

GIDA VE İNSAN KAYNAKLI
***Staphylococcus aureus* STRAINLERİNİN**
KARAKTERİZASYONU

Pınar ÇAKIR
Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı
Ocak 2007

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Pınar ÇAKIR'ın "**İnsan ve Gıda Kaynaklı *Staphylococcus aureus* Strainlerinin Karakterizasyonu**" başlıklı **Biyoloji** Anabilim Dalındaki Yüksek Lisans Tezi 26.12.2006 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 :	Yard. Doç. Dr. MUSTAFA YAMAÇ

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... Tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖZET**YÜKSEK LİSANS TEZİ****GIDA VE İNSAN KAYNAKLI
Staphylococcus aureus STRAİNLERİNİN KARAKTERİZASYONU****Pınar ÇAKIR****Anadolu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı****Danışman: Prof. Dr. Kıymet GÜVEN
2007, 97 sayfa**

Bu çalışmada Eskişehir merkezde satış yapan çeşitli kasap, mandıra, pastane, semt pazarlarından gıda örnekleri temin edilip, toplam mezofilik bakteri yükü araştırılmış, aynı zamanda bu gıda örneklerinde *Staphylococcus aureus* bakterisi izole edilerek karakterize edilmeye çalışılmıştır.

Toplam mezofilik bakteri yoğunluğu açısından üç gıda örneğinin Türk Gıda Kodeksinin belirlediği mikrobiyolojik kriterleri aştığı tespit edilmiştir.

İdentifikasyon testlerinde geleneksel biyokimyasal testler ve VİTEK sistemi kullanılmıştır. Fenotipik tiplendirme için, antibiyotik duyarlılık testleri, SET-RPLA test kiti ile enterotoksin belirleme testi ve FAME analizleri, genotiplendirme içinse PFGE ve Ribotiplendirme metotları kullanılmıştır.

Analiz edilen izolatların geleneksel biyokimyasal testleri ile VİTEK analizatörü ile yapılan test sonuçları uyumlu bulunmuştur. Antibiyotiklere karşı duyarlılık sonuçlarına göre izolatların %30,64'ü oksasiline dirençli bulunmuştur. En yüksek dirençlilik Amoksisilin-klavulanik asit'e (% 79,03) gösterilmiştir. SET- RPLA test kiti ile üç izolatın enterotoksin D, dört izolatın enterotoksin A ve bir izolatın C ve D enterotoksini ürettiği belirlenmiştir. FAME analizi ile izolatların identifikasyonu gerçekleştirilmiş, yağ asitleri profilleri belirlenmiş ve gelecekteki *S. aureus* çalışmalar için yağ asitleri veri tabanı oluşturulmuştur.

İzolatların PFGE analizi sonucunda 35 pulsotip, ribotiplendirmede ise 7 ribogrup tespit edilmiştir. Bu yöntemler özellikle strainlerin genotiplerinin belirlenmesinin gerektiği epidemiyolojik çalışmalarda güvenilir bir şekilde kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: *Staphylococcus aureus*, VİTEK, FAME, PFGE, Ribotiplendirme

ABSTRACT**Master of Science Thesis****CHARACTERIZATION OF *Staphylococcus aureus* ISOLATED FROM
HUMAN AND FOODS****Pınar ÇAKIR****Anadolu University
Graduate School of Sciences
Biology Program****Supervisor: Prof. Dr. Kıymet GÜVEN****2007, 97 pages**

In this study, food samples were obtained from different butchers, dairies, patisseries, street markets in Eskisehir and total mesophilic bacteria load were investigated. *Staphylococcus aureus* bacterium was also isolated from this food samples then they were characterized.

It was determined that total mesophilic bacteria load of three food samples has exceeded the microbiological criteria of Turkish Food Criteria.

For identification, conventional biochemical techniques and VİTEX system were used. Phenotyping included antibiotic sensitivity tests, enterotoxin determination test with SET-RPLA, Fatty Acid Methyl Esters analysis, however genotyping was carried out by using pulsed field gel electrophoresis and automatic ribotyping.

Conventional biochemical test results consisted with VİTEX results. According to the antibiotic sensitivity tests results 30,64 % of the isolates showed resistance to oxacilin. The highest resistance (79,03%) was obtained with the amoxicilinklavulanic acid. SET-RPLA tests indicated that three isolates produced enterotoxin D, four isolates produced enterotoxin A and one isolate produced enterotoxin C and D together. Identification of isolates was done by FAME analysis and fatty acid profiles were determined for each isolate. A fatty acids database for *Staphylococcus aureus* was constructed for future studies.

PFGE analysis of isolates resulted 35 pulsotypes while ribotyping resulted 7 ribogroups. This methods can be used reliably for determining strain genotypes in epidemiological studies.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, VITEK, FAME, PFGE, Ribotyping

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca beni destekleyen, yönlendiren ve teşvik eden, teorik ve deneysel çalışmalarımda bilgisine başvurduğum Sayın Hocam Prof. Dr. Kıymet GÜVEN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Laboratuarda çalıştığım süre boyunca desteğiyle her zaman yanımda olan, yardımını esirgemeyen ve zamanını aldığım değerli hocam Araş. Gör. M. Burçin MUTLU'ya çok teşekkür ederim

Laboratuvar alet ve ekipmanlarını kullanmamda bana yardım eden Uzm. Erdoğan ÇAKIR'a teşekkür ederim.

Çalışmamı bitirmemde değerli katkılarını gördüğüm en büyük desteğim Uzm. Ferhat ALTUNSOY'a hep yanımda olduğu için çok teşekkür ederim

Maddi ve manevi destekleriyle beni yalnız bırakmayan aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Pınar ÇAKIR

Ocak 2007

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
1.GİRİŞ	1
1.1. Taksonomi, Üreme Ve Biyokimyasal Özellikleri.....	2
1.2. İdentifikasyon.....	4
1.3. Antijenik Özellikleri.....	5
1.4. Enzim Ve Toksinleri	5
1.4.1. Enzimler	5
1.4.2. Toksinler	6
1.5. Patojenite.....	7
1.5.1. Toksinlere Bağlı Olarak Ortaya Çıkan Hastalıklar	8
1.5.2. İnvazyon Ve Sistemik Yayılım Sonucu Ortaya Çıkan Hastalıklar	9
1.6. Gıdalardaki Önemi Ve Doğadaki Yayılımı	10
1.6.1. Türk Gıda Kodeksive <i>S. aureus</i>	13
1.7. <i>S. aureus</i> İzolatlarında Tiplendirme Çalışmaları	14
2. MATERYAL VE YÖNTEM	19
2.1. Materyaller	19
2.1.1. Örneklerin Alınması.....	19
2.1.2. Kullanılan Malzeme Ve Ekipman.....	19
2.1.3. Kullanılan Besiyerleri	19
2.1.3.1. Baird Parker Agar (BPA, Oxoid).....	19
2.1.3.2. Plate Count Agar (PCA, Merck).....	20
2.1.3.3. Nutrient Agar (NA, Merck).....	20

2.1.3.4. Nutrient Broth (NB, Merck).....	20
2.1.3.5. Glukozun Anaerobik Fermantasyon Besiyeri (GAFB).....	20
2.1.3.6. Mannitolun Anaerobik Fermantasyon Besiyeri (MAFB)	21
2.1.3.7. Mannitol Tuzlu Agar (MTA, Merck).....	21
2.1.3.8. Nutrient Jelatin Basiyeri (NJB, Oxoid).....	21
2.1.3.9. Mueller Hinton Agar (MHA, Merck)	21
2.1.3.10. Triptik Soy Broth (TSB, Merck).....	22
2.1.3.11. ASS Agar (D.S.T agar Antibiotic sulfonamide sensitivity- test agar for microbiology).....	22
2.1.3.12. Deoksiribonükleaz Agar (DNaz, Merck).....	22
2.1.3.13. Brain Heart İnfüzyon Broth (BHIB, Merck).....	22
2.1.3.14. Fermantasyon Besiyeri (FB)	23
2.1.4. Boyalar Ve Diğer Solüsyonlar	23
2.1.4.1. Egg Yolk Tellurit Solüsyonu (Oxoid, SR0054C LOT:350561) .	23
2.1.4.2. Kristal Viyole Solüsyonu	23
2.1.4.3. İyot Solüsyonu	23
2.1.4.4. Safranin Solüsyonu	24
2.1.4.5. HCl	24
2.1.5. Pulset Field Jel Elektropherez analizinde kullanılan tampon ve çözeltiler	24
2.1.5.1. TEN Tamponu.....	24
2.1.5.2. Lysis Tamponu.....	24
2.1.5.3. ESP Tamponu	25
2.1.5.4. TE Tamponu.....	25
2.1.5.5. 5X TBE Tamponu	25
2.1.5.6. Lysostaphin (Sigma, Lot:083K4024).....	25
2.1.5.7. LMP agaroz (Low melting point agaroz) (Sea Plaque GIG 50111)	26
2.1.5.8. Elektropherez jeli (Bio-Rad agaroz, Sea Kem GTC1-800-342-1574)	26
2.1.5.9. Boyama Solüsyonu	26
2.1.5.10. Restriksiyon Buffer	26

2.1.6. Hücresel Yağ Asitlerinin Analizinde Kullanılan Tampon Ve Çözeltiler	26
2.1.6.1. Çözelti 1(Hücre parçalayıcı)	26
2.1.6.2. Çözelti 2 (Metilleştirme)	27
2.1.6.3. Çözelti 3 (Saflaştırma)	27
2.1.6.4. Çözelti 4 (Bazik Yıkama)	27
2.1.6.5. İlave Çözelti	27
2.2. Yöntem	28
2.2.1. Örneklerin Analize Hazırlanması	28
2.2.2. Elde Edilen İzolatlara Uygulanan İdentifikasyon Testleri	29
2.2.2.1. Morfolojik Ve Biyokimyasal Testler	29
2.2.2.2. Vitek Sistem İle Analiz	31
2.2.3. Tiplendirme Testleri	32
2.2.3.1. Fenotipik testler	32
2.2.3.2. Genotipik Testler	34
3.BULGULAR.....	37
3.1. İncelenen Örneklerdeki Mikroorganizma Sayısı	37
3.1.1. Et Örneklerindeki Toplam Mikroorganizma Sayısı	37
3.1.2. Süt Örneklerindeki Toplam Mikroorganizma Sayısı	38
3.1.3. Peynir Örneklerindeki Toplam Mikroorganizma Sayısı	39
3.1.4. Dondurma Örneklerindeki Toplam Mikroorganizma Sayısı	40
3.2. <i>S.aureus</i> İzolasyonu	41
3.3. İdentifikasyon	42
3.3.1. Morfolojik Ve Biyokimyasal İdentifikasyon	42
3.3.2. Vitek Otomatik Sistem İle Analiz	44
3.4. Tiplendirme Testleri	47
3.4.1. Fenotipik testler	47
3.4.1.1. Antibiyotiklere Duyarlılık Testi	47
3.4.1.2. SET-RPLA (Staphylococcal enterotoksin test by reserved passive latex agglutination) ile enterotoksin analizi	48
3.4.1.3. Yağ Asitleri Metil Esterlerinin (FAME) Analizi	49
3.4.2. Genotipik Testler	52

3.4.2.1. Kromozomal DNA'nın Pulsed Field Jel Elektroforez (PFGE) İle Analizi.....	52
3.4.2.2. Ribotiplendirme	56
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	61
KAYNAKLAR	71
EK-1. Biyokimyasal Test Sonuçları.....	78
EK-2. <i>S. aureus</i> İzolatlarının VİTEK Otomatik Sistemi İle Analiz Sonuçları	80
EK-3. <i>S. aureus</i> İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Testleri	83
EK-4 Yağ Asitleri Metil Esterleri (FAME) Analiz Sonuçları.....	86
EK-5. CLIN-50 Veri Tabanına Göre <i>S. aureus</i> İzolatlarının İsmlendirilmesi.....	94

ŞEKİLLER DİZİNİ

3.1. <i>S.aureus</i> 'un Baird Parker Agar'daki görünümü.....	43
3.2. Gram boyama ile <i>S. aureus</i> 'un mikroskopik görünümü. Gr pozitif (+), kok şekilli hücreler.....	43
3.3. Mueller Hinton Agar besiyerinde E29b izolatına ait bakteri halısı üzerinde antibiyotik disklerinin oluşturduğu inhibisyon zonları.....	47
3.4. Analiz Edilen Bazı <i>S. aureus</i> İzolatlarının PFGE Profilleri.....	54
3.5. <i>S. aureus</i> İzolatlarının PFGE Analizi İle Benzerlik Oranları.....	55
3.6. <i>S. aureus</i> İzolatının Ribotiplendirme Profilleri.....	57
3.7. Ribogrupların Benzerlik Yüzdesi.....	57

ÇİZELGELER DİZİNİ

3.1. Et örneklerindeki toplam bakteri sayısı.....	37
3.2. Süt örneklerindeki toplam bakteri sayısı.....	39
3.3. Peynir örneklerindeki toplam bakteri sayısı.....	39
3.4. Dondurma örneklerindeki toplam bakteri sayısı.....	41
3.5. İzole edilen bakterilerin kaynaklarına göre dağılımı.....	42
3.6. Biyokimyasal test sonuçları.....	44
3.7. Vitek analiz sonuçları.....	46
3.8. <i>S.aureus</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları.....	48
3.9. SET-RPLA ile enterotoksin testi analiz sonuçları.....	49
3.10.İzolatların içerdikleri yağ asitlerinin, ortalaması ve standart sapması.....	50
3.11.PFGE ile oluşan pulsotipler ve pulsotiplerde yer alan izolatlar.....	52
3.12.İzolatların Enterotoksin Tipleri, Pulsotipleri ve Ribogrupları.....	59

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- SET-RPLA : Staphylococcal enterotoxin test by reversed passive latex agglutination
- MIS : Mikrobiyal identifikasyon sistem
- PFGE : Pulsed field gel elektroforez
- NCCLS : National committee for clinical laboratory standarts
- FAME : Fatty acid methyl esters
- MRSA : Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*

1.GİRİŞ

'Staphylococcus' ismi ilk defa 1881 yılında insan abselerinden izole ettiği organizmaları tanımlayan ve fareye enjekte edildiğinde piyojenik hastalıklara neden olduğunu gösteren İskoçyalı cerrah Alexander Ogston tarafından verilmiştir. Staphylus eski Yunanca'da üzüm anlamına gelmekte olup bu bakterilerin üreme esnasında birbirlerinden ayrılmayarak üzüme benzer kümeler yapmalarından dolayı bu deyim kullanılmıştır (Sandel ve Mc Killip 2004; Brock ve Madigan, 2006). İki yıl sonra Rosenbach saf kültürdeki gelişimlerini pigmentasyon bazında tanımlayarak sarı koloni oluşturan suşlara *Staphylococcus aureus* adını vermiştir (Ünlütürk ve Turantas 1998; Demirolok 2000; Brock ve Madigan 2006).

