98**, 73-79, 2005.
16. Baird, R.M. ve Lee, W.H., *Media Used in the detection and Enumeration of Staphylococcus aureus*, International Journal of Food Microbiology, **26**, 15-24, 1995.
17. Aran, N., Karakuş, M., Topal,Ş. ve Alperden, İ., *Gıda Sanayiinde Mikrobiyoloji ve Uygulamaları*,Yayın No 124.TUBİTAK-MAM Matbaası Kocaeli, 1993.
18. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. ve Holt, J.G., *Bergey's manuel of systematic bacteriology*, Williams&Wilkins, Baltimore, A.B.D., 1986.
19. Odumeru, J.A., Steele, M., Fruhner, L., Larkin, C., Jiang, J., Mann, E. ve McNab, W.B., *Evaluation of Accuracy and Repeatability of Identification of Food-Borne Pathogens by Automated Bacterial Identification Systems*, Journal of Clinical Microbiology, **37(4)**, 944-949, 1999.

20. Villard, L., Lamprell, H., Maurin, F., Noel, Y., Beuvier, E., Chamba, J.F. ve Kodjo, A., *Enterotoxin D producing strains of Staphylococcus aureus are typeable by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)*, Food Microbiology, **22**, 261-265, 2005.
21. Serter, D., *Mikrobiyoloji*, Saray Tıp Kitabevleri, İzmir, 1992.
22. Guidry, A., Fattom, A., Patel, A. ve O'Brein, C., *Prevalence of Capsular Serotypes Among Staphylococcus aureus Isolated from Cows with Mastitis in the United States*, Veterinary Microbiology, **59**, 53-58, 1997.
23. Novak, F.R., Almeida, J.A.G., Warnken, M.B., Ferrreira-Carvalho, B.T. ve Hagler, A.N., *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Human Milk*, Mem., Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, **95(1)**, 29-33, 2000.
24. Larsen, H.D., Huda, A., Eriksen, N.H.R. ve Jensen, N.E., *Differences between Danish bovine and human Staphylococcus aureus isolated in possession of superantigens*, Veterinary Microbiology, **76**, 53-162, 2000.
25. Yazdankhah, S. P., Sorum, H., Larsen, H. J. S. ve Gogstad, G., *Rapid Method for Detection of Gram-Positive and –Negative Bacteria in Milk from Cows with Moderate or Severe Clinical Mastitis*, Journal of Clinical Microbiology, **39(9)**., 3228-3233, 2001.
26. Mork, T., Tollersrud, T., Kvitle, B., Jorgensen, H.J. ve Waage, S., *Genetic diversity of Staphylococcus aureus isolated from ovine intramammary infections in Norway*, Veterinary Microbiology, **106**, 265-273, 2005.
27. Hoppe-Seyler, T.S., Jaeger, B., Bockelmann, W., Noordman, W.H., Geis, A. ve Heller, K.J., *Molecular identification and differentiation of Staphylococcus species and strains of cheese origin*, System. Appl. Microbiol., **27**, 211-218, 2004.
28. Adesiyun, A.A., Lenz, W. ve Schaal, K.P., *Phage Susceptibility and Enterotoxin Production by Staphylococcus aureus Strains Isolated from Nigerian Foods*, Journal of Food Protection, **55**, 871-873, 1992.
29. Atanassova, V., Meindly, A. ve Ring, C., *Prevalance of Staphylococcus aureus and staphylococcal enterotoxins in raw pork and uncooked smoked ham – a comparison of classical culturing detection and RFLP-PCR*, International Journal of Food Microbiology, **68**, 105-113, 2001.

30. Miwa, N., Kawamura, A., Masuda, T. ve Akiyama, M., *An Outbreak of Food Poisoning Due to Egg Yolk Reaction-Negative Staphylococcus aureus*, International Journal of Food Microbiology, **64**, 361-366, 2001.
31. Fueyo, J.M., Martin, M.C., Gonzales-Hevia, M.A. ve Mendoza, M.C., *Enterotoxin Production and DNA Fingerprinting in Staphylococcus aureus Isolated from Human and Food Samples. Relation Between Genetic Types and Enterotoxins*, International Journal of Food Microbiology, **67**, 139-145, 2001
32. Shale, K., Lues, J.F.R., Venter, P. ve Buys, E.M., *The distribution of Staphylococcus sp.on bovine meat from abattoir deboning rooms*. Food Microbiology, **22**, 433-438, 2005.
33. Pesavento, G., Ducci, B., Comodo, N. ve Lo Nostro, A., *Antimicrobial resistance orofile of Staphylococcus aureus isolated from raw meat: A research for methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*, Food Control, Basımda.
34. Dupeyron, C., Campillo, B., Bordes, M., Faubert, E., Richardet, J.P. ve Mangeney, N., *A clinical trial of mupirocin in the eradication of methicillin-resistant Staphylococcus aureus nasal carriage in a digestive disease unit*, Journal of Hospital Infection, **52**, 281-287, 2002.
35. Millar, M.R., Walsh, T.R., Linton, C.J., Zhang, S., Leeming, J.P. ve Bennett, P.M., *Carriage of Antibiotic-Resistant Bacteria by Healthy Children*, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, **47**, 605-610, 2001.
36. Öncül, O., Erdemoğlu, A., Özsoy, M.F., Altunay, H., Ertem, Z. ve Çavuşoğlu, Ş., *Hastane personeline nasal Staphylococcus aureus taşıyıcılığı*, Klinik Dergisi, **15(3)**, 74-77, 2002.
37. Aiello, A.E., Cimiotti, J., Della-Latta, P. ve Larson, E.L., *A comparison of the bacteria found on the hands of 'homemakers' and neonatal intensive care unit*, Journal of Hospital Infection, **54**, 310-315, 2003.
38. Gündüz, T., Akgül, S. ve Yılmaz, S., *Hemodiyaliz hastalarında ve çalışanlarında nasal Staphylococcus aureus taşıyıcılığı*, The Medical Journal of Kocatepe, **6**, 13-15, 2005.



39. Mir, N., Sanchez, M., Baquero, F., Lopez, B., Calderon, C. ve Canton, R., *Soft Salt-Mannitol Agar-Cloxacillin Test : A Highly Specific Bedside Screening Test for Detection of Colonization with Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*, Journal of Clinical Microbiology, **36(4)**, 986-989, 1998.
40. Çelik, İ., Cihangirođlu, M., Sevim, E., Çabalak, M. ve Akbulut, A., *Sağlık çalışanlarının burunlarından izole edilen koagülaz pozitif ve negative Stafilokoklar metisilin direnci ve slime pozitifliği*, Fırat Tıp Dergisi, **10(3)**, 1-4, 2005.
41. Livermore, D.M., *Antibiotic Resistance in Staphylococci*, International Journal of Antimicrobial Agents, **16**, 3-10, 2000.
42. Gould, I.M., *The clinical significance of methicilin-resistant Staphylococcus aureus*, Journal of Hospital Infection, **61**, 277-282, 2005.
43. Avkan, V., *Staphylococcus aureus Prevelansı ve Methicillin Direnci*, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı, şişli Etfal Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, İstanbul, 1997.
44. Fueyo, J.M., Mendoza, M.C. ve Martin, M.C., *Enterotoxins and toxic shock syndrome toxin in Staphylococcus aureus recovered from human nasal carriers and manually handled foods:epidemiological and genetic findings*, Microbes and Infection, **7(2)**, 187-194, 2005.
45. Saçılık, S. C., *Türkiye'deki Klinik Örneklerden Elde Edilen Patojenik Staphylococcus aureus İzolatlarının Karakterizasyonu*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1998.
46. Chiou, C.S., Wei, H.L. ve Yang, L.C., *Comparison of Pulsed-Field Gel Electrophoresis and Coagulase Gene Restriction Profile Analysis Techniques in the Molecular Typing of Staphylococcus aureus*, Journal of Clinical Microbiology, **38(6)**, 2186-2190, 2000.
47. Nishijima, S., Nakagawa, M., Tsuboi, N., Akamatsu, H., Horio, T., Fujita, M. ve Kawabata, S., *Activity of Nadifloxacin Against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Isolated from Skin Infections: Comparative Study with Seven Other Fluoroquinolones*, The Journal of International Medical Research, **24**, 12-16, 1996.