Stafilokoklar ortam şartlarına karşı oldukça dayanıklı mikroorganizmalar olup doğada çok yaygın olarak bulunurlar (Hacıbektaşoğlu ve ark. 1993). İnsan, hayvan ve bitkilerde normal flora üyesi olarak bulunabilirler. Doğal olarak en fazla burun ve boğaz boşluğunda, insan ve hayvan dışkılarında, ciltte abseli yaralarda ve sivilcelerde yoğun olarak bulunurlar. *S. aureus* insanlarda birçok enfeksiyonlara neden olmaktadır. Ortam şartlarına dayanıklı olduklarından doğada çok yaygındırlar. Bunun yanında insan ve hayvanlarda birçok hastalıkların etkeni olarak da önem taşırlar. Halen en sık karşılaşılan cilt ve yumuşak doku enfeksiyonu, septik artrit, ostomyelit, infektif endokardit, bakteriyemi, mastit, menenjit, gibi klinik bir çok tablonun etkenidirler (Avkan 1997; Tükel ve Doğan 1999; Gülbandılar 2006)

Gıdalarda, gıda işletmelerinde, kurumlara ait büyük mutfaklarda bu bakteriye rastlanmaması hijyen göstergesi olarak kabul edilir (Tunail 2000). Gıdalarda ve gıda işletmelerinde, elle gıda hazırlayanlarda, hastane personeline ve hastane ortamlarında da yaygın olarak bulunurlar. Söz konusu bakteri ellere bulaşır ve derinin alt tabakalarına geçerek gözeneklerde ve kıl köklerinde çoğalır. Nasal stafilokoklar, taşıyıcılarla çevreye yayılarak tehlike oluştururlar. Taşıyıcı olan ve özellikle gıda sektöründe bizzat elleriyle gıda hazırlayanlar stafilokok besin zehirlenmelerinin önemli kaynağıdırlar. Gıdalar üzerinde uygun şartlar

yakaladıklarında çoğalmakta ve toksin üretmektedirler. Ürettikleri toksinler gıda yoluyla vücuda girerek intoksikasyon oluştururlar (Gülbandılar 2006).

Stafilokoksik besin zehirlenmelerinin epidemiyolojisi kişiden kişiye taşınma ile karakterizedir. Sorumlu mikroorganizma genellikle yiyeceği hazırlayan kişiden izole edilebilir. Stafilokoksik besin zehirlenmesi bir infeksiyondan çok gastrointestinal bir intoksikasyondur. *Staphylococcus aureus*'un toksijenik suşları ile kontamine olmuş yiyeceklerin alınmasıyla meydana gelir. Enterotoksin yapan stafilokoklar çoğu kez patojen stafilokoklardır ve *Staphylococcus aureus* kökenlerinin %50'den fazlası enterotoksijen olup çoğu insanlardan özellikle burun ve el taşıyıcılarından kaynaklanır (Hacıbektaşoğlu ve ark. 1993).

Bu çalışmada çeşitli gıda örnekleri, gıda elleyicileri ve ekipmanlardan seçici olarak izole edilen *S. aureus* bakterileri, önce tanımlama testlerine alınmış daha sonra tiplendirme testlerine geçilmiş, farklı izolatlar arasında akrabalık ilişkisinin var olup olmadığı araştırılmaya çalışılmıştır. Bu amaçla elde edilen tüm izolatların biyokimyasal testleri yapıldıktan sonra VITEK otomatik analiz sisteminde identifikasyonları doğrulanmış ve fenotipik tiplendirmesi için antibiyogram testleri, enterotoksin analizi ve yağ asidi metil esterlerinin (FAME) gaz kromatografisi ile analizi, genotipik tiplendirmesi için ise Pulsed Field Gel Elektrophoresis (PFGE) ve ribotiplendirme yöntemleri kullanılmıştır.

1.1 Taksonomi, Üreme Ve Biyokimyasal Özellikleri

Firmucutes şubesi, Bacilli sınıfı, Bacillates takımı, Staphylococcaceae familyası, Staphlococcuc cinsi içinde yer alan *S. aureus*, hareketsiz gram pozitif kok şeklinde, genellikle düzensiz kümeler oluşturur (Boone ve ark. 2001).

Fakültatif anaerop, katalaz pozitif olan *S. aureus* seçici olmayan besiyerlerinde düz, parlak, dairesel, konveks koloniler oluşturmaktadır. Genellikle koagülaz üreten *S. aureus* %10'a kadar olan NaCl konsantrasyonlarında iyi gelişirken, %15 NaCl konsantrasyonlarında gelişimi zayıftır. *S. aureus* suşları optimum 30-37⁰C'lerde gelişirler. Optimum olarak 7.0-7.5 pH'da gelişirler. Glukoz, laktoz, maltoz ve mannitolden aerobik ve anaerobik koşullarda asit

meydana getirir, ayrıca diğerkarbonhidratların çoğundan aerobik koşullarda asit meydana getirirler (Tükel ve Doğan 1999; Tunail 2000; Tükel ve Doğan 2000; Wang ve ark. 2003).

Altın sarısı, limon sarısı ve porselen beyazı renkte üç çeşit suda eriyen pigment üretirler. Pigment rengine göre isimlendirilirler. Ender olarak bazı izolatlar pigmentsizdir. Anaerobik şartlarda veya sıvı besiyelerinde üreyenlerde pigment görülmeyebilir veya bej rengi olarak görülür. Pigment üretimi 24-48 saatte oda ısısında inkübasyon ile arttırılabilir. Ortamda sığırkremasının bulunması, pigment oluşturma özelliğini arttırıcı etki yapar. Çoğu koyun, at, insan kanlı besiyerinde 24-36 saat içinde hemolizin üretir, hemoliz görülür. Kanlı agar besiyerinde kolonilerin çevresinde genellikle çoğu tam hemoliz bölgesi oluştururlar, diğerkleri ise hemoliz oluşturmazlar. Jelatini eritir, nitratları nitrat ve amonyağa indirgerler. Stafilokokların fermantatif ve proteolitik özellikleri de vardır. Ancak, üredikleri gıdalarda herhangi bir kötü koku ve görünüş meydana getirmezler. Stafilokok zehirlenmelerine neden olan bakterinin bizzat kendisi değil, ortama salgıladıkları enterotoksin adı verilen bir maddedir (Vural ve Öztan 1993; Avkan 1997; Demirolok 2000; Gülbandılar 2006).

Aerobik ve anaerobik şartlarda selektif olmayan kanlı agar, nütrient agar, tryptic soy agar, brain heart infusion agarda ürerler. *S. aureus* kolonileri genişliği 6-8 mm çapında keskin kenarlı, düz, konveks, yarı şeffaftır. Besin istekleri fazla değildir. Gelişme sınırları 6-46⁰C arasındadır. Toksin oluşturmaları için gerekli minimum ve maksimum sıcaklık dereceleri biraz daha yüksek olup 10-48⁰C'dir. Optimum olarak 7.0-7.5 pH'da gelişirler. Minimum su aktivite değeri aerop gelişme için As:0.83-0.86, anaerop gelişme için As:0.90 olarak belirlenmiştir. Feçes gibi kontamine örneklerden stafilakokları ayırmak ve çoğaltmak için selektif besiyerleri (mannitol salt agar, schleifer-kramer agar, columbia colistin-nalidixic asit agar- CNA-, lipaz salt mannitol agar veya feniletal alkol agar) kullanılır (Vural ve Öztan 1993; Avkan 1997).

Ağır metallere, klinik mikrobiyolojide kullanılan pek çok antibiyotiğe karşı genetik olarak kazanılmış bir direnç sistemine sahiptir. Bununla beraber tuz dışında gıda koruyucularına direnci yoktur. Tuza dayanıklılıkta en önemli

ozmoprotektant maddeler hücre içine biriken glisin, betain, ve prolin'dir. Tuzlu ve düşük su aktiviteli gıdalarda gelişemez iken diğer bakterilerin rekabetçi etkisinden kurtularak daha rahat bir gelişme gösterir (Tükel ve Doğan 2000).

1.2 İdentifikasyon

Şüpheli kolonilerden doğrulama testlerinde kullanılmak üzere nütrient broth besiyerine inokülasyon ve yatık nütrient agar besiyerine sürme yapılır.35-37 °C'de 18-24 saat inkübe edilir.

Seçilen tipik ve atipik kolonilerin gram pozitif koklar olup olmadığı belirlenmelidir. Katalaz reaksiyonu pozitif olan mikroorganizmalar için diğer aşamada koagülaza bakılır. Koagülaz, kan plazmasını koagüle eden bir enzimdir.

S. aureus iki tip koagülaz enzimi içermektedir: 1 serbest koagülaz ekstrasellüler bir enzimdir, protrombin ve derivatları ile reaksiyona girer. 2. bağlı koagülazdır, hücre duvarı yüzeyine lokalize olmuştur. Koagülaz testi, her iki koagülaz formunda da belirlenmektedir (Tükel ve Doğan 1999). Koagülaz testi için çeşitli plazmalar kullanılabilir fakat EDTA'lı tavşan plazması tercih edilir.

Slide test *S. aureus* identifikasyonunda hızlı tarama testidir. *S. aureus* türlerinin % 95'inden fazlası pozitifdir. Slide testleri için alternatif metotlar, ticari hem aglütinasyon slide testleri ve hem clumping faktör hem de protein A'yı saptayabilen ticari latex aglütinasyon testleridir (Avkan 1997).

S.aureus suşlarının glikozu ve mannitolü anaerobik koşullarda kullanmaktadır. Glukozu anaerobik şartlarda kullanarak sarı renk oluştururlar.

Deoksiribonükleaz tespiti için uygulanan bir test olan Dnase testi, deoksiribonükleaz pozitif mikroorganizmaların tespit edilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Asitte, DNA'ların farklı çözünürlükleri değerlendirilir. Koagülaz ve DNaz testi *S. aureus* izolatlarının patojenliğini belirlemede önemli bir indikatördür (Tükel ve Doğan 1999; Gündoğan ve ark. 2005).

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 zonunun oluşmasına neden olur. Fakat böyle besiyerlerinde zonsuz atipik koloni oluşturan suşların da geliştiği belirlenmiştir (Tükel ve Doğan 2000; Gülbandılar 2006).

Koloni morfolojileri kesin ayırıcı tanı sağlamaz. Bu nedenle stafilokoklarını hem cins hem de tür farklılıkları için diğer özelliklerinin değerlendirilmesi gerekir (Avkan 1997).

1.3 Antijenik Özellikleri

S. aureus'un 30'dan fazla antijeni vardır. Bunların bir kısmı diğer stafilokok türleri, mikrokoklar ve *Listeria* gibi başka bakterilerle ortaktır. En önemli antijenik yapı hücre duvarıdır. Hücre duvarının temel yapısı, duvar ağırlığının %50'sini oluşturan peptidoglikandır. Peptidoglikan, N-asetilmuramik asit ve N-asetilglukozamin'den oluşmuş polisakkaritlerdir. Bunlar interlökin-1 üretimini sağlar, endotoksin benzeri aktiviteye sahiptir, komplemanı aktive eder ve antikorların üretimini sağlar.

Diğer önemli hücre duvarı yapısı fosfat içeren teikoik asittir. Yaklaşık hücre duvar yapısının %40'nı oluştururlar.

Ayrıca *S. aureus*'un dış peptidoglikan seviyesinde 42.000 dalton molekül ağırlığa sahip PROTEİN A bulunur. En önemli özelliği çeşitli memeli türlerinde bulunan bazı immunoglobulin G (IgG) alt sınıflarının (insan immunoglobulinin IgG 1, IgG 2, IgG 4 alt sınıfları) Fc uçlarına bağlanarak uygun koşullarda komplemanı aktivite edebilmesidir (Avkan 1997; Gülbandılar 2006).

1.4 Enzim Ve Toksinleri

1.4.1 Enzimler

Katalaz; bütün stafilokoklar hidrojen peroksiti katalaz ile su ve oksijene parçalar. Stafilokokkal fagositik ölüm fagositlerde üretilen toksik oksijen radikalleri ile ilişkili olduğu için, katalaz üretiminin konak defans mekanizmaları ile etkileşerek, patojenisite ile uyumlu olduğu gösterilmiştir

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 sorumludur.

Nukleaz; bir fosfodiesterazdır.

Lipase; infeksiyonun yayılımında rolü olduğu düşünülen enzimlerdir

Hyaluronidase; bağ dokusunun hücresiz matriksindeki mukopolisakkarit asidin bir grubu olan hiyalünorik asidi hidrolize eder.

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

1.4.2 Toksinler

Alfa toksin; eritrosit, lökosit, trombosit gibi çeşitli eukaryotik hücre membranlarını etkiler. Bakteriyel sitoplazmik membranı etkilemez. Eritrositler en duyarlı hücrelerdir, hemoliz görülür.

Beta toksin; sfingomyelin üzerine sitotoksik etkilidir.

Gama toksin; başlıca sitolizindir. İnsan dahil birçok türde eritrositleri hemoliz eder. Mekanizması bilinmez. Konak hücre fonksiyon ve yapısını etkilediklerinden dolayı toksin olarak tanımlanan çeşitli ekstrasellüler ürünlerdir. Bazıları enzimatik olarak zararlı etkiler oluştururken, enterotoksin ve ekfoliyatif toksin gibi bazıları superantijen gibi davranan güçlü sitokinlerdir

Delta toksin; 68-200 kD. arasında elektroforetik olarak heterojen alt gruplar içerir. Güçlü yüzey aktif moleküllerdir. Eritrositler, makrofajlar, lenfositler, nötrofiller üzerinde litik etkileri vardır.

Leukocidin; iki parçası vardır. Fagositik hücrelerde etkilidir. Direkt membran hasarı mikroskobik olarak 60 dakika içinde gözlenebilir. Her iki parça fagosit membran seviyesinde porları sinerjistik olarak etkiler. Katyon geçirgenliğinde artışa sebep olur.

Toksik şok sendromu toksin - 1 (TSST - 1, Enterotoksin -F) ve diğer enterotoksinler, ateş, raş, hipotansiyon ve multisistem tutulumu ile karakterize

toksik şok sendromunu oluştururlar. Bu sendromun *S.pyogenes* ve koagülaz negatif stafilokok enfeksiyonlarında da olduğu bildirilmiştir. Bütün izole edilen *S. aureus* türlerinin yaklaşık yarısı enterotoksin üretir. Sempatik aktivasyonla intestinal peristaltizmi belirgin olarak artırarak, stafilokoksik gıda zehirlenmelerinin başlıca sebebinin oluştururlar. Hepsi T lenfositlerin bir grubunu stimule ederek etkili oldukları için bakteriyel süperantijenler olarak isimlendirilirler (Avkan 1997).

1.5 Patojenite

Stafilokoklar sıcak kanlı hayvanların vücut yüzeylelerinde yaygın olarak bulunurlar. Bu mikroorganizmaların neden oldukları hastalıklar septisemi, stafilokokkal gıda zehirlenmesi gibi akut enfeksiyonlardır. *S. aureus* formları özellikle ekzotoksin ve aggresinlerle hastalık yapmaktadırlar (Brock ve Madigan 2006).

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, perikardit, serebrit, menenjit ve bir çok doku ve organda apse formasyonu gibi ciddi enfeksiyonlara yol açabilir (Demiroglu 2000).

S. aureus tarafından oluşturulan toksinler sindirim sisteminde etkisini gösterdiği için bunlara 'enterotoksin' denilmiştir. Enterotoksinler pirojenik olarak bilinen immun sistem hücrelerine etkili, düşük molekül ağırlıklı (26000-34000 Da) suda çözülebilen tek zincirli proteinlerdir. Enterotoksinler suşa özgü olmakla birlikte bir suş birden fazla toksin üretebilmektedir. Antijenik özellikleri dikkate alındığında enterotoksinler beş büyük serolojik gruba ayrılırlar (SEA, SEB, SEC, SED, SEE). Ayrıca son yıllarda yapılan araştırmalarla dokuz yeni enterotoksin tanımlanmıştır SEG-O. Gıda zehirlenmelerine daha çok A ve D enterotoksinleri neden olmaktadır. Yapılan araştırmalarda enterotoksin A'nın çoğunlukla insan kaynaklı suşlar tarafından üretildiği, enterotoksin C ve D'nin ise diğer memelilerden izole edilen suşlar tarafından üretildiği belirtilmiştir (Fueyo

ve ark. 2001; Chen ve ark. 2001; Normanno ve ark. 2005; Pinto ve ark. 2005; Villard ve ark. 2005).

S. aureus tarafından üretilen enterotoksinler ısıya ve proteaz, tripsin, kimotripsin, papain, rennin'e dirençli bir ekzotoksindir ve süperantijenik bir karakter taşırlar. Enterotoksin içeren gıdaların tüketiminden yaklaşık 2-6 saat sonra mide bulantısı, karın ağrısı, ishal gibi belirtiler görülür(Atanassova ve ark. 2001; Wang ve ark. 2003). Görülen diğer belirtiler baş ağrısı, terleme, üşüme, kramplar, düşük nabız, halsizlik ve şok durumlarıdır (Tükel ve Doğan 1999). Vücutta su kaybı oldukça fazladır. Hasta 1-2 günde normale dönmektedir. Genellikle tam iyileşme görülür. Enterotoksinlerin inaktivasyonu için gerekli sıcaklık derecesi 100⁰C'de 1-3 saat veya 120⁰C'de 10-40 dakika olarak verilmektedir (Hacıbektaşoğlu ve ark. 1993; Tükel ve Doğan 1999; Tükel ve Doğan 2000; Gülbandılar 2006).

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 (Villard ve ark. 2005; Gülbandılar 2006).

Çeşitli ülkelerdeki rastlanma sıklığı coğrafi koşullara ve yemek alışkanlıklarına bağlıdır. Görülen vakalardaki ölüm oranının düşük olması ve klinik belirtilerin hafif olmasına rağmen en sık görülen gıda zehirlenmelerinden biridir .

Stafilokoklarda esas sorun artan oranda görülen metisilin direncidir. Başlangıçta penisine dirençli iken antibiyotiklerin yaygın bir şekilde kullanılmasıyla bu bakterilerin beta laktamaz enzimi üretiminde artış görülmüştür. 1960 yıllarda ise metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) patojeni ortaya çıkmıştır (Livermore 2000).

1.5.1 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. Stafilokokkal soyulmuş deri sendromu: En sık beş yaş altında saptanır. Yeni doğanlarda hastane salgınları şeklinde görülür. Bu yaş grubundaki stafilokokkal 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 diare, 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.

1.5.2 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 eder. Burun taşıyıcılarında sık olarak tekrarlayan enfeksiyonlara yol açar. İmpetigo, fronkül, sellülit, lenfanjit, lenfadenit, mastit veya yara enfeksiyonları

2. Kemik kas ve eklem enfeksiyonları: Travma ve yaralarla kemik ve eklem dokusuna ulaşır. Osteomyelit, septik artrit, bursit, pyomyozit.

3. Stafilokok pnömonisi: Stafilokokların solunum yollarından aspirasyonları ya da kan yolu ile akciğerlere yerleşmeleri suretiyle gelişir. Bazen

akciğerlerde geniş apselerin oluşmasına bazende stafilokokların diğer organlara yayılmasıyla seyreder.

4. Menenjit ve beyin apsesi: *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: *S. aureus* iki yolla üriner sistem enfeksiyonuna sebep olur. Bakteriyemik bir atak sırasında renal kortekse yerleşerek renak kortikal abseye yol açar. İkinci olarak kalıcı üriner kateteri olanlarda asentan yolla enfeksiyona yol açabilir.

6. Stafilokokkal endokardit: Miyokardiyal abse, pürülan perikardit, ring abseleri lokal komplikasyonlar *S. aureus*'un endokarditlerinde en sık görülür.

7. Stafilokokkal bakteriyemi: Titremeyeyle yükselen ateş, eklem ağrıları, plöretik ağrı, bilinç durumunda değişiklikler görülür (Avkan 1997; Gülbandılar 2006).

1.6 Gıdalardaki Önemi Ve Doğadaki Yayılımı

Stafilokokkal gıda zehirlenmesinde rol alan gıdalar et ve et ürünleri; kümes hayvanları ve ürünleri; salatalar (yumurta, ton balığı, balık, patates ve makarna salataları gibi); fırın ürünleri (kremalı pastalar ve tartlar, çikolata); sandaviçler; süt ve günlük ürünlerdir. Hazırlanma aşamasında dikkatli bir işleme tarzı gerektiren ve bu aşamadan sonra azar azar yükselen sıcaklıklarda tutulan gıdalar, stafilokokkal gıda zehirlenmesi riski altındadır ([http:1](http://); Tükel ve Doğan 1999).

S. aureus'un gıdalardaki varlığı bu mikroorganizma ile kontamine olmuş personelin elle muamelelerinden kaynaklanır. Stafilokoklar insan ve hayvanlarda sebep oldukları apse, sivilce ve enfekte yaralarda yerleşerek buralardan gıda maddelerine bulaşabilirler. Bu gibi kişilerin herhangi bir gıdanın hazırlanması, depolanması veya dağıtılmasında çalışması o gıdanın söz konusu

mikroorganizmalarla bulaşma olasılığını artırır (Tondo ve ark. 2000; Gündoğan ve ark. 2005; Gülbandılar 2006).

S. aureus'un ilk habitatu insan nasofarinksleri mukoz membranları ve hayvan derileridir. Ayrıca, hava, toz, lağım, su, süt, gıda ve gıda aletlerinin üzerinde, çevresel yüzeylerde bulunur. İnsanlar ve hayvanlar stafilokokların başlıca konak yerleridir. Stafilokoklar, genizde ve boğazda, % 50 veya daha fazla oranda sağlıklı bireylerin saç ve derisinde bulunmaktadır. Özellikle, hastane ortamı ve hasta bireylerle temas halinde olan kişilerde daha çok gözlenir ([http:1](http://); Gündoğan ve ark. 2005).

Stafilokok infeksiyonları için en önemli kaynağı insanlar oluşturur. *S. aureus* insanlar için fırsatçı patojenlerdir. Stafilokoklar, burunda, deride ve lezyonlar üzerinde çoğalırlar. Fakat kuru ortamlarda bir süre canlı kalabildikleri için eşya aracılığıyla da yayılabilirler. İnfekte kişiler ve sağlıklı taşıyıcılar bu bakteriyi yaydıkları için belli servisler ve ameliyathaneler için özel bir tehlike gösterirler (Demirolok 2000; Sandel ve McKillip 2004).

Stafilokokların epidemiyolojisinde en önemli ortam hastane ortamıdır. Doktorlar, hemşireler ve diğer hastane personeli genel popülasyona oranla daha yüksek oranda stafilokokların nasofaringial taşıyıcılarıdır (Hacıbektaşoğlu ve ark. 1993).

S. aureus başta ısıtma işlemi olmak üzere mikroorganizmaların indirgenmesine yönelik tüm uygulamalara karşı yüksek bir duyarlılık gösterir. Dolayısıyla gıdalarda ve personel ekipmanlarında bu bakteriye veya enterotoksinlerine rastlanması zayıf bir sanitasyon göstergesidir (Tükel ve Doğan 1999).

Gıda zehirlenmesine sebep olan gıda kontaminasyonunun asıl kaynağı gıdayı işleyen kişilerdir. Aynı zamanda ekipmanlar ve çevresel yüzeyler de *S. aureus* ile beraber kontaminasyonun asıl kaynağı olabilirler ([http:1](http://)).

Sağlıklı hayvan etleri pek az mikroorganizma ihtiva ederler. Mikroorganizmanın ete bulaşması genellikle kesim sırasında dış etkenlerle olur. Daha sonra eti kemikten ayırması, doğranması, makinede kıyım yapma, dövme, şekil verme gibi işlemler sırasında temasta bulunduğu aletler, makinalar, yer, hava, su, işçilerin elleri ve elbiseleri bakteriler ile bulaşmasını artırır.

Bazı gıdalar ise orjininden bulaşık olarak elde edilebilirler. Şayet elde ettikleri hayvanlar söz konusu organizmalarla enfekte ise bulaşmaya neden olabilirler. Mastitisli bir hayvandan elde edilen sütte stafilocok bulunması her zaman beklenebilir.

Bazı gıdalar stafilocok zehirlenmesine diğerlerinden daha fazla sebep olurlar. Aynı şekilde bazı besinlerin hazırlanma şekillerinde 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. Bu besinler asit ihtiva etmediklerinden 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. Yoğurt gibi asit nitelikli besinler yumurta ile karıştırılıp kullanıldığında asit niteliğini kaybeder ve stafilocok için uygun bir ortam haline gelebilirler. Aynı şekilde salata mayonezlerinin içinde. asetik asit bulunması sebebiyle stafilocok büyümesine elverişli değildir, ancak yiyeceklerle (haşlanmış patates vb.) karıştırılınca stafilocok 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.

Stafilocoklar en fazla piliç etinde daha sonra sırasıyla balık, baharatlı jambon, sığır bifteği, hamburger ve sığır karaciğeri, dana bifteği, kuzu pirzolasında üremektedir. Salam, kabuklu istiridye, sucuk ve sosislerde ise bulunmamaktadır (Gülbandılar 2006).

Süt ve süt ürünleri de bir çok patojen için olduğu gibi *S. aureus* için de uygun bir ortamdır. *S. aureus* çiğ sütte doğal olarak bulunurken, yetersiz pastörizasyon veya ekipman ve personel kaynaklı kontaminasyon nedeni ile

pastörize süt ve diğer süt ürünlerinde de bulunmaktadır. *S. aureus* süte sağıldığı hayvandan bulaşmaktadır. Özellikle mastitisli hayvanlardan sağılan sütle enteropatojenik *S. aureus* suşlarının önemli bir kaynağıdır. *S. aureus*'un neden olduğu gıda zehirlenmelerinin süt ürünlerinden çoğunlukla peynir ve süt tozu gibi ürünlerden kaynaklandığı belirtilmektedir.

S. aureus pastörize sütte çiğ süte göre daha rahat geliştiği bunun nedenin de rekabetçi floranın azalması olduğu düşünülmektedir.

Gıdalarda *S. aureus*'un gelişimi ve toksin oluşturması birçok faktöre bağlıdır. Bunlar *S. aureus* suşu, su aktivitesi, pH, ortam sıcaklığı, tuz miktarı, rutubet, gıdanın özelliği (içerik, çiğ, fermente) ve rekabetçi floradır. *S. aureus*'un toksin oluşturabilmesi için sayının 10^6 - 10^7 kob/g olması ve dominant durumda olması gerektiği bildirilmiştir (Sağun ark. 2003).

Tam olarak bir önlem mümkün olmasa da uygun bir şekilde stoklanmış, ısıtılmış ve pişirilmiş gıdalar genellikle güvendedir. Çapraz kontaminasyon pişmiş gıda maddelerinin pişmemiş olanlarla veya kontamine malzemelerle (kesme tahtası) teması en büyük risktir. Gıdaların uygun olmayan bir şekilde işlenmesi ve depolanması bakterilerin çoğalmasına ve toksin üretimine sebebiyet verir. Az oranda pişirme toksini yok etmeye yeterli değildir (<http:1>).

1.6.1 Türk Gıda Kodeksive *S. aureus*

Türk gıda kodeksini'nin et ürünleri (10,02,2000-23960 sayılı resmi gazete) hazırlanmış taze etler- hazırlanmış dondurulmuş etler ile hazırlanmış taze et karışımları, hazırlanmış dondurulmuş et karışımları (17,03,2001-24345 sayılı resmi gazete) için belirttiği mikrobiyolojik kriterlere göre bu gıda örneklerinde bulunabilecek en fazla *S. aureus* sayısı $5,10^3$ kob/g'dır.

Süt ve süt ürünleri (02,09,2001-24511 sayılı resmi gazete) için belirtilen mikrobiyolojik kriterlere göre bu gıdalarda bulunabilecek en fazla *S. aureus* sayısı 10^2 kob/g'dır.