48. Toshkova, T., Annemüller, C., Akineden, Ö. ve Lammler, Ch., *The significance of nasal carriage of Staphylococcus aureus as risk factor for human skin infections*, FEMS Microbiology Letters, **202**, 17-24, 2001.
49. Kampf, G., Lecke, C., Cimbal, A.K., Weist, K. ve Rüdén, H., *Evaluation of Mannitol Salt Agar for Detection of Oxacillin Resistance in Staphylococcus aureus by Disk Diffusion and Agar Screening*, Journal of Clinical Microbiology, **36(8)**, 2254-2257, 1998.
50. Gundoğan, N., Cıtak, S., Yucel, N. ve Devren, A., *A note on the incidence and antibiotic resistance of Staphylococcus aureus isolated from meat and chicken samples*, Meat Science, **69**, 807-810, 2005.
51. Demiroglu, S., *Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen S.aureus Kökenlerinin Antibiyotik Duyarlılık, Faj Tipleme ve Kapsül, Polisakkarit Tipleme Yöntemleriyle İncelenmesi*, Uzmanlık Tezi, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, 2000.
52. Ruoff, K.L., Ferraro, M.J., Jerz, M.E. ve Küssling, J., *Automated Identification of Gram-Positive Bacteria*, Journal of Clinical Microbiology, **Dec**, 1091-1095, 1982.
53. Marples, R.R. ve Rosdahl, V.T., *Marples Quality control of Phage Typing of Staphylococcus aureus*, J.Med. Microbiol., **46**, 511-516, 1997.
54. Krishnan, P.U., Mahalakshmi, P. ve Shetty, N., *Strain relatedness of endemic MRSA isolates in a burns unit in South India –a five year study*, Journal of Hospital Infection, **52**, 181-184, 2002.
55. Schlichting, C., Branger, C., Fournier, J.M., Witte, W., Boutonnier, A., Wolz, C., Goulet, P. ve Döring, G., *Typing of Staphylococcus aureus by Pulsed-Field Gel Electrophoresis, Zymotyping, and Phage Typing: Resolution of Clonal Relationships*, Journal of Clinical Microbiology, **Feb**, 227-232, 1993.
56. Prasanna, M. ve Thomas, C., *A profile of methicillin resistant Staphylococcus aureus infection in the burn center of the Sultanate of Oman*, Burns, **24**, 631-636, 1998.

57. Stoakes, L., John, M.A., Lannigan, R., Schieven, B.C., Ramos, M., Harley, D. ve Hussain, Z., *Gas-Liquid Chromatography of Cellular Fatty Acids for Identification of Staphylococci*, Journal of Clinical Microbiology, Aug, p.1908-1910, 1994 .
58. Telefoncu, A., Küfrevioğlu, Ö.İ. ve Pazarlıoğlu, N. *Biyoinformatik I, Yağ Asit Profillerine Göre Mikroorganizmaların Tanısı ve Karakterizasyonu*, İzmir, 2003.
59. Towner, K.J. ve Cockayne, A., *Molecular Methods for Microbial Identification and Typing*, Published by Chapman&Hall, London, İngiltere, 1995.
60. Saçılık, S.C., Osmanoğlu, Ö., Kısa, Ö., Başustaoğlu, A. ve Çökmüş, C., *Protein profiles and prevalence of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in Gülhane Military Academy Hospital in Turkey*, Turk Journal Biol., **24**, 809-816, 2000.
61. Goodfellow, M. ve O'Donnel, A.G., *Chemical methods in Prokaryotic Systematics*, John Wiley& Sons Chichester, New York, A.B.D., 1994.
62. Pereira, M.S.V., Leal, N.C., Leal, T.C.A., Sobreira, M., Almeida de, A.M.P., Siqueira-Junior, J.P ve Takaki-Campos, G.M., *Typing of human and bovine Staphylococcus aureus by RAPD-PCR and ribotyping-PCR*, Letters in Applied Microbiology, **35**, 32-36, 2002.
63. Selander R.K., Caugant, D.A., Ochman, H., Musser, J.M., Gilmour, M.N. ve Whittam, T.S., *Methods of Multilocus Enzyme Electrophoresis for bacterial Population Genetics and Systematics*, Applied and Environmental Microbiology, **51(5)**, 873-884, 1986.
64. Cremonesi, P., Luzzana, M., Brasca, M., Morandi, S., Lodi, R., Vimercati, C., Agnellini, D., Caramenti, G., Moroni, P. ve Castiglioni, B., *Development of a multiplex PCR assay for the identification of Staphylococcus aureus enterotoxigenic strains isolated from milk and dairy products*, Molecular and Cellular Probes, **19(5)**, 299-305, 2005.
65. Nishijima, S. ve Nakagawa, M., *Sensitivity of Antibacterials of Staphylococcus aureus Isolated from Impetigo Patients*, The Journal of International Medical Research, **25**, 210-213, 1997.

66. Sader, H.S., Jones, R.N., Silva, J.B. ve The Sentry Participants Group, *Skin and soft tissue infections in Latin American medical centers: four-years assessment of the pathogen frequency and antimicrobial susceptibility patterns*, Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, **44**, 281-288, 2002.
67. Tondo, E.C., Guimaraes, M.C.M., Henriques, J.A.P. ve Ayub, M.A.Z, *Assessing and analysing contamination of a dairy products processing plant by Staphylococcus aureus using antibiotic resistance and PFGE* . Can.J. Microbiol., **46**, 1108-1113, 2000.
68. Almer, L.S., Shortridge, V.D., Nilius, A.M., Beyer, J.M., Soni, N.B., Bui, M.H., Stone, G.G. ve Flamm, R.K., *Antimicrobial susceptibility and molecular characterization of community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, **43**, 225-232, 2002.
69. Acco, M., Ferreira, F.S., Henriques, J.A.P. ve Tondo, E.C., *İdentification of multiple strains of Staphylococcus aureus colonizing nasal mucosa of food handlers*, Food Microbiology, **20**, 489-493, 2003
70. Yakupoğulları, Y., Gündüz, A., Özcan, M., Doğukan, M., Seyrek, A. ve Yılmaz, M., *Staphylococcus aureus Suşlarının Siprofloksasin, Ofloksasin, Levofloksasin ve Moksifloksasin Duyarlılıkları*, Fırat Tıp Dergisi, **11(1)**, 45-47, 2006.
71. Daeschlein, G., Assadian, O., Rangous, I. ve Kramer, A., *Risk factors for Staphylococcus aureus nasal carriage in residents of three nursing homes in Germany*, Journal of Hospital Infection, **63**, 216-220, 2006.
72. Viola, D.G. ve Lopez, D., *Numerical analysis of electrophoretic periplasmic protein patterns, a possible marker system for epidemiologic studies*, Journal of Clinical Microbiology, **28**, 136-139, 1990
73. Embley, T.M. ve Wait, R., *'Chemical Methods in Prokaryotic Systematics', Structural Lipids of Eubacteria*. Donelli Chichester, New York, A.B.D., 1994.
74. Temizkan, G. ve Arda, N., *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler*, Nobel Tıp Kitapları, İstanbul, 2004.

75. Rodgers, J.D., McCullagh, J.J., McNamee, P.T., Smyth, J.A. ve Ball, H.J., *Comparison of Staphylococcus aureus recovered from personnel in a poultry hatchery and in broiler parent farms with those isolated from skeletal disease in broiler*, Veterinary Microbiology, **69**, 189-198, 1999.
76. Shimizu, A., Fujita, M., Igarashi, H., Takagi, M., Nagase, N., Sasaki, A. ve Kawano, J., *Characterization of Staphylococcus aureus Coagulase Type VII Isolates from Staphylococcus Food Poisoning Outbraeks (1980-1995) in Tokyo, Japan, by Pulsed-Field Gel Electrophoresis*, Journal of Clinical Microbiology, **38(10)**, 3746-3749, 2000.
77. Andollina, A., De-Cesare, A., Bertoni, G., Modelli, L. ve Manfreda, G., *Identification and genetic characterization of orthopaedic Staphylococcus isolates collected in Italy by automated EcoRI ribotyping*, FEMS Microbiology Letters, **234**, 275-280, 2004.
78. Anonim, *Gıda maddeleri satış ve toplu tüketim yerlerinden numune alma rehberi*, T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, No:626, Ankara, 1999.
79. Lee, J.H., *Methicillin (Oxacilin)-resistant Staphylococcus aureus strains isolated from major food animal and their potential transmission to humans*, Applied and Environmental Microbiology, **69(11)**., 6489-6494, 2003.
80. Güzel, İ.A., *Tavuk Etlerinin, Kesim İşleminin Değişik Aşamalarında Staphylococcus aureus ile Kontaminasyon Derecesinin Belirlenmesi*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1998.
81. Tükel, Ç. ve Doğan, H.B., “*Staphylococcus aureus*”, *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, (Ed. Tunail, N.), Ankara Üniv. Ziraat Fak. Gıda Müh. Bölümü yayını, Sim Matbaacılık, Ankara, 357-365, 2000.
82. Tamer, A.Ü., Uçar, F., Ünver, E., Karabaş, İ., Bursalıoğlu, M.ve Oğultekin,R., *3.ve 4. sınıf Mikrobiyoloji laboratuvar Klavuzu*, Anadolu Üniversitesi Eğitim, Sağlık ve Bilimsel Araştırma Çalışmaları Vakfı., No:74, Eskişehir, 1989.

83. Anonim, National Committer for Clinical Laboratory Standards, Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard M2-A7. National Committer for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa., 2001.
84. Sambrook, J., Rodolph, K. ve Sands, D.C., *SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of proteins, Molecular Cloning*; Cold Spring Harbor Laboratory Press, No:3, New York, A.B.D., 1989.
85. Ekici, K. ve Akyüz, N., *Farklı Hayvan Türlerine Ait Çiğ Etlerin SDS-PAGE Yöntemiyle Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma*, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, **14(2)**, 78-82, 2003.
86. Hennekinne, J.A., Kerouanton, A., Brisabois, A. ve Buyser De, M.L. *Discrimination of Staphylococcus aureus biotypes by pulsed-field gel electrophoresis of DNA macro-restriction fragments*, Journal of Applied Microbiology, **94**, 321-329, 2003.
87. Vanderlinde, P.B., Fegan, N., Mills, L. ve Desmarcheiler, P.M., *Use of pulse field gel electrophoresis for the epidemiological characterization of coagulase positive Staphylococcus aureus isolated from meat workers and beef carcasses*, International Journal of Food Microbiology, **48**, 81-85, 1999.
88. Berber, I., Cokmus, C. ve Atalan, E., *Characterization of Staphylococcus species by SDS-PAGE of whole-cell and extracellular proteins*, Microbiology, **72(1)**, 54-59, 2003.

## EK-1. Biyokimyasal test sonuçları

İzolatlar	Üre	Laktöz	Ksilöz	Mannitol	Rafinoz	Trehaloz	Arabinöz	Maltoz	Fruktoz	Sükroz	Glikoz	Jeletinaz	Katalaz	Beta Hemoliz	Glikozun aneorobik fermentasyonu	Mannitolun aneorobik fermentasyonu	Koagülaz	DNaz	Leitinaz
M.K.BRN.BGZ	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y-15	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
NRR16767	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E1-10	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
PEY 10	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
PEY 18	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
PEY 38	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K 33-A	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
TER 31	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
K 28-A	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
YAĞ 32	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PEY 7	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
PEY 8	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PEY29	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
PEYNİR 9	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
SUCUK 8	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Y-20	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Y-19	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
BAGET 14	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
TAHTA	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y-20A	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
433	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Y-7	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
PEYNİR 5C	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
PEYNİR 2	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
PEYNİR D	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
PEYNİR 4-L	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
438	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
MAK 6	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
48	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
K 36 B	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
E1-7	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KREMA 16	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
E 1-6	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
44	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
43	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
41	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
39	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
K 28	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
PEYNİR 11-10	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
439	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
E 2-17	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
482	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Y 8-A	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
I-3	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
I-5	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
SUCUK 2-10	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I-6	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
DANA ETİ A	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BURUN	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+

## EK-1 (Devam). Biyokimyasal test sonuçları

İzolatlar	Üre	Laktoz	Ksilitoz	Mannitol	Rafinoz	Trehaloz	Arabinoz	Maltoz	Fruktoz	Sükroz	Glikoz	Jeletimaz	Katalaz	Beta Hemoliz	Glikozun aneorobik fermentasyonu	Mannitolun aneorobik fermentasyonu	Koagülaz	DNaz	Lesitinaz
I-2	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
SUT 1-H	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
SUCUK B	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
506	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
I-1	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
I-7	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y-8	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
E 2-18	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
454	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
MRSA 1	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
468	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
I-8	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
KANAT-10	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
H.Y IDR	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
K-1	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
K-11	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
K-14	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
K-5	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y-4	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
KIYMA	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
508	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
P-377	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
SATIR	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
SATIR-1	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y-*	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
S.U-VJ	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
KUSBASİET2-A	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y-11	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
G.TIDR	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K-12	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
K-15	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y-1	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
KANAT-10-A	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
P5-G	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KREMA 39	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
K-9	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
432	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
SÜT 30	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
KDON27	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
22	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K36	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
SÜT 26	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
YAĞ 25	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
MSSA-6	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
528	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
YENİSUCUK	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SUCUK229	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y-17	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
TER 2M	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
464 SUCUK	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+













EK-3. *S. aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık testleri

İzolatlar	Clindamcin			Penicillin G			Vancomycin			Mupirocin			Sulphamethoxazole			Fusidic acid			Erytromycin			Oxacillin			Teicoplanin			Bacitracin			Optochin			Novobiocin		
	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R
M.K.BRN.BGZ	1					1	1			1			1		1	1			1			1						1			1	1				
Y-15	1					1	1			1			1			1			1			1						1			1	1				
NRRI6767	1					1	1			1			1			1			1			1						1			1	1				
E1-10		1				1	1			1				1	1				1			1						1			1	1				
PEY 10			1			1	1			1				1	1				1	1			1					1			1	1				
PEY 18	1			1			1			1				1	1			1			1							1			1	1				
PEY 38	1					1	1			1			1			1			1			1						1			1	1				
K 33-A	1					1	1			1				1	1				1	1			1					1			1	1				
TER 31		1				1	1			1				1		1		1			1							1			1	1				
K 28-A			1			1	1			1				1			1		1		1	1						1			1	1				
YAĞ 32	1					1	1			1				1		1			1		1							1			1	1				
PEY 7	1					1	1			1				1	1				1	1			1					1			1	1				
PEY 8			1			1	1			1				1	1				1	1			1					1			1	1				
19	1					1	1			1				1		1			1		1							1			1	1				
PEY29	1					1	1			1				1	1				1		1							1			1	1				
PEYNİR 9	1			1			1			1			1			1			1		1							1			1	1				
SUCUK 8			1			1	1			1				1	1				1	1			1					1			1	1				
Y-20	1					1	1			1			1			1			1		1							1			1	1				
Y-19	1					1	1			1				1	1				1		1							1			1	1				
BAGET 14			1			1	1			1				1	1				1	1			1					1			1	1				
TAHTA	1					1	1			1				1	1				1		1							1			1	1				
Y-20A	1					1	1			1				1	1				1		1							1			1	1				
433	1					1	1			1				1		1			1		1							1			1	1				
Y-7	1					1	1			1				1	1				1		1							1			1	1				
PEYNİR 5C	1					1	1			1				1	1				1		1							1			1	1				
PEYNİR 2	1					1	1			1				1	1				1		1							1			1	1				
PEYNİR D	1					1	1			1				1		1			1		1							1			1	1				

**EK-3. (Devam)** *S. aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık testleri

İzolatlar	Clindamcin			Penicillin G			Vancomycin			Mupirocin			Sulphamethoxazole			Fusidic acid			Erytromycin			Oxacillin			Teicoplanin			Bacitracin			Optochin			Novobiocin		
	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R
PEYNİR 4-L	1					1	1			1					1	1			1			1									1	1				
40	1					1	1			1					1			1			1									1	1					
438			1	1				1						1		1		1			1									1	1					
MAK 6	1					1	1			1				1	1			1			1								1	1						
48	1					1	1			1				1	1			1			1								1	1						
K 36 B	1					1	1			1				1	1			1			1								1	1						
E1-7	1					1	1			1				1	1			1			1								1	1						
KREMA 16	1					1	1			1				1	1			1			1								1	1						
E 1-6	1					1	1			1				1	1			1			1								1	1						
44	1					1	1			1				1	1			1			1								1	1						
43	1					1	1			1				1	1			1			1								1	1						
41			1			1	1			1				1			1	1			1								1	1						
39	1					1	1			1				1	1			1			1								1	1						
K 28	1			1			1			1				1	1				1		1								1	1						
PEYNİR 11-10		1		1			1			1				1		1			1	1			1						1	1						
439	1					1	1			1				1	1			1			1								1	1						
E 2-17	1					1	1			1				1	1			1			1								1	1						
482		1				1	1			1				1		1		1			1								1	1						
Y 8-A		1				1	1			1				1	1					1			1	1					1	1						
I-3	1					1	1			1				1	1			1			1								1	1						
I-5	1					1	1			1				1	1			1			1								1	1						
SUCUK 2-10	1					1	1			1				1	1			1			1								1	1						
I-6	1					1	1			1				1	1			1			1								1	1						
DANA ETİ A	1					1	1			1				1	1			1			1								1	1						
BURUN	1					1	1			1			1		1			1			1				1				1	1						
I-2	1					1	1			1				1	1			1			1								1	1						
SUT 1-H	1					1	1			1				1	1			1			1								1	1						
SUCUK B	1					1	1			1				1	1			1			1								1	1						