1.7. *S. aureus* İzolatlarında Tiplendirme Çalışmaları

S. aureus izolatlarının tiplendirilmesinde birçok yöntem kullanılmaktadır. Bunlar arasında, faj tiplendirmesi (Schlichting ve ark. 1993; Tenover ve ark. 1994; Demiroglu 2000; Shimizu ve ark. 2000), kapsüler serotiplendirme (Schlichting ve ark. 1993; Guidry ve ark. 1997), antibiyogram ve biyotiplendirme (Tenover ve ark. 1994; Prasanna ve Thomas 1998; Livermore 2000), MIS (Microbial Identification System) ile hücresel yağ asitlerinin analizi (Stoakes ve ark. 1994) toplam hücre proteinlerinin analizi (Saçılık ve ark. 2000; Berber ve ark. 2003), ribotiplendirme (Tenover ve ark. 1994), multilokus enzim elektroforezi (Selander ve ark. 1986), plazmid analizi (Tenover ve ark. 1994; Kondoh ve ark. 2002), kromozomal DNA'nın RFLP ile analizi (Tenover ve ark. 1994), PFGE ile kromozomal DNA'nın SmaI restriksiyon enzimi fragment patternleri analizi (Belkum ve ark. 1993; Tenover ve ark. 1994; Kondoh ve ark. 2002), ve PCR (Larsen ve ark. 2000; Atanassova ve ark. 2001; Cremonesi ve ark. 2005) gösterilebilir.

Antibiyogram testleri ile bakterilerin gruplandırılması sağlanır ve ortak direnç paternleri oluşturulmaktadır (Nishijima ve ark. 1996; Nishijima ve ark. 1997; Prasanna ve Thomas 1998; Kampf ve ark. 1998; Demiroglu 2000; Livermore 2000; Tondo ve ark. 2000; Gündoğan ve ark. 2005;).

Acco ve ark. (2003); gıda elleyicilerinin burun mukozalarından izole ettikleri *S. aureus* izolatlarını morfolojik, biyokimyasal, antibiyotik duyarlılık testleri ve PFGE yöntemleri ile tiplendirme çalışmaları yapmışlardır. 47 gıda elleyicilerin 14'ünde *S. aureus* izole etmişlerdir. Bunların %70'i penisiline, %45'i Amoksisilin-klavulanik asit'e karşı dirençli bulunurken, vankomisin, rifampisin, sefalatin, oksasilin, kloromfenikol, gentamisin, oflaksasin antibiyotiklerine karşı duyarlı bulunmuştur.

Duijkeren ve ark. (2004); çeşitli et ürünlerinden izole ettikleri 311 stafilokoklardan iki tanesinin metisiline dirençli *S. aureus*, dördünün ise *S. haemolyticus* olduğunu belirtmişlerdir.

Gündoğan ve ark. (2005); yaptığı bir çalışmada ise çeşitli gıdalardan izole edilen *S. aureus*'ların metisiline dirençlilik oranını % 67.5 olarak belirlemişlerdir. *S. aureus* suşlarının % 87.5'i basitrasine , % 53.8'i penisilin G'ye, % 7.5'i eritromisin'e dirençli bulunurken vankomisin, sulbaktam amfisilin, siproflaksasin, sefaperozon-sulbaktam'a duyarlı bulunmuştur.

İtalyada yapılan bir araştırmada marketlerde satışa sunulan çeşitli gıdalardan izole edilen koagölaz pozitif *S. aureus* suşları API staph sistemi ile identifiye edilmiştir. Aynı zamanda SET-RPLA test kiti ile A, B, C ve D enterotoksinlerini belirlemişlerdir. Yapılan araştırmaya göre 298 *S. aureus* strainlerinin %55.5'i bir ya da birden çok enterotoksin ürettiğini, %33.9'u SEC, %26.5'i SEA, %20,5'i SEA+SED, %13.4'ü SED, %2.7'si SEB, %1.7'si SEA+SEB, %0.07'si SEC+SED, %0.3'ü SEA+SEC ve SEB+SEC enterotoksinlerini ürettikleri rapor edilmiştir (Normanno ve ark. 2005)

Livermore'un yaptığı çalışmada (2000); 1944 yılında penisilin uygulanan *S. aureus* izolatlarının %94'den fazlası bu antibiyotiğe duyarlı bulunurken 1950'de yarısının dirençli olduğu saptamıştır. 1960'larda ise çoğu hastanede çok dirençli *S. aureus* izolatlarının ortaya çıktığını rapor etmiştir.

Türkiye'de yapılan bir başka çalışmada Gülhane Askeri Tıp Akademisi'nde değişik klinik örneklerden izole edilen MRSA suşları arasındaki ilişki araştırılmıştır. 1997 yılında hastanedeki bütün nosakomiyal izolatlar arasında *S. aureus* oranı %20 bunlar arasında metisiline dirençlilik oranı %50 olarak bulunmuştur. MRSA izolatlarının tiplendirilmesi için hem SDS-PAGE(sodyum dodesil sülfat poliakrilamit jel elektroforezi) hem de N-PAGE (nativ poliakrilamit jel elektroforezi) kullanılmış ve neticede hepsinin aynı klonal gruptan orjinli olduğu belirlenmiştir (Saçılık ve ark. 2000).

Genetik olarak aynı mikroorganizmaların hücrelerindeki yağ asitleri sayısı, çeşitliliği ve % olarak miktarları (yağ asitleri profili) aynıdır ve evre şartları aynı olduğu sürece değişmez. Yağ asitleri metil esterlerinin (FAME) analizi sonucunda farklı profillerin oluşması mikroorganizmalar arasındaki genetik akrabalığın göstergesidir. İlk defa 1985 yılında ABD'de MIDI, İNC. 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 asiti 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 (Gülbandılar 2006).

Stoakes ve ark. (1994); bilgisayar destekli mikrobiyal identifikasyon sistemi (MIS) kullanarak gaz-sıvı kromatografisi ile bakterilerin yağ asitlerini belirlemişlerdir. Bu yöntemle elde edilen sonuçlar geleneksel yöntemle elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. 470 izolattan 413'ü her iki yöntemle uyumlu iken 45 izolat yanlış identifiye edilmiştir.12'si ise bu sistemde karşılığı bulunamamıştır. *S. hominis* ve *S. saprophyticus* %52.6 oranında yanlış identifiye edilmiştir. 78 izolat yeniden test edilerek aynı sonuçlar bulunurken beşinin sonuçlarının değiştiğini rapor etmişlerdir.

Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) bakterilerin moleküler tiplendirilmesinde kullanılan yüksek derecede ayırt edici genotipik bir metottur. Epidemiyolojik çalışmalarda farklı mikobakteri, gram negatif ve gram pozitif organizmalarda geniş oranda uygulanan başarılı bir yöntemdir (Matushek ve ark. 1996). Bu yöntemde DNA molekülleri belirli zaman aralıklarında birbirlerine farklı açıda iki elektriksel alan etkisinde bırakılır.

Geleneksel agaroz jel elektroforezi genelde 50,000 bç.'den daha küçük nükleik asit parçalarının ayırımı için uygundur; yüksek ayırışım istendiğinde bu sınır 20.000- 30.000 bç.'ne kadar düşer. PFGE ile çok büyük DNA molekülleri ayrılabilir. PFGE'nin standart jel elektroforezinden en belirgin farkı,

uygulanan elektrik alanının sabit olmaması, ayırma sırasında yönünün ve şiddetinin tekrarlanan biçimde değiştirilmesidir (Temizkan ve Arda 2002).

Japonya’da yapılan bir araştırmada stafilokokal gıda zehirlenmesinden elde edilen *S. aureus* strainlerinin çoğunluğunun koagülaz tip VII olarak belirlemişler ve Sma I ile kesilmiş kromozomal DNA’nın ayırt edilmesinde PFGE yöntemini kullanmışlardır. Sonuç olarak PFGE tiplendirmesi koagülaz tip VII *S. aureus* strainlerinin alt gruplandırılmasında kullanışlı bir metot olduğunu rapor etmişlerdir. (Shimizu ve ark.2000).

Ribotiplendirme, ribozomal RNA veya buna karşılık gelen genlerin prob olarak kullanımına dayanmaktadır. rRNA sekansı herhangi bir mikrobiyal türe ait rRNA genlerini hibridize edecek bölgeler taşımaktadır. Bakterilerde bulunan rRNA dizilişlerinin pek çoğu evrim sürecinde çok az değişikliğe uğramıştır. Bu nedenle bu dizilişler için spesifik problemler benzer rRNA dizilişine sahip çeşitli bakterileri tayin edebilir.

16S ve 23S rRNA’yı kodlayan genleri kısmen yada tamamen içeren genomik DNA restriksiyon fragmentlerin analizi olan ribotiplendirme yöntemiyle EcoRI restriksiyon enzimiyle kesilen kromozomal DNA fragmentleri boyutlarına göre ayrılıp, işaretli rRNA operon propları ile hibridize olmaktadır. *S. aureus*’un bilgisayar ortamında kayıtlı referans marker fragmenti izolattan elde edilen fragment ile karşılaştırılarak izolatanın ribotipi belirlenebilmektedir (Gülbandılar 2006).

Ruzickova ve ark (2003); iki farklı hastanenin doğumhane bölümünden izole ettikleri *S. aureus* strainlerinin genomik tiplendirmesini PFGE ve ribotiplendirme ile gerçekleştirmişlerdir. Çeşitli genomik profillerden elde edilen sonuçların karşılaştırılması sonucunda 9 genotipin tanımlanması yapılmıştır. Her iki hastanede yaygın olarak bir genotipin olduğu gösterilmiş ve her iki hastanede yaygın olarak görülmeyen ve deri hastalıklarına neden olan enterotoksin pozitif bir strainin ortak bir atadan veya tek bir kaynaktan köken aldığını rapor etmişlerdir.

Rodriguez ve ark (2006); tavşan karkaslarından izole edilen *S aureus* izolatlarının farklılıklarını ve muhtemel orjinlerini belirlemek için PFGE, ribotiplendirme moleküler yöntemleri kullanmışlardır. Yüksek tanımlama indeksi olan PFGE ile birden fazla bant farklılığı olan 19 pattern ve üçden fazla bant farklılığı olan 10 tip tanımlanmıştır. Ribotiplendirmede ise 7 tip belirlenmiştir. PFGE ile her fabrikadan elde edilen örneklerin farklı *S. aureus* tiplerini taşıdığı ve bunların bazıları uzun zaman varlığını koruduğu belirtilmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Materyaller

2.1.1 Örneklerin Alınması

Bu çalışmada çeşitli gıda örneklerinden (süt, süt ürünleri, et, et ürünleri), bu gıda örneklerinin işlendiği yerlerde gıdalarla direkt temas eden kişilerin boğaz, burun kültürlerinden, ellerinden ve kullanılan alet ve ekipmandan *S.aureus* bakterisi izole edilmeye çalışılmıştır. Gıda örnekleri mandıra, mahalli pazarlar ve kasaplardan temin edilmiştir. Çalışmamızda kullanılan standart *Staphylococcus aureus* NRRL B-767 izolatu United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service'den temin edilmiştir.

2.1.2 Kullanılan Malzeme Ve Ekipman

Bu çalışmada kullanılan besiyerlerinin bazıları hazır olarak satın alınmış, bazı besiyerleri ile kimyasal çözelti ve ayrıca ise kaynaklarda belirtildiği şekilde laboratuvarımızda hazırlanarak kullanılmıştır.

2.1.3 Kullanılan Besiyerleri

2.1.3.1 Baird Parker Agar (BPA, Oxoid)

Baird parker agar	63 g
Distile su	950 ml

Baird Parker Agar besiyeri pH'sı 6.9'a tamponlanmış ve 121⁰C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyondan sonra 50⁰C'ye kadar soğutulan besiyerine 50 ml Egg Yolk Tellurit emülsiyonu ilave edilerek petri kutularına dökülmüştür.

2.1.3.2 Plate Count Agar (PCA, Merck)

Plate Count Agar	22.5 g
Distile su	1000 ml

Plate Count Agar besiyeri (Merck) pH'sı 7.2' ye tamponlanmış ve 121⁰C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

2.1.3.3 Nutrient Agar (NA, Merck)

Nutrient Agar	20 g
Distile su	1000 ml

Nutrient Agar besiyeri (Merck) pH'sı 6.8'e tamponlanmış ve 121⁰C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

2.1.3.4 Nutrient Broth (NB, Merck)

Nutrient Broth	8 g
Distile su	1000 ml

Nutrient Broth besiyeri (Merck) pH'sı 6.8'e tamponlanmış ve 121⁰C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

2.1.3.5 Glukozun Anaerobik Fermantasyon Besiyeri (GAFB)

Tripton	10 g
Yeast ekstrakt	1.0 g
Glukoz	10 g
Brom timol mavisi	0.04 g
Agar	2.2 g
Distile su	1000 ml

Karışım pH'sı 7.0' a tamponlanmış olup, tüplere 5 ml dağıtılarak, 121⁰C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyondan sonra steril parafinle besiyeri üzeri doldurulmuştur.

2.1.3.6 Mannitolun Anaerobik Fermantasyon Besiyeri (MAFB)

Tripton	10 g
Yeast ekstrakt	1.0 g
Mannitol	10 g
Brom timol mavisi	0.04 g
Distile su	1000 ml

Karışım pH'sı 7.0'a tamponlanmış olup, tüplere 5 ml dağıtılarak, 121⁰C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyondan sonra steril parafinle besiyeri üzeri doldurulmuştur.

2.1.3.7 Mannitol Tuzlu Agar (MTA, Merck)

Mannitol tuzlu agar	111 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri (Merck) pH'sı 7.4'e tamponlanmış ve 121⁰C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

2.1.3.8 Nutrient Jelatin Besiyeri (NJB, Oxoid)

Nutrient jelatin	128 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri (Oxoid) pH'sı 6.8'e tamponlanmış olup, tüplere 2 ml dağıtılarak, 121⁰C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

2.1.3.9 Mueller Hinton Agar (MHA, Merck)

Mueller hinton agar	38 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri (Merck) pH'sı 7.4'e tamponlanmış ve 121⁰C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

2.1.3.10 Triptik Soy Broth (TSB, Merck)

Triptik soy broth	13 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri (Merck) pH'sı 7.3'e tamponlanmış ve 121⁰C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

2.1.3.11 ASS Agar (D.S.T agar Antibiotic sulfonamide sensitivity- test agar for microbiology)

D.S.T agar	40 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri (Merck) pH'sı 7.4'e tamponlanmış ve 121⁰C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyondan sonra 45-50⁰C'ye soğutulan besiyerine %5-10 olacak şekilde steril kan ilave edilerek petrilere dökülmüştür.

2.1.3.12 Deoksiribonükleaz Agar (DNaz, Merck)

DNaz agar	39 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri (Merck) pH'sı 7.3'e tamponlanmış ve 121⁰C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

2.1.3.13 Brain Heart İnfüsiyon Broth (BHIB, Merck)

Brain heart infüsiyon broth	37 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri (Merck) pH'sı 7.4'e tamponlanmış ve 121⁰C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

2.1.3.14 Fermantasyon Besiyeri (FB)

Tripton	10 g
Yeast ekstrakt	1 g
Brom timol mavisi	0.04 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri distile suda homojen hale getirilmiş ve 121⁰C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyondan sonra 45-50⁰C'ye soğutulan besiyerine %0.-%1 olacak şekilde filtrasyonla steril edilen karbonhidratlar ilave edilerek steril petri kutularına dökülmüştür.