**EK-3. (Devam)** *S. aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık testleri

İzolatlar	Clindamcin			Penicillin G			Vancomycin			Mupirocin			Sulphamethoxazole			Fusidic acid			Erytromycin			Oxacillin			Teicoplanin			Bacitracin			Optochin			Novobiocin		
	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R	D	ODD	R
K-12	1					1	1			1			1			1			1			1									1	1				
K-15	1					1	1			1				1		1				1	1									1			1	1		
Y-1	1					1	1			1				1	1			1			1									1			1	1		
KANAT-10-A			1			1	1			1			1			1			1			1								1			1	1		
P5-G			1			1	1			1				1	1			1			1									1			1	1		
KREMA 39	1					1	1			1				1	1			1			1									1			1	1		
K-9			1			1	1			1				1			1	1			1									1			1	1		
SÜT 30	1					1	1			1				1	1					1	1									1			1	1		
KDON27	1			1			1			1				1		1			1			1								1			1	1		
22	1					1	1			1				1	1			1			1									1			1	1		
K36		1				1	1			1				1			1			1										1			1	1		
SÜT 26		1				1	1			1				1		1			1			1			1					1			1	1		
YAĞ 25			1			1	1			1				1	1					1			1	1						1			1	1		
MSSA	1					1	1			1				1	1			1			1									1			1	1		
528	1			1			1			1				1			1			1			1							1			1	1		
YENİSUCUK			1			1	1			1				1		1			1			1								1			1	1		
SUCUK229		1		1			1			1				1		1			1			1			1					1			1	1		
Y-17	1					1	1			1				1	1			1			1									1			1	1		
TER 2M	1					1	1			1				1	1			1			1									1			1	1		
464 SUCUK	1					1	1			1			1			1			1			1								1			1	1		
Y-18		1				1	1			1				1	1			1			1									1			1	1		
SUCUK 2-A			1			1	1			1				1	1					1	1					1				1			1	1		
BONFILE 13			1			1	1			1				1			1			1			1	1						1			1	1		
PEYNİR 3			1			1	1			1				1	1			1			1									1			1	1		
PEYNİR 1	1					1	1			1				1		1			1			1								1			1	1		
433-B			1			1	1			1				1			1			1			1							1			1	1		
DANA ETİ 2A	1					1	1			1				1	1			1			1									1			1	1		
432 PEY	1					1	1			1				1	1			1			1									1			1	1		

**EK-4.** Gıda elleyicileri ile gıdalardaki *S. aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının karşılaştırılması

**HASSASCL \* TURCL Crosstabulation**

			TURCL		Toplam
			gıda elleyicisi	gıda	
HASSASCL	hassas	Sayı	14	19	33
		% içinde HASSASCL	42,4%	57,6%	100,0%
		% içinde TURCL	87,5%	79,2%	82,5%
	ortaderecehassas	Sayı	2	5	7
		% içinde HASSASCL	28,6%	71,4%	100,0%
		% içinde TURCL	12,5%	20,8%	17,5%
Toplam		Sayı	16	24	40
		% içinde HASSASCL	40,0%	60,0%	100,0%
		% içinde TURCL	100,0%	100,0%	100,0%

**HASSASCL \* TURCL Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,462(b)	1	,497		
Continuity Correction	,065	1	,799		
Likelihood Ratio	,478	1	,489		
Fisher's Exact Test				,681	,408
Linear-by-Linear Association	,450	1	,502		
N of Valid Cases	40				

**HASSASPE \* TÜRPE Crosstabulation**

			TÜRPE		Toplam
			gıda elleyicisi	gıda	
HASSASPE	hassas	Sayı	0	1	1
		% içinde HASSASPE	,0%	100,0%	100,0%
		% içinde TÜRPE	,0%	4,2%	2,5%
	direncili	Sayı	16	23	39
		% içinde HASSASPE	41,0%	59,0%	100,0%
		% içinde TÜRPE	100,0%	95,8%	97,5%
Toplam		Sayı	16	24	40
		% içinde HASSASPE	40,0%	60,0%	100,0%
		% içinde TÜRPE	100,0%	100,0%	100,0%

**EK-4. (Devam)** Gıda elleyicileri ile gıdalardaki *S. aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının karşılaştırılması

**HASSASPE \* TÜRPE Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,684	1	,408		
Continuity Correction	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	1,039	1	,308		
Fisher's Exact Test				1,000	,600
Linear-by-Linear Association	,667	1	,414		
N of Valid Cases	40				

**HASSASVA \* TÜRVA Crosstabulation**

			TÜRVA		Toplam
			gıda elleyicisi	gıda	
HASSASVA	hassas	Sayı	16	24	40
		% içinde HASSASVA	40,0%	60,0%	100,0%
		% içinde TÜRVA	100,0%	100,0%	100,0%
Toplam		Sayı	16	24	40
		% içinde HASSASVA	40,0%	60,0%	100,0%
		% içinde TÜRVA	100,0%	100,0%	100,0%

**HASSASMU \* TÜR MU Crosstabulation**

			TÜR MU		Toplam
			gıda elleyicisi	gıda	
HASSASMU	hassas	Sayı	16	24	40
		% içinde HASSASMU	40,0%	60,0%	100,0%
		% içinde TÜR MU	100,0%	100,0%	100,0%
Toplam		Sayı	16	24	40
		% içinde HASSASMU	40,0%	60,0%	100,0%
		% içinde TÜR MU	100,0%	100,0%	100,0%

**EK-4. (Devam)** Gıda elleyicileri ile gıdalardaki *S. aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının karşılaştırılması

**HASSASO \* TÜRO Crosstabulation**

			TÜRO		Toplam
			gıda elleyicisi	gıda	
HASSASO	hassas	Sayı	16	22	38
		% içinde HASSASO	42,1%	57,9%	100,0%
		% içinde TÜRO	100,0%	91,7%	95,0%
	direncili	Sayı	0	2	2
		% içinde HASSASO	,0%	100,0%	100,0%
		% içinde TÜRO	,0%	8,3%	5,0%
Toplam		Sayı	16	24	40
		% içinde HASSASO	40,0%	60,0%	100,0%
		% içinde TÜRO	100,0%	100,0%	100,0%

**HASSASO \* TÜRO Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,404	1	,236		
Continuity Correction	,197	1	,657		
Likelihood Ratio	2,113	1	,146		
Fisher's Exact Test				,508	,354
Linear-by-Linear Association	1,368	1	,242		
N of Valid Cases	40				

**EK-4. (Devam)** Gıda elleyicileri ile gıdalardaki *S. aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının karşılaştırılması

**HASSASTE \* TÜRSTE Crosstabulation**

			TÜRSTE		Toplam
			gıda elleyicisi	gıda	
HASSASTE	hassas	Sayı	16	22	38
		% içinde HASSASTE	42,1%	57,9%	100,0%
		% içinde TÜRSTE	100,0%	91,7%	95,0%
	ortaderecehassas	Sayı	0	2	2
		% içinde HASSASTE	,0%	100,0%	100,0%
		% içinde TÜRSTE	,0%	8,3%	5,0%
Toplam		Sayı	16	24	40
		% içinde HASSASTE	40,0%	60,0%	100,0%
		% içinde TÜRSTE	100,0%	100,0%	100,0%

**HASSASTE \* TÜRSTE Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,404	1	,236		
Continuity Correction	,197	1	,657		
Likelihood Ratio	2,113	1	,146		
Fisher's Exact Test				,508	,354
Linear-by-Linear Association	1,368	1	,242		
N of Valid Cases	40				

**EK-4. (Devam)** Gıda elleyicileri ile gıdalardaki *S. aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının karşılaştırılması

**HASSASCL \* TURCL Crosstabulation**

			TURCL		Toplam
			gıda elleyicisi	gıda	
HASSASCL	hassas	Sayı	14	19	33
		% içinde HASSASCL	42,4%	57,6%	100,0%
		% içinde TURCL	87,5%	79,2%	82,5%
	ortaderecehassas	Sayı	2	5	7
		% içinde HASSASCL	28,6%	71,4%	100,0%
		% içinde TURCL	12,5%	20,8%	17,5%
Toplam		Sayı	16	24	40
		% içinde HASSASCL	40,0%	60,0%	100,0%
		% içinde TURCL	100,0%	100,0%	100,0%

**HASSASCL \* TURCL Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,462	1	,497		
Continuity Correction	,065	1	,799		
Likelihood Ratio	,478	1	,489		
Fisher's Exact Test				,681	,408
Linear-by-Linear Association	,450	1	,502		
N of Valid Cases	40				

**EK-4. (Devam)** Gıda elleyicileri ile gıdalardaki *S. aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının karşılaştırılması

**HASSASXT \* TÜRSXT Crosstabulation**

			TÜRSXT		Toplam
			gıda elleyicisi	gıda	
HASSASXT	hassas	Sayı	2	1	3
		% içinde HASSASXT	66,7%	33,3%	100,0%
		% içinde TÜRSXT	12,5%	4,2%	7,5%
	ortaderecehassas	Sayı	1	1	2
		% içinde HASSASXT	50,0%	50,0%	100,0%
		% içinde TÜRSXT	6,3%	4,2%	5,0%
	dirençli	Sayı	13	22	35
		% içinde HASSASXT	37,1%	62,9%	100,0%
		% içinde TÜRSXT	81,3%	91,7%	87,5%
Toplam		Sayı	16	24	40
		% içinde HASSASXT	40,0%	60,0%	100,0%
		% içinde TÜRSXT	100,0%	100,0%	100,0%

**HASSASXT \* TÜRSXT Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	1,091	2	,579
Likelihood Ratio	1,069	2	,586
Linear-by-Linear Association	1,061	1	,303
N of Valid Cases	40		

**EK-4. (Devam)** Gıda elleycileri ile gıdalardaki *S. aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının karşılaştırılması

**HASSASFA \* TÜRFA Crosstabulation**

		TÜRFA			Toplam
		gıda elleycisi	gıda		
HASSASFA	hassas	Sayı	16	21	37
		% içinde HASSASFA	43,2%	56,8%	100,0%
		% içinde TÜRFA	100,0%	87,5%	92,5%
	ortaderecehassas	Sayı	0	2	2
		% içinde HASSASFA	,0%	100,0%	100,0%
		% içinde TÜRFA	,0%	8,3%	5,0%
	direnci	Sayı	0	1	1
		% içinde HASSASFA	,0%	100,0%	100,0%
		% içinde TÜRFA	,0%	4,2%	2,5%
Toplam		Sayı	16	24	40
		% içinde HASSASFA	40,0%	60,0%	100,0%
		% içinde TÜRFA	100,0%	100,0%	100,0%

**HASSASFA \* TÜRFA Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	2,162	2	,339
Likelihood Ratio	3,226	2	,199
Linear-by-Linear Association	1,857	1	,173
N of Valid Cases	40		



## Ek-5. Yağ asitleri metil esterlerinin (FAME) analiz sonuçları

Yağ asiti çeşidi	M.K.BRN.BGZ	Y-15	E1-10	PEY 10	PEY 18	PEY 38	K 33-A	TER 31	K 28-A	YAĞ 32	PEY 7
09:00											0,15
10:00											
11:00 ANTESO											0,45
12:00											
13:00 ISO				0,17	0,28			0,4			0,36
13:00 ANTESO			0,2	0,27	0,18			0,41	0,48		0,51
12:030H											
14:00 ISO	4,99	5,35	9,07	7,16	8,02	8,74	5,26	8,56	9,8	7,33	5,81
14:00 ANTESIO											
14:00	3,43	0,9	1,76	2,46	4,06	1,15	1,94	1,14	1,95	3,19	2,08
15:00 ISO	3,56	4,24	5,99	3,62	5,17	5,61	3,63	5,31	6,04	4,55	3,58
15:00 ANTESON	46,66	53,98	50,89	39,51	40,94	46,78	34,64	49,41	49,62	41,42	34,25
16:00 NALCOHOL											
16:00 ISO	1,12	4,65	2,58	1,89	1,61	3,59	1,43	2,67	2,07	1,7	1,49
16:1W11C											
16:00	10,83	4,62	3,37	5,56	4,97	5,46	6,87	4,97	5,19	6,32	5,53
16:010 METHYL											
ISO17:1W9C											
15:030H		1,66									11,11
17:00 ISO		0,81	0,78	0,48	0,5	1,2	0,59	0,82	0,9		0,32
17:00 ANTESO	1,42	7,65	3,37	2,45	2,07	5,2	2,63	3,75	3,26	2,77	1,66
17:1W8C											
17:00 CYCLO											0,24
17:00			0,43	0,31	0,42			0,36	0,4	0,57	
18:00 ISO		0,89	0,62	0,4		1,19		0,66			
18:1W9C	7,25	1,49	1,29	4,22	3,88	0,86	4,32	1,54	1,22	3,25	3,24
18:1W7C	1,44			1,08	1,0		1,02			0,91	0,94
18:00	7,93	7,43	6,15	9,95	7,79	12,33	11,61	7,03	8,09	8,59	
17:030H											
19:00 ISO								0,47			
19:00 ANTESO				0,4							
19:00 CYCLOW8C											
19:00			0,9	0,64	0,53		0,9	0,59			
18:020H											
20:4W6,9,12,15C	0,88		1,9	1,02	1,25		1,71	1,3	1,01	1,91	1,62
18:030H											0,58
20:00 ISO											
20:2W6,9C	1,75		3,32	5,31	5,27	0,94	5,03	0,84	1,47	4,73	3,14
20:1W9C	2,47			3,13	2,12		4,61			1,22	1,73
20:1W7C											
20:00	2,34	2,3	3,58	4,82	3,73	5,04	7,81	4,74	5,13	4,57	2,74

**Ek-5. (Devamı) Yağ asitleri metil esterlerinin (FAME) analiz sonuçları**

Yağ asiti çeşidi	PEY29	PEYNİR 9	SUCUK 8	Y-20-A	Y-19	BAGET 14	TAHTA	Y-20	433-B	Y-7	PEYNİR 5C
09:00											
10:00											
11:00 ANTESO											
12:00											
13:00 ISO		0,28							0,2		
13:00 ANTESO	0,32	0,34				0,63	0,36		0,46		
12:030H											
13:00											
14:00 ISO	6,45	6,66	5,8	4,44	6,59	5,84	6,76	4,79	2,88	6,04	5,2
14:00 ANTESIO											
14:00	2,32	3,33	1,44	2,78	3,34	3,08	1,86	2,21	3,1	1,83	2,34
15:00 ISO	3,54	3,94	4,1	2,89	4,44	3,8	3,89	3,75	3,33	4,14	3,02
15:00 ANTESON	37,42	38,61	44,66	27,5	35,7	31,86	37,53	32,61	43,97	33,64	30,95
16:00 ALCOHOL											
16:00 ISO	1,63	1,38	2,16	0,81	1,47	1,34	2,3	1,29		1,72	1,4
16:1W11C											
16:00	5,53	7,65	4,78	7,06	5,24	5,71	3,57	4,15		3,19	6,12
ISO17:1W9C											
15:03OH	5,73	2,02		8,14		3,02	2,09	5,32		4,49	3,84
16:010 METHYL		0,3		0,79		0,89	0,24				
17:00 ISO	0,26	0,31	0,61		0,62		0,56			0,62	
17:00 ANTESO	1,93	1,66	3,78	1,54	2,32	2,01	2,64	2,2		2,67	2,06
17:1W8C											
17:00 CYCLO											
17:00		0,24	0,59				0,33				
18:00 ISO		0,16	0,49				0,54			0,39	
18:1W9C	3,11	4,06	3,36	2,71	3,77	3,82	2,83	3,42		1,55	3,81
18:1W7C	0,78	0,99	0,66		0,88	0,84	0,69	0,95			0,99
18:00	10,41	8,95	9,37	17,5	11,71	12,8	11,3	13,64		13,58	13,73
17:030H											
19:00 ISO											
19:00 ANTESO			0,57				0,38				
19:00 CYCLOW8C											
19:00			0,92		1,03		0,9			1,39	
18:020H											
20:4W6,9,12,15C	1,53	1,89	1,27	1,85	1,08	0,87	0,84	0,92		0,93	1,38
18:030H											
20:00 ISO											
20:2W6,9C	3,42	4,13	4,31	3,04	5,47	4,53	5,09	3,96		4,4	4,41
20:1W9C	1,63	2,06	1,72	2,44	2,5	4,31	2,54	3,34		1,91	3,48
20:1W7C											
20:00	2,63	3,11	5,38	6,82	8,87	8,18	7,39	7,44		9,27	8,63