2.1.4 Boyalar Ve Diğer Solüsyonlar

2.1.4.1 Egg Yolk Tellurit Solüsyonu (Oxoid, SR0054C LOT:350561)

Egg yolk tellurit solüsyonu	50 ml
-----------------------------	-------

2.1.4.2 Kristal Viyole Solüsyonu

Kristal viyole	2.0 g
% 95'lik etil alkol	20 ml
Amonyum oksalat	0.8 g

Tüm maddeler 80 ml distile su içerisinde çözündürülmüştür.

2.1.4.3 İyot Solüsyonu

İyot	1.0 g
Potasyum iyodür	2.0 g

Tüm maddeler 300 ml distile su içerisinde çözündürülmüştür.

2.1.4.4 Safranin Solüsyonu

Safranin	0.25 g
% 95'lik etil alkol	10 ml
Distile su	90 ml

Safranin etanolde çözülüp, distile su ilave dilerek iyice karıştırılmış ve sonra filitre kağıdından süzülmüştür.

2.1.4.5 HCl

1 N HCl asit DNaz testinde kullanılmak üzere hazırlanmıştır.

2.1.5 Pulset Field Jel Elektroforez analizinde kullanılan tampon ve çözeltiler

2.1.5.1 TEN Tamponu

100 mM Tris HCl	1.211 g
100 mM EDTA	3.722 g
150 mM NaCl	0.876 g
Distile su	100 ml

Karışım pH'sı 7.5'e tamponlanmış ve 121⁰C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir

2.1.5.2 Lysis Tamponu

6 mM Tris HCl	0.07266 g	pH:7.6
1 M NaCl	5.844 g	
100 mM EDTA	3.722 g	
% 0.5 Brij 58	0.5 g	
% 0.2 sodyum deoksikolat(1.5 mg/ml)	0.2 g	

%0.5 sarkosil	0.5 g
Distile su	100 ml

Karışım 121⁰C’de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir

2.1.5.3 ESP Tamponu

0.5 M EDTA	18.612 g	pH:9-9,5
%1 sarkosil	1 g	
Proteinaz K	1 mg	
Distile su	100 ml	

Karışım 121⁰C’de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir

2.1.5.4 TE Tamponu

10 mM Tris HCl	1,211 g
1 mM EDTA	0,372 g
Distile su	1000 ml

Karışım pH’sı 8.0’a tamponlanmış ve 121⁰C’de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir

2.1.5.5 5X TBE Tamponu

Tris-Base	54 g	
Borik Asit	27.5 g	
250 mM EDTA	40 ml	pH:8,0
Distile su	1000 ml	

2.1.5.6 Lysostaphin (Sigma, Lot:083K4024)

1 g lysostaphin tartılıp 1 ml distile suda çözülmüş ve -20⁰C’de muhafaza edilmiştir.

2.1.5.7 LMP agaroz (Low melting point agaroz) (Sea Plaque GIG 50111)

LMP agaroz	0.1 g
Distile su	10 ml
Karışım mikrodalgada eritilmiştir.	

2.1.5.8 Elektroforez jeli (Bio-Rad agaroz, Sea Kem GTC 1-800-342-1574)

Agaroz	0.8 g
0.5X TBE	80 ml
Karışım mikrodalgada eritilmiştir.	

2.1.5.9 Boyama Solüsyonu

Ethidium bromid	40 µl
Deiyonize su	450 ml

2.1.5.10 Restriksiyon Buffer

NE buffer 4	300 µl (B7004S)
BSA buffer	30 µl (R396A)
TE buffer	2670 ml

2.1.6 Hücresel Yağ Asitlerinin Analizinde Kullanılan Tampon Ve Çözeltiler

2.1.6.1 Çözelti 1(Hücre parçalayıcı)

Sodyum hidroksit	45 g
Metanol	150 ml
Distile su	150 ml

Önce metil alkol ve su, 1 lt'lik renkli çözelti şişesine ilave edilmiş ve daha sonra sodyum hidroksit eklenerek çözülmesi sağlanmıştır.

2.1.6.2 Çözelti 2 (Metilleştirme)

6N hidroklorik asit	325 ml
Metanol	275 ml

2.1.6.3 Çözelti 3 (Saflaştırma)

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

2.1.6.4 Çözelti 4 (Bazik Yıkama)

Sodyum hidroksit (ACS grade)	10.8 g
Distile su	900 ml

2.1.6.5 İlave Çözelti

40 g NaCl 100 ml su içerisinde çözülmüştür.

2.2 Yöntem

2.2.1 Örneklerin Analize Hazırlanması

Analiz edilecek örneklerin her birinden 10'ar gram tüketime sunulduğu şekli ile steril kavanozlar içine alınmış ve aynı gün laboratuara getirilerek ekim için hazırlanmıştır. 10 gram gıda örnekleri % 1'lik peptonlu sudan 90 ml alınarak yüksek devirde blenderda homojen hale getirilmiştir. Hazırlanan bu homojenattan 1 ml alınarak 9 ml % 1'lik steril peptonlu suda 10^{-7} 'e kadar dilüsyonlar hazırlanmış tüm dilüsyonlardan ve homojen haline getirilmiş örneklerden toplam hücre sayımı için PCA'ya 20 µl'lik damla ekimler yapılmıştır (Sağun ve ark. 2003).

S.aureus izolasyonu içinse homojenattan, Brain Heart İnfüzyon Broth 1ml alınarak ekim yapılmış ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiş ve Egg Yolk Tellürit içeren Baird Parker Agara ekim yapılmıştır. 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Gıda örneklerinin işlendiği yerlerde gıdalarla direkt temas eden kişilerin boğaz, burun kültürleri, ellerinden ve kullanılan alet ve ekipmanlardan alınacak örnekler steril eküvyonlarla daha önceden hazırlanmış 10 ml steril Brain Heart İnfüzyon Broth besiyerine inokule edilerek soğuk zincir altında laboratuara getirilmiş, 37°C de 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra kanlı agara ekim yapılarak hemoliz yapan koloniler seçilip Egg Yolk Tellürit içeren Baird Parker Agara ekim yapılmıştır. 37°C'de 24 saat inkübasyondan sonra izolatların gri-siyah renkli ve etrafında 2-5 mm berrak bir zon oluşmuş (lesitinaz pozitif) parlak renkteki koloniler seçilerek identifikasyon testlerine geçilmiştir (Adesiyum ve ark. 1992; Sağun ve ark. 2003; Tükel ve Doğan 2000).

Staphylococcus aureus olduğu tahmin edilen kolonilerden Baird Parker Agar'a ekim yapılmış ve saf kültür oldukları kontrol edildikten sonra, identifikasyon testlerine alınması için %15'lik gliserolde stoklanmış ve - 85°C'de muhafaza edilmiştir.

2.2.2 Elde Edilen İzolatlara Uygulanan İdentifikasyon Testleri

Baird Parker Agarda tespit edilen tipik *S. aureus* görünümü veren izolatların saflığı kontrol edildikten sonra aşağıdaki identikasyon testlerine alınmıştır.

2.2.2.1 Morfolojik Ve Biyokimyasal Testler

Gram Boyama

Gram boyama için, lam üzerine tespit edilen preparata önce kristal viyole boyası damlatılmış, iyot çözeltisi uygulandıktan sonra %96'lık etil alkolle muamele edilmiştir. Daha sonra safranin damlatılan preparat su ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan preparat 100 X objektifte incelenmiştir.

Katalaz Testi

Nutrient agara inokule edilen taze kültürün 24 saat 37⁰C'de inkübe edilerek gelişimi sağlanmış, süre sonunda kültürler üzerine %3'lük H₂O₂ (hidrojen peroksit) damlatılarak gaz çıkışı olup olmadığı gözlenmiştir. Gaz çıkışının olması pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Koagülaz Testi

Steril şartlarda hazırlanan 1/10 oranında sulandırılmış koagülaz plazma EDTA'dan tüplere 0.5 ml konulmuş ve üzerine kontrol edilecek suşun bir gecelik taze buyyon kültürlerinden 0.5 ml ilave edilerek 24 saat 37⁰C'de inkübe edilmiştir. Tüpler 1, 2, 4 ve 24. saatlerde kontrol edilmiş ve pıhtılaşma görülen tüpler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Adesiyum ve ark 1992).

Pigment Testi

Test edilecek suşların farklı besiyerlerine ekimleri yapılarak oluşturacakları pigmentler incelenmiştir. Bu amaçla Nutrient Agar, Baird Parker Agar, Kanlı Agar besiyerleri kullanılmıştır (Gülbandılar 2006).

Lesitinaz Testi

Yumurta sarısı içeren Baird Parker agar besiyerine bir gecelik kültürlerden ekim yapılmış ve bakterinin lesitini hidrolize edip etmediği kontrol edilmiştir. Koloninin etrafında berrak bir zon oluşması pozitif olarak değerlendirilmiştir (Adesiyum ve ark 1992; Tükel ve Doğan 2000; Sağun ve ark. 2003).

Hemoliz Testi

Test edilecek suşun BHI broth'daki taze kültüründen kanlı agara ekim yapılmış ve 24 saat 37⁰C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası hemoliz oluşturanlar pozitif olarak değerlendirilmiştir (Akvan 1997).

Glukozun Anaerobik Fermantasyonu

Nutrient agarda geliştirilen bir gecelik kültürlerden fermantasyon broth besiyerine pasaj yapılmıştır. Besiyeri üzerine steril parafin ilave edilerek anaerobik ortam sağlanmıştır. Ekim yapılan tüpler 24, 48 ve 72 saatlik kültürleri kontrol edilerek, sarı renk oluşturan izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir (Adesiyum ve ark. 1992; Capite ve ark. 2002).

Mannitolün Anaerobik Fermantasyonu

Nutrient agarda geliştirilen bir gecelik kültürlerden mannitolün anaerobik fermantasyon besiyerine pasaj yapılmıştır. Besiyeri üzerine steril parafin ilave edilerek anaerobik ortam sağlanmıştır. Ekim yapılan tüpler 5-7 gün inkübe

edildikten sonra kontrol edilerek, sarı renk oluşturan izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir (Adesiyum ve ark. 1992; Capita ve ark. 2002).

Mannitol Tuzlu Agar Besiyerinde Gelişme

Mannitol tuzlu agar seçici ve ayırteci olması nedeniyle kullanılmış ve basiyerinde gelişme durumuna göre tanımlama yapılmıştır (Akvan 1997).

Jelatinaz Testi

Nutrient jelatin besiyerine ekimler yapılmış, tüpler oda ısısında 7 gün süreyle inkübe edilmiş ve izolatların jelatini eritip eritmediği kontrol edilmiştir (Gülbandılar 2006).

Deoksiribonükleaz (DNaz) Testi

Nutrient agarda geliştirilen bir gecelik kültürlerden tek koloni alınarak DNaz besiyerine spot ekimler yapılmış ve 37⁰C'de 24 saat geliştirilmiştir. Daha sonra üreyen koloninin üzerine 1N HCL asit damlatılmış ve petriyer koyu zemin üzerinde incelenmiştir. Koloni etrafındaki açılmalar pozitif olarak değerlendirilmiştir (Tükel ve Doğan 2000; Gündoğan ve ark. 2005).

2.2.2.2 Vitek Sistem İle Analiz

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

Test edilecek suşun BHI broth'daki taze kültürlerinden kanlı agara ekim yapılmış ve 37⁰C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, 1.8 ml VITEK solüsyonu doldurulmuş tüplere taze kültürlerden aktarılarak Mc Farland No:0.5 bulanıklığına ayarlanmıştır. Kolorimetre üzerindeki kırmızı bölge sınır kabul edilmiştir. Daha sonra hazırlanan süspansiyon GPI kartına doldurularak ilk

20 dakika içerisinde alette okutulmuş ve 4-13 saat sonunda sonuçlar değerlendirilmiştir.

Vitek analizatörü 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

Antibiyogram Testi

İzolatların antibiyotiklere duyarlılıkları Müler Hilton Agar besiyerinde disk diffzyon yöntemiyle incelendiştir Bu amaçla bir gecelik BHI broth kültürü Mc Farland No: 0.5 bulanıklığına ayarlanarak MHA besiyeri üzerine 1 ml yayma ekimler yapılmıştır. Daha sonra petrilere değişik antibiyotik diskleri yerleştirilip, 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra diskler etrafında oluşan zon çapları ölçülmüştür. Elde edilen zon çapları NCCLS (National Commitee for Clinical Laboratory Standarts) tarafından önerilen zon tablosu ile karşılaştırarak duyarlı, orta dereceli duyarlı ve dirençli olarak değerlendirilmiştir (Nishijima ve ark. 1996; Avkan 1997; Nishijima ve ark 1997).

Araştırmamızda kullandığımız antibiyotik diskleri şunlardır: Ciproflaxacin(CIP 5 mcg bioanalyse), Gentamicin (CN 10mcg bioanalyse), Netilmisin (NET 30 mcg bioanalyse), Rifampcin (RA 5 mcg bioanalyse), Trimethoprim-sülfamethoxazole (SXT 25 µg bioanalyse), Vancomycin (VA 30 mcg bioanalyse), Ofloxacin (OX 1 mcg bioanalyse), Lincomycin (L 2 mcg bioanalyse), Azithromycin (AZM 15 mcg bioanalyse), Amoksisilin-klavunik asit (AMC 30 mcg bioanalyse) .

SET-RPLA (Staphylococcal enterotoksin test by reserved passive latex agglutination) ile enterotoksin analizi

Enterotoksin tesiti için SETRPLA: Staphylococcal enterotoksin test kit (TD900, Oxoid) kullanılmıştır. Üretici firmanın tavsiye ettiği şekilde izolatlar tripton soya broth besiyerine ekilerek 37⁰C'de 24 saat çalkalamalı etüvde inkübe edilmiştir. inkübasyondan sonra kültürler 9000 g'de 20 dakika 4⁰C'de sanrifüj edilerek süpernatant kısımları temiz bir ependorf tüpüne aktarılmıştır. Test kitindeki çözeltiler çalkalandıktan sonra kontrol çözeltileri üzerine 0.5 ml dilüent çözeltisi ilave edilmiş ve çözünmesi sağlanmıştır.