**Ek-5. (Devamı) Yağ asitleri metil esterlerinin (FAME) analiz sonuçları**

Yağ asiti çeşidi	40	438	MAK 6	48	K 36 B	E1-7	KREMA 16	E 1-6	44	43	41
09:00											
10:00											
11:00 ANTESO											
12:00						0,57			0,12		
13:00 ISO					0,36			0,36	0,26	0,16	0,26
13:00 ANTESO					0,43	0,35		0,38	0,25		0,28
12:030H											
13:00											
14:00 ISO	5,71	7,03	6,56	6,48	8,91	5,55	5,47	9,67	6,96	5,52	7,7
14:00 ANTESIO											
14:00	2,41	2,94	5	2,77	1,42	4,58	1	2,1	0,96	1,17	0,75
15:00 ISO	3,29	4,19	4,09	3,41	5,61	3,42	3,66	6,05	5,02	6,11	5,67
15:00 ANTESON	34,41	37,48	32	37,13	48,35	32,33	30,24	50,44	45,58	46,5	51,4
16:00 ALCOHOL											
16:00 ISO	1,38	1,65	1,23	1,7	2,14	1,0	1,47	2,39	2,7	2,57	3,13
16:10 W11C											
16:00	6,72	5,65	6,69	7,23	4,96	12,55	4,33	3,0	3,3	5,04	3,78
16:010 METHYL											
ISO17:10 W9C											
15:030H	2,2		1,75		0,52		11,63		3,22		
17:00 ISO					0,91		0,69	0,78	0,85	1,26	1,48
17:00 ANTESO	2,19	2,01	1,79	2,48	3,56	1,52	2,76	2,71	4,11	4,99	5,73
17:10 W8C											
17:00 CYCLO											
17:00					0,53	0,41		0,32	0,49	0,43	0,94
18:00 ISO					0,46			0,43	0,56	0,6	0,92
18:10 W9C	4,04	4,56	4,0	4,3	1,36	4,21	0,89	1,74	1,51	2,16	0,57
18:10 W7C	0,96					1,03		0,44	0,38	0,59	
18:00	13,3	11,72	12,8	11,73	7,6	13,53	16,94	5,21	8,34	6,44	8,07
17:030H											
19:00 ISO										0,32	0,4
19:00 ANTESO					0,41				0,39	0,58	0,7
19:00 CYCLOW8C											
19:00					0,66	0,5		0,58	0,67	0,74	1,18
18:020H											
20:40 W6,9,12,15C	1,28	4,34	1,16	1,32	1,22	1,45	0,7	1,07	1,13	1,96	0,67
18:030H											
20:00 ISO											
20:20 W6,9C	4,41	4,28	5,93	4,9	0,77	3,55		4,19	2,89	4,07	0,4
20:10 W9C	3,36		3,06	3,47		2,35					
20:10 W7C											
20:00	8,33	9,24	7,26	8,28	4,52	4,94	4,27	3,7	2,72	3,52	4,41

**Ek-5. (Devamı) Yağ asitleri metil esterlerinin (FAME) analiz sonuçları**

Yağ asiti çeşidi	439	E 2-17	482	Y 8-A	I-3	I-5	SUCUK 2-10	I-6	DANA ETİ A	BURUN	I-2
09:00											
10:00											
11:00 ANTESO											
12:00		0,19									
13:00 ISO	0,33	0,25		0,14	0,27	0,13	0,31		0,23		0,16
13:00 ANTESO	0,47	0,44	0,27	0,31	0,47	0,16	0,39	0,36	0,35		0,24
12:030H											
13:00											
14:00 ISO	7,46	6,64	6,86	4,05	4,43	7,33	5,2	2,21	5,11	8,22	8,24
14:00 ANTESO											
14:00	4,59	2,84	1,13	2,62	3,49	0,76	3,51	2,46	2,78	0,83	0,93
15:00 ISO	4,69	4,34	4,71	3,11	3,25	4,79	3,32	2,86	3,67	6,19	4,92
15:00 ANTESO	40,6	48,99	48,91	48,08	44,93	45,74	42,47	43,17	48,27	44,93	51,26
16:00 ALCOHOL											
16:00 ISO	1,44	2,23	3,52	1,86	1,05	5,43	1,4	1,21	2,15	5,72	4,87
16:10 W11C											
16:00	6,52	6,24	6,69	8,7	11,45	5,06	10,66	11,1	8,11	6,01	4,93
16:10 METHYL											
ISO 17:10 W9C											
15:030H	0,44										
17:00 ISO	0,4	0,38	0,86	0,31		1,31	0,24	0,39	0,33	1,6	1,0
17:00 ANTESO	1,71	2,34	4,95	2,91	1,35	6,41	1,61	3,19	2,71	5,79	5,61
17:10 W8C											
17:00 CYCLO											
17:00	0,24	0,32	0,34	0,26	0,32	0,71	0,4	0,32	0,37	0,61	0,41
18:00 ISO		0,31	0,63	0,27		1,36			0,31	1,05	0,93
18:10 W9C	4,81	6,17	3,61	6,87	8,08	1,86	7,33	8,86	6,02	1,98	2,0
18:10 W7C	1,03	1,19	0,55	1,31	1,64	0,41	1,89	1,63	1,29	0,3	0,35
18:00	8,08	5,77	5,97	6,77	6,95	9,74	7,36	8,76	6,16	8,99	6,06
17:030H											
19:00 ISO						0,27				0,29	0,11
19:00 ANTESO			0,42	0,24		0,72		0,33	0,25	0,51	0,5
19:00 CYCLOW8C											
19:00		0,28		0,16		0,72	0,27		0,28	0,5	0,43
18:020H											
20:40 W6,9,12,15C	0,94	0,83	1,0	1,15	1,34	0,49	1,39	1,11	1,06	0,64	0,65
18:030H						0,18					
20:00 ISO											
20:20 W6,9C	4,52	2,14	0,68	2,18	1,63	0,76	2,45	2,08	2,06	0,36	1,0
20:10 W9C	2,9	1,77	0,52	1,7	2,39	0,48	2,12	2,4	1,25	0,25	
20:10 W7C											
20:00	3,44	1,53	2,44	1,53	1,76	3,18	1,89	1,9	1,58	2,37	2,29

**Ek-5. (Devamı) Yağ asitleri metil esterlerinin (FAME) analiz sonuçları**

Yağ asiti çeşidi	I-1	I-7	Y-8	E 2-18	454	MRSA 1	468	I-8	KANAT-10	H.Y IDR	K-1
09:00											
10:00											
11:00 ANTESO											
12:00		0,13									
13:00 ISO	0,33		0,17				0,27				
13:00 ANTESO	0,56		0,34	0,94	0,24		0,44				
12:030H											
13:00											
14:00 ISO	6,26	5,6	3,72	8,86	9,75	6,14	4,23	8,97	0,90	4,72	4,09
14:00 ANTESO											
14:00	3,15	0,48	2,70	4,68	1,01	0,61	3,14	1,12	0,73	3,00	1,95
15:00 ISO	4,25	3,76	3,18	4,34	5,56	4,12	2,82	5,34	5,43	3,34	4,20
15:00 ANTESO	53,5	43,7	47,74	47,74	55,23	51,31	42,37	53,69	57,67	46,35	50,93
16:00 ALCOHOL											
16:00 ISO	1,49	6,11	1,82	1,44	5,24	3,53	1,22	4,57	0,86	1,08	1,98
16:10 W11C											
16:00	7,16	4,24	8,93	6,66	4,11	4,54	11,85	5,11	8,83	10,67	8,1
16:10 METHYL											
ISO 17:10 W9C											
15:030H				1,24							
17:00 ISO		1,46	0,34		1,05	0,84		0,99	1,92		
17:00 ANTESO	2,04	8,84	3,11	1,48	5,63	5,59	1,61	5,36	11,54	1,62	3,25
17:10 W8C											
17:00 CYCLO											
17:00		0,48	0,26		0,54	0,2	0,36	0,5			
18:00 ISO		2,09	0,3		0,8	1,26		0,74			
18:10 W9C	5,32	1,5	6,71	4,58	0,7	2,01	8,26	1,65	3,76	7,9	6,61
18:10 W7C	1,07	0,35	1,38				1,82		0,77	1,59	1,39
18:00	5,31	10,93	6,91	7,04	5,47	5,18	8,32	5,07	3,48	8,52	7,35
17:030H											
19:00 ISO		0,4				0,41					
19:00 ANTESO		1,39	0,26		0,46	1,34		0,36	0,77		
19:00 CYCLOW8C											
19:00		0,68			0,43	0,46		0,42			
18:020H											
20:40 W6,9,12,15C	0,74	0,36	1,17		0,41	1,04	1,42	0,63	0,82		
18:030H											
20:00 ISO		0,29				0,45					
20:20 W6,9C	1,52	0,67	2,18	1,79			2,12	0,52	2,17		1,97
20:10 W9C	1,14	0,61	1,55	2,32		1,33	2,43			4,94	2,68
20:10 W7C											
20:00	1,41	4,5	1,63	2,41	2,11	5,01	1,83	1,86		2,5	2,16

**Ek-5. (Devamı) Yağ asitleri metil esterlerinin (FAME) analiz sonuçları**

Yağ asiti çeşidi	Y-4	KIYMA	508	P-377	SATIR	SATIR-1	Y-*	S.U-VJ	KUSBASİT2-A	Y-11	G.TİDR
09:00											
10:00											
11:00 ANTESO											
12:00											
13:00 ISO				0,35							1,36
13:00 ANTESO	0,32	0,61		0,46		0,46	0,39	0,45			0,77
12:030H											
13:00											
14:00 ISO	3,64	6,82	4,38	5,22	4,48	4,75	3,41	5,35	3,34	5,33	2,03
14:00 ANTESO											
14:00	2,69	5,00	3,22	3,44	3,49	3,17	2,88	3,25	2,93	2,16	1,81
15:00 ISO	2,91	3,01	3,07	3,30	3,07	2,95	3,33	3,40	3,45	4,11	7,86
15:00 ANTESO	43,97	38,15	46,61	47,28	47,43	45,79	50,62	46,16	46,54	51,36	45,13
16:00 ALCOHOL											
16:00 ISO	1,69	1,03	1,47	1,46	1,2	1,3	1,32	1,12	1,15	2,29	0,46
16:10 W11C											
16:00	9,61	11,84	10,4	9,93	11,37	10,44	9,24	10,03	10,58	7,2	4,78
16:10 METHYL											
ISO 17:1 W9C											
15:030H											3,17
17:00 ISO	0,33										0,57
17:00 ANTESO	3,0	1,02	2,0	1,67	1,66	1,66	2,57	1,6	2,15	2,72	2,15
17:10 W8C											
17:00 CYCLO											
17:00				0,34							
18:00 ISO	0,31										
18:10 W9C	7,92	10,26	7,37	6,51	7,42	7,66	6,98	7,5	7,94	6,52	4,36
18:10 W7C	1,58	1,8	1,78	1,69	1,63	1,57	1,31	1,47	1,42	1,51	0,92
18:00	8,42	7,92	7,42	6,87	6,62	7,6	6,13	8,13	7,05	6,61	9,22
17:030H											
19:00 ISO											
19:00 ANTESO											0,91
19:00 CYCLOW8C											
19:00											
18:020H											
20:4 W6,9,12,15C	1,18	0,59	1,19	0,98	1,22	1,39	1,07		1,46		
18:030H											
20:00 ISO											
20:2 W6,9C	2,53	1,94	1,95	1,74	1,64	1,88	1,78	5,16	1,98	2,34	
20:1 W9C	2,39	3,14	2,43	2,1	2,12	2,47	1,66		1,92	2,17	4,26
20:1 W7C											
20:00	1,93	1,85	2,11	1,95	1,83	2,16	1,69	2,59	1,88	1,73	3,96

**Ek-5. (Devam) Yağ asitleri metil esterlerinin (FAME) analiz sonuçları**

Yağ asiti çeşidi	KANAT-10-A	P5-G	KREMA 39	K-9	432	SÜT 30	KDON27	22	K36	SÜT 26	YAĞ 25
09:00					0,04						
10:00											0,5
11:00 ANTESO											
12:00					0,1			0,41			
13:00 ISO	0,35		0,32		0,15			0,33	0,33		
13:00 ANTESO	0,41	0,46	0,45		0,36	0,36		0,36	0,43		
12:030H											0,44
13:00					0,06						
14:00 ISO	7,06	5,25	3,8	0,88	2,87	6,61	7,57	9,58	8,17	7,61	6,16
14:00 ANTESİO											
14:00	3,67	3	3,12		2,49	1,19	1,33	1,36	1,24	2,75	1,16
15:00 ISO	4,07	3,21	3,02	4,62	3,14	4,11	4,52	5,46	5,15	4,26	4,99
15:00 ANTESON	47,18	44,35	45,78	58,96	46,15	36,49	39,91	51,5	44,84	43,11	45,99
16:00 NALCOHOL											
16:00 ISO	2,01	1,45	1,12	1,04	1,52	1,83	1,81	2,2	2,08	1,71	2,94
16:00 1W11C											
16:00	7,28	9,03	11,06	4,12	8,08	4,46	4,93	4,67	4,79	6,16	5,83
16:00 10 METHYL					0,13			0,34			
ISO 17:1W9C											
15:030H		1,58	0,81		2,18	6,66	5,35	1,28	2,06		
17:00 ISO				1,72	0,37	0,75	0,75	0,66	0,96		1,48
17:00 ANTESO	1,74	1,67	1,68	13,64	3,26	3,22	3,26	2,79	3,61	2,47	6,63
17:00 1W8C											
17:00 CYCLO											
17:00	0,37				0,31	0,35			0,49		0,58
18:00 ISO					0,25	0,5		0,44	0,51		0,84
18:00 1W9C	6,85	6,61	7,02	3,07	5,81	1,21	1,25	1,27	1,24	3,73	1,62
18:00 1W7C	1,55	1,59	1,6		1,11					0,98	
18:00	6,18	8,26	7,57	3,48	7,24	12,75	12,84	5,89	9,32	8,22	8,09
17:030H											
19:00 ISO					0,11						
19:00 ANTESO				1,04	0,27	0,62		0,28	0,47		0,88
19:00 CYCLOW8C											
19:00						1,58			1,0	0,52	0,86
18:020H											
20:00 4W6,9,12,15C	0,65	1,11	1,33	1,03	0,97	0,99	1,15	1,23	1,02	1,77	1,39
18:030H											
20:00 ISO											
20:00 2W6,9C	2,22	1,93	1,54	1,86	1,76	0,5		0,49	0,85	4,71	
20:00 1W9C	2,34	2,16	2,03		1,76			0,21		2,24	
20:00 1W7C											
20:00	1,81	2,2	1,86		1,53	4,09	5,56	3,32	5,05	3,96	4,5

**Ek-5. (Devam) Yağ asitleri metil esterlerinin (FAME) analiz sonuçları**

Yağ asiti çeşidi	SUCUK229	Y-17	TER 2M	464 SUCUK	Y-18	SUCUK 2-A	BONFILE 13	PEYNİR 3	PEYNİR 1	DANA ETİ 2A
09:00										
10:00										
11:00 ANTESO										0,09
12:00				0,48						0,12
13:00 ISO					0,29			0,39		0,21
13:00 ANTESO	0,46			0,35	0,34			0,51		0,38
12:030H										
13:00										0,05
14:00 ISO	5,37	4,74	6,74	3,75	8,13	7,02	6,79	7,78	6,05	3,84
14:00 ANTESO										0,04
14:00	2,78	1,33	3,21	2,15	2,56	4,02	2,91	3,16	3,02	3,11
15:00 ISO	2,83	3,08	3,52	2,4	5,23	3,13	4,68	3,84	3,09	3,73
15:00 ANTESO	24,49	33,07	38,15	24,53	46,08	32,84	37,74	37,58	32,88	47,22
16:00 ALCOHOL				0,5						
16:00 ISO	1,08	1,63	1,62	1,18	2,12	1,37	1,72	1,56		1,77
16:10 W11C										0,11
16:00	4,65	3,59	6,33	6,72	3,72	6,28	4,74	4,61	6,59	8,29
16:10 METHYL	1,35							0,19		0,15
ISO 17:10 W9C				0,45						
15:030H	8,74	16,28		12,34				10,38	15,5	1,13
17:00 ISO					0,69		0,6	0,24		0,61
17:00 ANTESO	1,28	2,92	2,28	1,57	2,71	1,79	2,67	1,46	1,64	2,75
17:10 W8C	0,54									0,12
17:00 CYCLO	0,64									
17:00	0,6			0,35	0,34	0,39				0,2
18:00 ISO					0,35					0,27
18:10 W9C	1,62	1,81	2,88	1,61	2,63	4,37	3,16	2,55	2,74	5,4
18:10 W7C					0,68	0,93		0,74		1,03
18:00	15,39		11,67	18,81	7,32	12,17	11,02			6,31
17:030H	1,73									0,18
19:00 ISO										0,11
19:00 ANTESO										0,16
19:00 CYCLOW8C	0,57									0,1
19:00			0,99		0,62	1,06	0,98			
18:020H	0,31									
20:40 W6,9,12,15C	0,68	1,18	1,47	0,51	1,03	1,0		1,17		1,1
18:030H										
20:00 ISO										
20:20 W6,9C	2,89	3,59	4,61	2,23	4,49	5,22	5,76	3,19	3,6	1,71
20:10 W9C	1,58		2,56		1,45	3,85	3,11	1,35	3,61	1,11
20:10 W7C										0,15
20:00	8,38	6,79	9,28	2,9	4,53	9,6	9,64	2,71	9,28	1,39