ELISA petrillerinde yatay konumda sekiz kuyucuk olacak şekilde sıra hazırlanarak, her bir örnek için dikey konumda beş sıra kullanılmıştır. Hazırlanan bu kuyucuklara 25 µl dilüent eklenmiştir. Dikey konumda hazırlanan ilk kuyucuğa 25 µl test örneği eklenmiş temiz bir uçla soldan sağa oluşturulan kuyucukların ilkinden başlayarak, 25 µl alınarak 7. kuyucuğa kadar ½ oranında seyreltme işlemi yapılmıştır, son çukur ise dilüe edilmeden bırakılmıştır. Bir örnek için dilüsyon işlemi bittikten sonra yatay konumdaki ilk sıraya 25 µl anti-enterotoksin A çözeltisi, ikinci sıraya 25 µl anti-enterotoksin B çözeltisi, üçüncü sıraya 25 µl anti-enterotoksin C çözeltisi, dördüncü sıraya 25 µl anti-enterotoksin D çözeltisi ve beşinci sıradaki kuyucuklara 25 µl lateks kontrol çözeltisi ilave edilerek plaklar çalkalanarak kapaklı nemli bir kutuda oda ısısında 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra aglütinasyon oluşup oluşmamasına bakılarak hangi enterotoksinin üretilip üretilmediği değerlendirilmiştir.

Yağ Asitleri Metil Esterlerinin (FAME) Analizi

İzolatların yağ asiti analizleri için gerekli olan tüm kimyasallar ve uygulama prosedürleri Mikrobial Identification System (MIS) (Microbial ID Inc. Newark De) kullanma klavuzuna göre hazırlanmıştır. Analize alınacak örnekler kanlı agara dört bölgeden oluşan çizgi ekim yapılmış 35⁰C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra üçüncü bölgede gelişen hücrelerden steril cam tüplere öze ile 40 mg tartılmıştır.

İlk basamakta saponifikasyonla hücresel lipitlerin parçalanıp, yağ asitlerinin serbest kalması sağlanmıştır. Bunun için 40 mg örnek bulunan tüplerin üzerine 1. çözeltilen 1 ml ilave edilmiş ve 5-10 saniye vortekslenmiştir. 100⁰C'lik su banyosunda 5 dakika tutulduktan sonra tekrar vortekslenmiş ve daha sonra tekrar 100⁰C'lik su banyosunda 25 dakika tutulmuştur.

İkinci basamakta yağ asitlerin metilasyonu sağlanmış, serbest yağ asitlerine ester bağlarıyla metil eklenmiş ve yağ asit metil esterler elde edilmiştir. Bunun içinse 100⁰C'lik su banyosundan çıkarılan tüplere 2. çözeltilen 2 ml ilave edilmiş ve 5-10 saniye vortekslenmiş ve 80⁰C'lik su banyosunda 10 dakika tutulmuştur.

Üçüncü basamak olan saflaştırma basamağında soğutulan tüplerin üzerine 3. çözeltilen 1.25 ml ilave edilmiş ve 10 dakika karıştırıcıda çalkalanmıştır. Bu basamak sonunda tüplerde altta asidik, üstte organik sıvı faz olmak üzere iki faz gözlenmiştir. Tüplerdeki asidik faz pastör pipeti ile uzaklaştırılmış, yağ asit metil esterler asidik fazdan ayrılarak organik faz bölgesinde toplanmış ve organik faz muhafaza edilmiştir.

Son basamakta ise tüplerin üzerine 4. çözeltilen 3 ml ilave edilmiş ve 5 dakika karıştırıcıda çalkalanmıştır. Böylece serbest yağ asit metil esterlerinin saf olarak elde edilmesi sağlanmıştır. Tüplerde gözlenen üst faz pastör pipeti ile 2 ml viellere alınmış ve Mikrobial Identification System (MIS) (Microbial ID Inc. Newark De) cihazına yerleştirilerek Gaz kromatografi cihazında CLIN 50 kütüphanesi kullanılarak analiz edilmiştir.

2.2.3.2 Genotipik Testler

Kromozomal DNA'nın Pulsed Field Jel Elektroforez (PFGE) İle Analizi

Bu analiz için DNA örneklerinin analizinde Hennekinne ve ark. (2003); Vanderlinde ve ark (1999); tavsiye ettikleri yöntemler modifiye edilerek uygulanmıştır.

Agaroz plakları hazırlama: İzolatlar 5 ml BHI besiyerine ekilmiş ve 37⁰C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Gelişen kültürlerin 1,5 ml'si 3500g'de 20 dakika +4⁰C'de santrifüjlenip süpernatant kısımları atılmış ve peletlerin üzerine 1 ml TEN buffer pipetlenip 3500 g'de 20 dakika +4⁰C'de tekrar santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası TEN buffer uzaklaştırılmış 500 µl Lysis buffer pipetlenmiştir. Bu süspansiyondan 250 µl, %1'lik LMP agarozdan 250 µl, Lysostaphin'den 8 µl alınıp başka bir ependorf tüpe aktarılmıştır. Bu karışım agaroz plakları hazırlamak için moltilara pipetlenmiş ve +4⁰C'de 30 dakika tutulmuştur. Daha sonra agaroz plaklar 2 ml Lysis buffer bulunan cam tüplere aktarılmış ve 37⁰C'de 4 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası lysis buffer uzaklaştırılmış ve tüplere 2 ml ESP buffer konmuş ve 55⁰C'ye ayarlı su banyosunda bir gece inkübe edilmiştir.

Bir gecelik inkübasyondan sonra agaroz plakları 3 kez TE buffer'la yıkanmıştır. İlk yıkamada 10 ml, daha sonraki yıkamalarda 5 ml TE buffer'la birer saat arayla gerçekleştirilmiştir. Son yıkamadan sonra agaroz plakları 5 ml TE buffer'da bırakılmıştır.

Restriksiyon ve yükleme: Her bir örnek için ependorflara 100 µl restriksiyon buffer konulmuştur. Kesilen agaroz plakları bu bufferın içine konulmuş ve buz üzerinde 30 dakika bekletilmiştir. Bekleme süresinden sonra buffer uzaklaştırılmış ve 100 µl taze buffer ve 1 µl Sma I enzimi eklenmiş ve 2 saat oda ısısında bırakılmıştır. Bu işlemde sonra buffer içindeki agaroz plakları hazırlanan elektroforez jelinin kuyucuklarına yerleştirilmiş ve üzerleri %1'lik LMP agarozla kapatılmıştır.

Agaroz plaklarının yerleştirilmesinden sonra elektroforez jeli tanka yerleştirilmiş ve 19 saat süre ile puls zamanı 5-40 saniye arasında değişmek üzere 200 V'luk elektroforeze tabi tutulmuştur. Marker olarak Lambda DNA (Marka: Bio-Rad 170-3685) kullanılmıştır. Elektroforez sonrası jel 0.5 mg/lt ethidium bromid ile 25 dakika muamele edilmiş ve jel dökümantasyon sistemi ile (Univex Gel Documentation, UV Itec Limited AVEbury House 36a Union Lane Cambridge CB4 1QB UK)fotoğrafları çekilmiştir. Bantların görünümü sağlanarak benzerlik değerleri SPSS 10.0 istatistik yazılım programıyla hesaplanmıştır.

Ribotiplendirme

İzolatlar üretici firmanın Riboprinter (Mikrobial Characterisation System, DuPont Qualicon, Wilmington; De) tavsiye ettiği şekilde analize hazırlanmıştır.

Analize alınacak örnekler kanlı agara ekilmiş 37⁰C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Firmanın tavsiyesi doğrultusunda 40 µl örnek solüsyonu bulunan tüplere kanlı agarda gelişen kültürlerden alınarak 5 saniye vortekslenmiştir. Bu işlem iki kez tekrarlanmıştır. Hazırlanan bu süspansiyondan 30 µl cihazın kendi tüplerine aktarılmış ve 25 dakika ısıyla muamele edilmiştir. Bu işlemden sonra her bir tüpe 5 µl A ve 5 µl B solüsyonlarından ilave edilmiş ve 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. İncelenen Örneklerdeki Mikroorganizma Sayısı

3.1.1. Et Örneklerindeki Toplam Mikroorganizma Sayısı

Bu çalışmada incelenen parça et, kıyma, sucuk, tavuk eti Eskişehir merkezde satış yapan çeşitli kasap ve marketlerden temin edilmiştir. İncelenen bu et örneklerindeki toplam bakteri sayısı Çizelge 3.1’ de verilmiştir. İncelenen örneklerdeki en düşük toplam bakteri sayısı T2 örneğinde gözlenmiştir ve 2 kob/g olarak belirlenmiştir. En yüksek sayım ise E6 örneğinde gözlenmiş ve $5,7.10^5$ kob/g olarak bulunmuştur.

Çizelge 3.1. Et örneklerindeki toplam bakteri sayısı

Et Örnekleri	Toplam Bakteri Sayısı
E1	8.10^1
E2	3.10^5
E3	$3,2.10^5$
E4	$4,5.10^5$
E5	7.10^4
E6	$5,7.10^5$
E7	5.10^2
E8	$4,8.10^5$
E9	$3,5.10^5$
E10	67
E11	61
E12	9.10^2
E13	$1,7.10^2$
E14	$3,0.10^4$
E15	53
E16	73
E17	$5,0.10^1$
E18	$2,4.10^3$
E19	$6,2.10^2$
E20	9.10^2
E21	$4,3.10^1$
E22	$2,4.10^5$
E23	$1,5.10^4$
E24	$2,6.10^5$
E25	$1,7.10^3$
E26	$2,9.10^3$
E27	$1,1.10^1$
E28	$1,0.10^1$
E29	23
E30	$4,9.10^1$
E31	$1,5.10^2$
E32	$5,4.10^3$
E33	$4,2.10^4$
E34	55

Çizelge 3.1. (Devam) Et örneklerindeki toplam bakteri sayısı

E35	125
E36	$5,6.10^1$
E37	109
E38	39
E39	$2,5.10^1$
E40	38
E41	27
E42	$2,4.10^3$
E43	$4,6.10^2$
E44	73
E45	$1,8.10^1$
E46	$6,3.10^1$
E47	44
E48	$4,1.10^1$
E49	$2,7.10^1$
E50	40
E51	96
E52	$2,6.10^3$
E53	$1,3.10^3$
E54	$3,4.10^2$
E55	$3,4.10^4$
T1	31
T2	2
T3	$1,3.10^4$
T4	41
T5	$4,7.10^2$
C1	$2,4.10^1$
C2	8.10^4
C3	$5,9.10^2$
Sucuk 1	43
Sosis 2	37

3.1.2. Süt Örneklerindeki Toplam Mikroorganizma Sayısı

Bu çalışmada incelenen süt örnekleri Eskişehir merkezde satış yapan çeşitli mandıra, mahalli pazarlardan ve marketlerden temin edilmiştir. İncelen süt örneklerindeki toplam bakteri sayısı Çizelge 3.2' de verilmiştir. İncelen örneklerdeki en düşük toplam bakteri sayısı S13 nolu süt örneğinde gözlenmiştir ve $3,2.10^2$ kob/g olarak belirlenmiştir. En yüksek sayım ise S3 nolu süt örneğinde $4,8.10^9$ kob/g olarak bulunmuştur.

Çizelge 3.2. Süt örneklerindeki toplam bakteri sayısı

Süt Örnekleri	Toplam Bakteri Sayısı
S1	$1,6.10^4$
S2	$3,6.10^4$
S3	$4,8.10^9$
S4	$3,7.10^4$
S5	$2,5.10^3$
S6	$3,7.10^2$
S7	$2,7.10^3$
S8	$7,0.10^3$
S9	$5,0.10^4$
S10	$3,2.10^4$
S11	$3,2.10^3$
S12	$5,2.10^4$
S13	$3,2.10^2$
S14	$4,8.10^3$
S15	$4,4.10^3$
S16	$2,4.10^4$
S17	$2,5.10^3$

3.1.3. Peynir Örneklerindeki Toplam Mikroorganizma Sayısı

Bu çalışmada incelenen peynir örnekleri Eskişehir merkezde satış yapan çeşitli mandıra, mahalli pazarlardan ve marketlerden temin edilmiştir. İncelen bu peynir örneklerindeki toplam bakteri sayısı Çizelge 3.3' de verilmiştir. En yüksek sayım ise P4 örneğinde $2,9.10^5$ kob/g olarak bulunmuş olup. En düşük toplam bakteri sayısı ise P19 örneğinde 12 kob/g olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.3. Peynir örneklerindeki toplam bakteri sayısı

Peynir Örnekleri	Toplam Bakteri Sayısı
P1	22.10^3
P2	$3,2.10^2$
P3	$1,4.10^4$
P4	$2,9.10^5$
P5	$5,4.10^4$
P6	$4,6.10^2$

Çizelge 3.3. (Devam) Peynir örneklerindeki toplam bakteri sayısı

P7	$3,0.10^4$
P8	$6,4.10^3$
P9	$4,5.10^3$
P10	$2,5.10^2$
P11	$4,4.10^2$
P12	$2,0.10^4$
P13	$4,5.10^2$
P14	$1,8.10^3$
P15	$5,2.10^3$
P16	$4,8.10^2$
P17	$7,1.10^1$
P18	$9,9.10^3$
P19	12
P20	$7,3.10^2$
P21	$9,0.10^2$
P22	$4,7.10^3$
P23	$1,7.10^2$
P24	7,6
P25	$4,0.10^1$
P26	17
P27	$2,5.10^1$

3.1.4. Dondurma Örneklerindeki Toplam Mikroorganizma Sayısı

Bu çalışmada incelenen dondurma örnekleri Eskişehir merkezde satış yapan çeşitli pastanelerden temin edilmiştir. İncelen bu dondurma örneklerindeki toplam bakteri sayısı Çizelge 3.4' de verilmiştir. En yüksek sayım D16 örneğinde $1,12.10^6$ kob/g olarak bulunmuş olup en düşük sayım D18 örneğinde 0,5 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.4. Dondurma örneklerindeki toplam bakteri sayısı

Dondurma örnekleri	Toplam Bakteri Sayısı
D1	6,7
D2	4,8
D4	4,3
D5	$3,4 \cdot 10^2$
D6	$3,5 \times 10$
D7	$4,8 \times 10$
D8	1
D9	$2 \cdot 10^2$
D10	$4,5 \cdot 10^3$
D11	$3,2 \times 10$
D12	$4 \cdot 10^1$
D13	$33 \cdot 10^2$
D14	$3,3 \times 10^1$
D15	$7,4 \times 10^1$
D16	$1,12 \cdot 10^6$
D17	2,4
D18	0,5

3.2. *S.aureus* İzolasyonu

Bu çalışmada, parça et, kıyım, tavuk, sucuk, sosis, süt, peynir ve dondurma örneklerinin ve gıda örneklerinin işlendiği bu yerdeki gıdalarla direkt temas eden kişilerin boğaz, burun kültürlerinden ve ellerinden alınan örneklerin incelenmesi sonucunda toplam 61 adet tahmini *S. aureus* izolatu elde edilmiştir. Bu izolatların 49'u et örneklerinden, 1 tanesi peynir örneklerinden, 7 tanesi süt örneklerinden ve 4'ü gıda örneklerinin işlendiği yerdeki gıdalarla direkt temas eden kişilerin boğaz kültürlerinden izole edilmiştir. Tüm izolatlar %15'lik gliserolde stok kültürleri hazırlanarak identifikasyon testlerinde kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5. İzole edilen bakterilerin kaynaklarına göre dağılımı

Kaynak	Kasap	Mandıra	Pastane	İncelenen Toplam Örnek	Pozitif Örnek	İzole edilen örnek sayısı	Yüzdelik Oran (%)
Peynir	-	15	-	27	1	1	3,70
Süt	-	12	-	17	6	7	35,2
Parça et	28	-	-	55	15	42	27,2
Tavuk	6	-	-	9	4	4	44,4
Sosis-sucuk	3	-	-	3	2	2	66,66
Ciğer	1	-	-	3	1	1	33,3
Dondurma	-	-	10	18	-	-	0
Gıda elleyicisi	Boğaz svapları	-	-	1	1	4	100
	Burun svapları			1	-	-	0
	El svapları			1	-	-	0

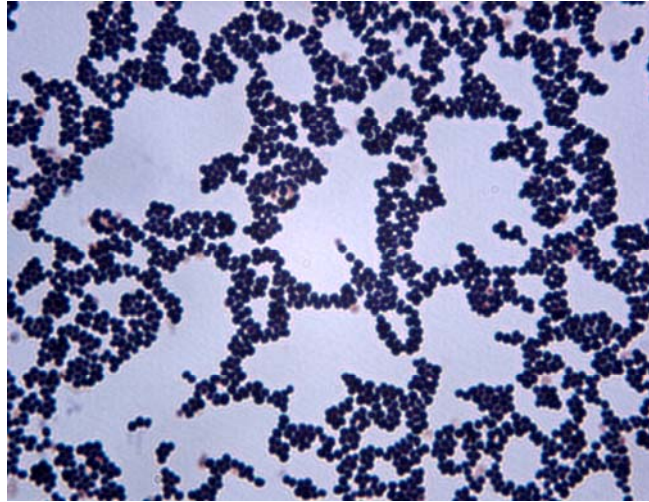
3.3. İdentifikasyon

3.3.1. Morfolojik Ve Biyokimyasal İdentifikasyon

S. aureus NRRL B-767 referans izolatu ve bu çalışmada izole edilen 61 izolat ile yapılan biyokimyasal testler sonucunda gram boyama, hemoliz, katalaz, koagülaz, lesitinaz aktivitesi, mannitol tuzlu agarda gelişme, mannitolün anaerobik fermantasyonu, glikozun anaerobik fermantasyonu, DNaz testleri ile dekstroz, mannitol, sükroz, trehaloz karbonhidratlarının aerobik fermantasyonu testinde test edilen tüm izolatlar pozitif sonuç vermiştir. Buna karşın rafinoz, ksiloz, arabinoz, karbonhidratları ise aerobik olarak fermente edilememiştir (negatif). Jelatinaz testinde ise 3 izolat hariç (Kş1a, Kş1c, Sosis1a), 59 izolat pozitif sonuç vermiştir. Pigmentasyon testinde izolatların 27'si altın sarısı, 20'ü krem rengi, 15 beyaz pigment oluşturduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.6). Şekil 3.1.'de *S. aureus* strainlerinin Baird Parker Agardaki gelişimi, Şekil 3.2.'de gram boyama ile *S. aureus* strainlerinin mikroskopik görünümü verilmiştir. Her bir izolatu biyokimyasal test sonuçları EK-1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. *S.aureus*'un Baird Parker Agar'daki görünümü



Şekil 3.2. Gram boyama ile *S. aureus*'un mikroskopik görünümü. Gram pozitif (+), kok şekli hücreler.

Çizelge 3.6. Biyokimyasal test sonuçları

Yapılan test	Test sonuç sayısı		
	+	-	
Katalaz	62	-	
Koagülaz	62	-	
Hemoliz	62	-	
Mannitolün anaerobik fermantasyonu	62	-	
Glikozun anaerobik fermantasyonu	62	-	
Lesitinaz aktivitesi	62	-	
Mannitol tuzlu agarda gelişme	62	-	
DNaz	62	-	
Jelatinaz	3	59	
Karbonhidrat fermantasyonu			
Sükroz	62	-	
Glikoz	62	-	
Mannitol	62	-	
Maltoz	62	-	
Trehaloz	62	-	
Fruktoz	62	-	
Rafinoz	-	62	
Arabinoz	-	62	
Laktoz	-	62	
Ksiloz	-	62	
Pigmentasyon	Altın sarısı	Krem rengi	Beyaz
	27	20	15

+: olumlu, pozitif sonuç, -: olumsuz, negatif sonuç

3.3.2. Vitek Otomatik Sistem İle Analiz

Pepton, basitrasin, optokin, hemisellüloz, %6 sodyum klorid, %10 safra, %40 safra, eskulin, arjinin, üre, tetrazolyum tuzu, novobiosin, dektroz, laktoz, mannitol, rafinoz, salisin, sorbitol, sukroz, trehaloz, arabinoz, püruvat, pullulan, inulin, mellibiyoz, melisitoz, sellobiyoz, riboz, ksiloz, katalaz ve beta hemoliz testleri olmak üzere 31 adet test içeren vitek analizatörü (VITEK Mikrobiology Reference Manual, bioMerieux, Inc. Box 15969 Durham, North Carolina 27704-0969/USA) GPI kartı kullanılarak izolatların 60'ının %99 oranında *S. aureus* olduğu doğrulanmıştır. 3A izolatı %96 oranında, Gg1a izolatı %97 oranında *S. aureus* olarak tespit edilmiştir. Aynı zamanda geleneksel yöntem ile Vitek GPI kartında yer alan sükroz, laktoz, ksiloz, rafinoz, mannitol, arabinoz, trehaloz şeker

testleri yapılmış, geleneksel ve otomatize sistemde yapılan test sonuçları birbirleriyle uyumlu bulunmuştur. Vitek Otomatik İdentifikasyon Sistemi ile analiz edilen 62 izolatın analiz sonuçları Çizelge 3.7’de verilmiştir. Buna göre analiz edilen izolatların tümünde pepton, %6 sodyum klorit, %10 safra, dekstroz, mannitol, sükröz, trehaloz, katalaz, beta hemoliz, optokin testleri pozitif, rafinoz, salisin, sorbitol, arabinoz, pullulan, inulin, mellibiyoz, melesitoz, sellobiyoz, riboz, ksiloz, novabiyosin ise negatif olarak belirlenmiştir. Bunun yanında hemiselüloz testinde 7’si pozitif, 55’i negatif; %40 safra testinde 28’i pozitif, 34’ü negatif; eskulin testinde 1’i pozitif, 61’i negatif; arjinin testinde 6’sı pozitif, 56’sı negatif; üre testinde 2’si pozitif 60’ı negatif; tetrazolyum testinde 24’ü pozitif 38’i negatif; laktoz testinde 7’si pozitif, 55’i negatif; pürivat testinde 2’si pozitif, 60’ı negatif; basitrasin testinde 43’ü pozitif, 19’u negatif sonuç vermiştir. Tüm izolatların Vitek sistemi ile identifikasyon test sonuçları EK-2’de verilmiştir.

Çizelge 3.7. Vitek analiz sonuçları

Test	Test Sonuçları	
	+	-
Pepton	62	-
Basitrasin Hassasiyeti	43	19
Optokin Hassasiyeti	62	-
Hemisellüloz	7	55
%6 Sodyum Klorit	62	-
%10 Safra	62	-
%40 Safra	28	34
Eskulin	1	61
Arjinin	6	56
Üre	2	60
Tetrazolyum	24	38
Novabiyosin Hassasiyeti	-	62
Dekstroz	62	-
Laktoz	7	55
Mannitol	62	-
Rafinoz	-	62
Salisin	-	62
Sorbitol	-	62
Sükroz	62	-
Trehaloz	62	-
Arabinoz	-	62
Püruvat	2	60
Pullulan	-	62
Inulin	-	62
Mellibiyoz	-	62
Melesitoz	-	62
Sellobioz	-	62
Riboz	-	62
Ksiloz	-	62
Katalaz	62	-
Beta hemoliz	62	-

+: olumlu, pozitif sonuç, -: olumsuz, negatif sonuç

3.4. Tiplendirme Testleri

3.4.1. Fenotipik testler

3.4.1.1. Antibiyotiklere Duyarlılık Testi

S. aureus izolatlarının disk difüzyon yöntemi ile NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) standartlarına göre yapılan antibiyotik duyarlılık testinde toplam 11 antibiyotik diski kullanılmıştır. Test sonuçlarına göre izolatların %79,3'i amoksisilin-klavunik asid'e, %51,61'i azitromisin'e, %43,4'ü netilmisin'e, %30,64'ü rifampin ve oksasilin'e, %25,8'i trimetoprim sulfametokzol'e, %25,8'i gentamisin'e, %29,3'ü oflasaksin'e, %19,35'i linkomisin'e, %12,9'u siproflaksasin'e, %9,6'sı vankomisine dirençli bulunmuştur. Çizelge 3.9'da 62 izolatın antibiyotik duyarlılık sonuçları, Şekil 3.3'de Müller Hinton Agar besiyerinde antibiyotik disklerinin oluşturduğu inhibisyon zonların görünümü verilmiştir. Her bir izolata ait antibiyogram profili EK-3'de verilmiştir.



Şekil 3.3. Mueller Hinton Agar besiyerinde E29b izolatına ait bakteri halısı üzerinde antibiyotik disklerinin oluşturduğu inhibisyon zonları. Antibiyotik diskleri: 1:Amoksisilin-klavulanik asit

(AMC30), 2: Gentamisin (CN10), 3: Vankomisin (VA30), 4: Siproflaksasin (CIP5), 5: Ofloksasin (OFX5), 6: Netilmisin (NET30), 7: Oksasilin (OX1)

Çizelge 3.8. *S.aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları.

Antibiyotik kodu	D*	ODD	R	%D	%ODD	%R
Ciproflaksasin	49	5	8	79,03	8,06	12,90
Gentamisin	41	4	17	66,12	6,45	27,41
Vankomisin	30	26	6	48,38	41,93	9,67
Oksasilin	38	5	19	61,29	8,06	30,64
Amoksisilin- klavulanik asit	13	-	49	20,96	-	79,03
Ofloksasin	39	5	18	62,90	8,06	29,03
Azitromisin	18	12	32	29,03	19,35	51,61
Rifampin	43	-	19	69,35	-	30,64
Linkomisin	22	18	12	35,48	8,06	19,35
Netilmisin	31	4	27	50	6,45	43,54
Trimethoprim- sulfamethoksazol	38	7	17	61,29	11,29	27,41

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

3.4.1.2. SET-RPLA (Staphylococcal enterotoksin test by reserved passive latex agglutination) ile enterotoksin analizi

Tüm izolatlar arasında 3 izolatın (Bg2a, 16a, 16b) enterotoksin D, 4 izolatın (Bg2b, Bg2c, Bg2d ve 10b) enterotoksin A ve sadece 7c izolatının C ve D enterotoksini ürettiği belirlenmiştir. Referans izolatımız dahil test edilen diğer izolatların hiçbirinin enterotoksin üretmediği saptanmıştır (Çizelge 3.9).

Çizelge 3.9. SET-RPLA ile enterotoksin testi analiz sonuçları

İzolatlar	Toksin Üretimi ve tipi	İzolatlar	Toksin Üretimi ve tipi
Kş1a	-	E27c	-
Kş1b	-	E29a	-
Kş1c	-	E29b	-
Bg2a	D	E29c	-
Bg2b	A	E29d	-
Bg2c	A	E25b	-
Bg2d	A	E27a	-
But1a	-	E27b	-
But1b1	-	E33a	-
Tv1a1	-	E33b	-
Cğ2a	-	E33c	-
Sosis1a	-	E34a	-
Brg1b	-	E34b	-
Göğüs1a	-	E34c	-
3A	-	E34d	-
4A	-	E46b2	-
10b	A	E48a	-
16a	D	E48b	-
16b	D	E49a	-
17a	-	E49b	-
7c	C,D	E49c	-
E16a	-	E50a	-
E16b	-	E50b	-
E16c	-	E50c	-
E17a	-	E53a	-
E17b	-	E53b	-
E17c	-	E54a	-
E21a	-	E54b	-
E21b	-	E54c	-
E21c	-	P5a	-
E25a	-	NRRL B 767	-

3.4.1.3. Yağ Asitleri Metil Esterlerinin (FAME) Analizi

Hücrel yağ asidi profilleri, MIS (Microbiyal İdentifikasyon sistem)'in içerdiği veri tabanına göre analiz edilmiştir. Analiz edilen 62 izolatın sadece 5' i (%8,06) sistem tarafından *S. aureus* olarak tanımlanırken, referans izolat dahil 48 izolat (%77,4) *Kocuria rosea*, 4 izolat (%6,45) *Staphylococcus* sp. (*S. cohnii*, *S.*

simulans), ve 1 izolat (%1,61) *Rothia mucilaginosa* ve dört izolat (%6,45) *Bacillus circulans* olarak tanımlanmıştır. EK-4’de analiz edilen izolatların MIDI sistem ile analiz edilen yağ asidi profilleri ve EK-5’de CLIN 50 veritabanına göre izolatların identifikasyon sonuçları verilmiştir.