## Ek-5. (Devam) Yağ asitleri metil esterlerinin (FAME) analiz sonuçları

Yağ asiti çeşidi	PEYNİR D	PEYNİR 4-L	PEYNİR 2	39	K 28	PEYNİR 11-10	SUT 1-H	SUCUK B	506	K-11	K-14
09:00											
10:00											
11:00 ANTESO											
12:00									0,26		
13:00 ISO				0,29					0,32		
13:00 ANTESO	0,54			0,33				0,27	0,38		
12:030H											
13:00											
14:00 ISO	5,69	7,02	6,33	6,2	8,63	7,01	6,07	3,58	4,71	0,54	4,50
14:00 ANTESO											
14:00	2,4		2,99	1,46	1,77	1,02	0,77	2,53	3,18	0,58	2,51
15:00 ISO	3,4	4,32	3,54	5,11	6,28	4,47	4,45	3,22	3,22	5,05	3,45
15:00 ANTESO	35,37	38,84	37,86	51,06	48,08	39,89	39,85	43,87	46,36	54,20	49,87
16:00 ALCOHOL											
16:00 ISO	1,37	2,11	1,46	2,58	2,15	2,07	4,24	1,84	1,56	0,58	2,18
16:10 W11C											
16:00	7,42	5,03	7,69	3,65	5,86	4,64	5,54	9,49	9,59	4,3	8,28
16:010 METHYL											
ISO 17:1 W9C	2,83	2,6	1,2								
15:030H						1,33					
17:00 ISO	0,4			0,77	1,12	0,89	1,44	0,43	0,23	1,76	
17:00 ANTESO	1,9	3,65	2,2	4,32	3,99	3,92	6,65	3,55	2,06	10,87	3,33
17:10 W8C											
17:00 CYCLO											
17:00				0,33			0,9	0,38	0,1		
18:00 ISO				0,48		0,84	1,46	0,34	0,18		
18:10 W9C	4,46	1,03	4,48	2,43	1,27	1,34	2,26	7,18	6,83	5,15	6,37
18:10 W7C	1,01		1,07	0,6			0,43	1,54	1,81	1,15	1,49
18:00	11,7	15,56	10,72	6,02	9,38	12,98	13,07	8,51	6,72	3,88	6,32
17:030H											
19:00 ISO							0,4				
19:00 ANTESO		0,83		0,42		1,0	1,04	0,36		0,82	
19:00 CYCLOW8C											
19:00					0,85		1,25				
18:020H											
20:4 W6,9,12,15C	1,58		1,65	1,52	1,13		0,52	1,08	1,09	1,19	0,92
18:030H											
20:00 ISO							0,21				
20:2 W6,9C	4,12		4,43	3,4			1,82	2,56	2,12	2,61	2,13
20:1 W9C	3,28		2,89	0,77			0,66	1,8	1,94	1,08	1,43
20:1 W7C											
20:00	5,07	13,03	4,88	2,4	5,84	13,83	5,44	1,98	1,89		1,78

**Ek-5. (Devam)** Yağ asitleri metil esterlerinin (FAME) analiz sonuçları

Yağ asiti çeşidi	K-5	K-12	K-15	Y-1	MSSA	528	YENİSUCUK	433-B	PEY 8	19	NRRLB-767
09:00											
10:00											
11:00 ANTESO											
12:00											
13:00 ISO				0,61				0,2	0,41		
13:00 ANTESO					0,36			0,46	0,51		
12:030H											
13:00									5,14	5,22	
14:00 ISO	0,62	0,70	7,54	3,75	8,48	4,46	4,5	2,88			0,42
14:00 ANTESO									1,98	2,14	
14:00			2,26	2,61	0,94	2,79	1,11	3,1	4,1	3,15	0,34
15:00 ISO	4,78	5,58	4,78	3,43	3,85	1,73	3,12	3,33	31,68	32,95	5,86
15:00 ANTESO	56,63	60,74	49,00	42,13	41,69	18,36	33,57	43,97			50,54
16:00 ALCOHOL									1,49	1,37	
16:00 ISO	0,91	1,14	3,3	1,57	2,0	0,68	2,01	1,41			0,84
16:10 W11C									5,55	5,64	
16:00	4,41	2,69	5,59	7,96	5,77	3,75	3,27	10,35			4,16
16:10 METHYL								0,18			
ISO 17:10 W9C									12,27	7,34	
15:030H				3,54		14,14	5,98	0,95	0,6	0,33	
17:00 ISO	1,99	2,79			0,83		0,56	0,34	2,19	2,00	3,25
17:00 ANTESO	14,41	19,19	2,93	2,51	3,55	0,82	3,26	2,89			16,14
17:10 W8C											
17:00 CYCLO											
17:00					0,37		0,42	0,21			0,24
18:00 ISO			0,57		0,73		0,68	0,25	2,98	3,31	
18:10 W9C	3,57	1,06	4,87	6,19	1,83	2,27	2,36	7,18	0,94	0,87	4,71
18:10 W7C			1,18	1,24			0,57	1,25		12,49	0,6
18:00	3,87	2,43	6,73	9,16	11,2	19,0	13,83	7,3			3,77
17:030H											
19:00 ISO											0,5
19:00 ANTESO	1,36				0,58		0,66	0,28			1,45
19:00 CYCLOW8C											
19:00					0,99		2,01				
18:020H									1,46	1,6	
20:40 W6,9,12,15C	0,99		0,83	1,11	1,2	0,59	0,87	1,11		0,51	0,85
18:030H											
20:00 ISO									3,82	3,38	
20:20 W6,9C	1,87		2,46	1,95	0,92	2,82	3,63	1,92	1,84	1,72	1,3
20:10 W9C			1,21	1,54	0,66	2,33	1,68	1,3			0,73
20:10 W7C									3,74	2,88	
20:00			1,93	1,76	9,02	6,67	6,01	1,67			0,49

EK-6. CLIN-50 Veri tabanına göre *S. aureus* izolatlarının isimlendirilmesi

İzolatlar	<i>Kocuria-rosea</i>	<i>S.simulas</i>	<i>S.cohnii-cohnii</i>	<i>Listeria ivanovii</i>	<i>S.aureus</i>	<i>B.circulans</i>	<i>S.xylosum</i>	<i>S.warneri</i>	<i>R.muclagimosa</i>	<i>R.dentocartosa</i>	<i>J.denitrificans</i>	<i>Kocuria-varians</i>	<i>S.camposus</i>
M.K.BRN.BGZ						0,131			0,122		0,105		
Y-15						0,371							
NRRL B 767	0,447	0,379	0,329	0,32	0,307								
E1-10						0,163			0,11				
PEY 10													
PEY 18													
PEY 38						0,108	0,116	0,136	0,108				
K 33-A													
TER 31						0,154	0,116		0,127				
K 28-A						0,149	0,111		0,127				
YAĞ 32													
PEY 7													
PEY 8													
19													
PEY29													
PEYNİR 9													
SUCUK 8						0,078	0,124		0,083				
Y-20													
Y-19													
BAGET 14													
TAHTA													
Y-20A													
433					0,105		0,102	0,083					
Y-7													
PEYNİR 5C													
PEYNİR 2													
PEYNİR D													
PEYNİR 4-L													
40													
438													
MAK 6													
48													
K 36 B						0,143	0,114		0,131				
E1-7													
KREMA 16													
E 1-6						0,125			0,114				
44													
43						0,171	0,146						
41						0,228	0,194						
39						0,186	0,126						
K 28						0,148	0,148		0,105				
PEYNİR 11-10					0,094		0,106	0,112					
439									0,111				
E 2-17						0,179			0,158				
482						0,249			0,169				
Y 8-A	0,096					0,154			0,113	0,096			
I-3						0,101			0,119	0,091	0,119		
I-5					0,194	0,177		0,223	0,192	0,134			
SUCUK 2-10						0,087			0,137	0,095	0,089		
I-6													
DANA ETİ A						0,176			0,136				
BURUN						0,225		0,164	0,256				
I-2						0,317							



**EK-6. (Devam) CLIN-50 Veri tabanına göre *S. aureus* izolatlarının isimlendirilmesi**

İzolatlar	Kocuria-rosea	S. simulans	S. cohnii-cohnii	Listeria ivanovii	S. aureus	B. circulans	S. xylosofus	S. warneri	R. mucilaginosus	R. dentocariosus	J. dentrificans	Kocuria-variens	S. carnosus
464 SUCUK													
Y-18						0,092	0,083		0,112				
SUCUK 2-A													
BONFILE 13													
PEYNİR 3													
PEYNİR 1													
DANA ETİ 2A	0,109					0,165			0,111				
433-B	0,099					0,102			0,101	0,127			
sayı	13	3	1	2	7	54	18	10	43	16	12	1	1
yüzde	11,9	2,75	0,92	1,83	6,42	49,54	16,51	9,17	39,45	14,68	11,01	0,92	0,92