Analiz sonuçlarına göre izolatlarda bulunan yağ asitleri şöyledir; 13:0 ISO, 13:0 ANTEISO, 14:0 ISO, 14:0, 15: ISO, 15:ANTEISO, 16:0, SUM IN FEATURE 3, 16:0, 17:0 ISO, 17:ANTEISO, 17:0, 18:0 ISO, SUM IN FEATURE 5, 18:1W9c, 18:1 W7c, 18:0, 19: ISO, 19:0 ANTEISO, 19:0, 20:4W6,9,12,15c, 18:03OH, 20:2W6,9c, 20:1W9c, 20:0, SUMMED FEATURE 3, SUMMED FEATURE 5

15:0 ISO, 15:0 ANTEISO, 16:0 ISO, 16:0, 17:0 ANTEISO, SUM IN FEATURE 5, 18:1W9c, 18:0, SUMMED FEATURE 5 yağ asitleri tüm izolatlarda bulunmuştur. Bunlardan 15:0 ANTEISO en yüksek oranda gözlenmiş olup ortalaması 50,83 ve standart sapması 4,07 olarak bulunmuştur. Bunun yanı sıra 18:03OH yağ asidi sadece bir izolatta (E16a) tespit edilmiştir. Analiz edilen tüm izolatların yağ asitlerinin, ortalamaları ve standart sapmaları Çizelge 3.10’de verilmektedir.

Çizelge 3.10. İzolatların içerdikleri yağ asitlerinin, ortalaması ve standart sapması

Yağ asidi	Ortalama	Standart sapma
13:0 ISO	0,19	0,09
13:0 ANTEISO	0,18	0,04
14:0 ISO	1,00	1,45
14:0	0,70	0,53
15 ISO	5,85	1,74
15:ANTEISO	50,83	4,07
16:0	1,08	0,43

Çizelge 3.10. (Devam) İzolatların içerdikleri yağ asitlerinin ortalaması ve standart sapması

SUM IN FEATURE 3	0,22	0,04
16:0	4,35	0,96
17:0 ISO	2,56	0,96
17:ANTEISO	12,54	2,93
17:0	0,26	0,12
18:0 ISO	0,26	0,11
SUM IN FEATURE 5	5,51	1,13
18:1W9C	4,61	1,30
18:1 W7C	0,92	0,27
18:0	4,18	1,09
19: ISO	0,40	0,13
19:0 ANTEISO	0,97	0,22
19:0	0,49	0,27
20:4W6,9,12,15C	0,93	0,15
18:03OH	0,32	-
20:2W6,9C	1,91	0,65
20:1W9C	0,94	0,37
20:0	0,76	0,53
SUMMED FEATURE 3	0,22	0,04
SUMMED FEATURE 5	5,51	1,13

Yapılan bu analize göre farklı yerlerden izole edilen izolatlar aynı yağ asitlerini içerdiği görülmüştür. NRRL B 767 *S. aureus* referans izolatın içerdiği yağ asitleri diğer izolatlarla benzer bulunmuş olmasına rağmen *Kocuria rosea* olarak isimlendirilmiştir.

3.4.2. Genotipik Testler

3.4.2.1. Kromozomal DNA'nın Pulsed Field Jel Elektroforez (PFGE) İle Analizi

PFGE analiz yöntemi ile 62 izolatın genotipik benzerlikleri *Sma* I enzimi kullanılarak araştırılmıştır. İzolatların oluşturdukları gruplar Şekil 3.5'de, PFGE bant profilleri ise Şekil 3.4'de verilmiştir.

PFGE ile analiz edilen 62 izolat 35 farklı pulsotip oluşturmuştur. Oluşan pulsotiplerde yer alan izolatlar Çizelge 3.11'de verilmiştir.

Aynı örnekten izole edilen *S. aureus* strainlerinin çoğu aynı pulsotipte yer almıştır. Boğaz kültüründen izole edilen dört *S. aureus* strainlerinden Bg2a farklı bir pulsotipte yer almıştır. Aynı örnekten izole edilen E16a, E16b izolatları aynı pulsotip, E16c izolatı ise farklı bir pulsotip oluşturmuştur. Benzer durum E49a, E49b, E49c ve E53a, E53b izolatlarında görülmüştür.

Oluşan dendograma göre iki kolda kümelenme olmuştur ve A kolunda 55 izolat, B kolunda 8 izolat bulunmaktadır. Buna göre A kolunda 1, 2, 3 numaralı izolatlar, 4, 5 numaralı izolatlar, 10, 11, 12 numaralı izolatlar, 14, 15 numaralı izolatlar, 24, 25 numaralı izolatlar, 28, 29, 30 numaralı izolatlar, 33, 34 numaralı izolatlar, 35, 36 numaralı izolatlar, 39, 40, 41 numaralı izolatlar, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48 numaralı izolatlar, 49,50,51 numaralı izolatlar, 53, 54, 55 numaralı izolatlar ve B kolundaki 56, 57 numaralı izolatlar kendi aralarında %99 oranında benzerlik göstermiştir (Şekil 3.5.).

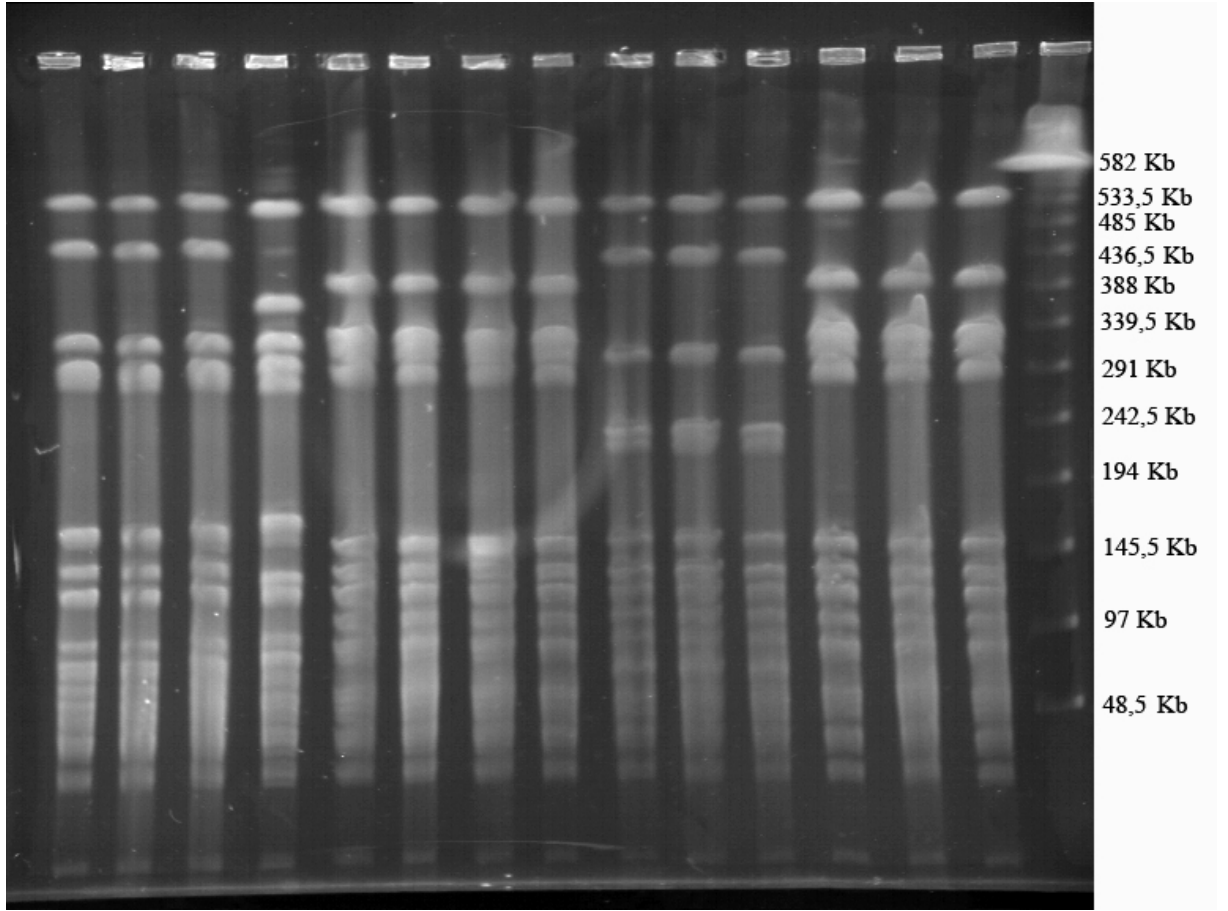
Çizelge 3.11. PFGE ile oluşan pulsotipler ve pulsotiplerde yer alan izolatlar

Pulsotipler	Pulsotiplerde Yer Alan İzolatlar
1	E33a, E33b, E33c
2	E34a, E34b, E34c, E34d
3	E50a, E50b, E50c
4	E54a, E54b, E54c
5	E46b2
6	4A
7	3A
8	7c

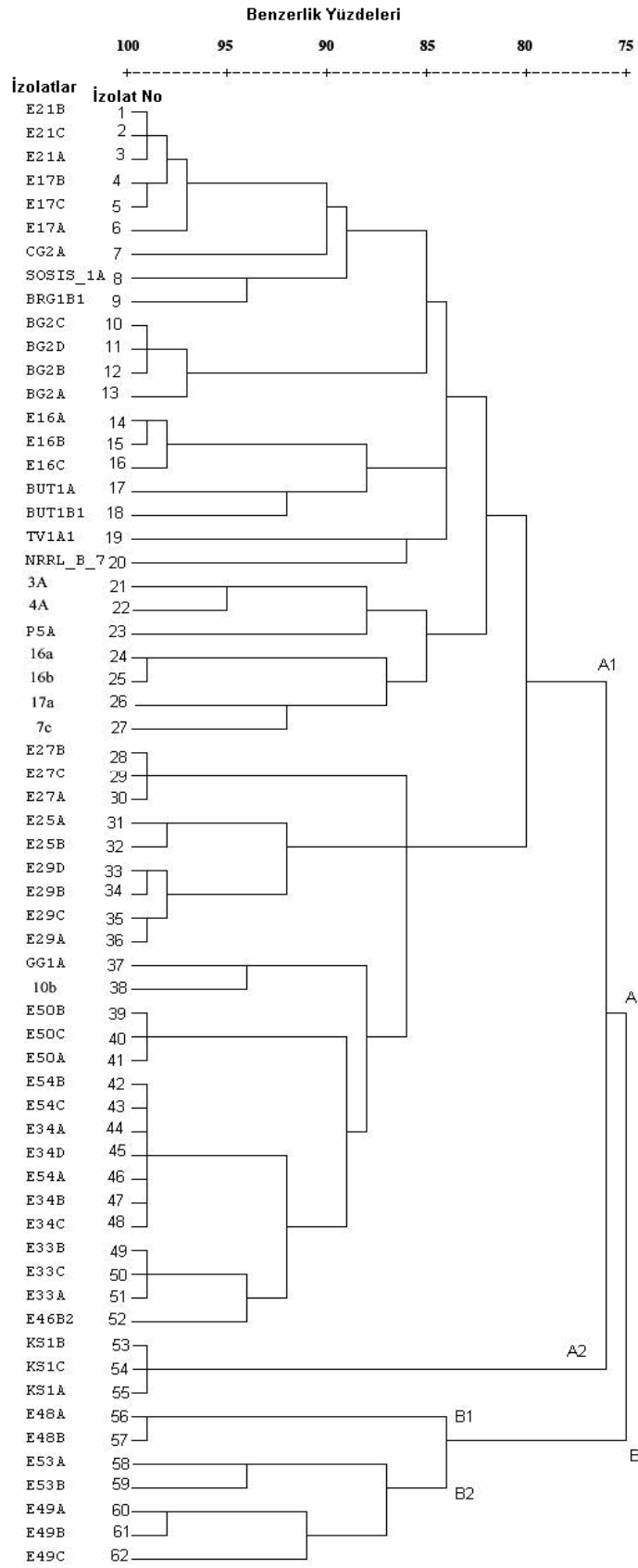
Çizelge 3.11. (Devam) PFGE ile oluşan pulsotipler ve pulsotiplerde yer alan izolatlar

9	17a
10	16a, 16b
11	P5a
12	Cg2a
13	E17a, E17b, E17c
14	E21a, E21b, E21c
15	Bg2b, Bg2c, Bg2d
16	Tv1a1
17	Brg1b
18	Bg2a
19	Sosis1a
20	But1b1
21	But1a
22	E16a, E16b
23	E16c
24	10b
25	Gg1a
26	Kş1a, Kş1b, Kş1c
27	E25a, E25b
28	E27a, E27b, E27c
29	E29a, E29b, E29c, E29d
30	NRRL B 767
31	E48a, E48b
32	E49a, E49b
33	E49c
34	E53a
35	E53b

A ve B kolları ise %75 oranında benzerlik vermiştir. Farklı örneklerden izole edilen E34a, E34b, E34c ile E54a, E54b, E54c izolatları %99 oranında benzerlik göstermesi aynı strainlerin farklı ortamlarda bulunabileceğini düşündürmektedir



Şekil 3.4. Analiz Edilen Bazı *S. aureus* İzolatlarının PFGE Profilleri. 15. çukur marker, 1: E33a, 2: E33b, 3: E33c, 4: E46b2, 5: E34a, 6: E34b, 7: E34c, 8: E34d, 9:E50a, 10:E50b, 11:E50c, 12:E54a, 13:E54b, 14:E54c.



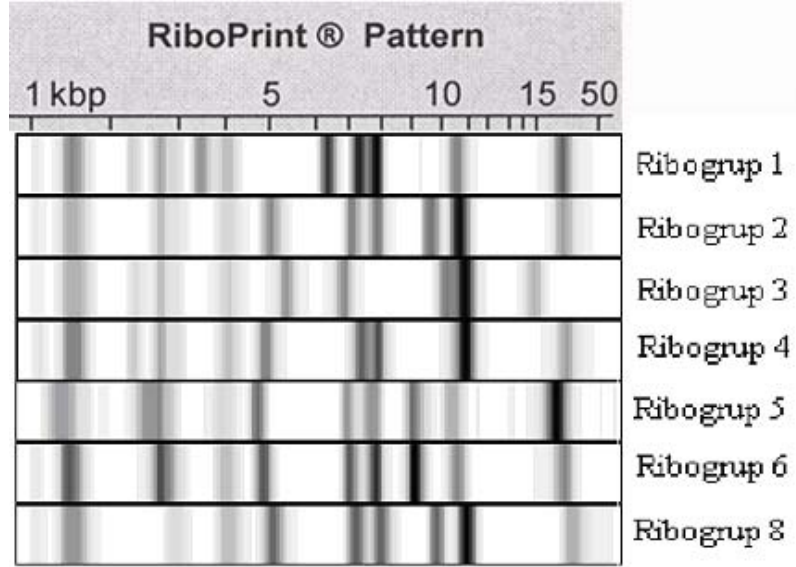
Şekil 3.5. *S. aureus* İzolatlarının PFGE Analizi İle Benzerlik Oranları

3.4.2.2. Ribotiplendirme

Bu çalışmada 40 izolat *Eco R I* enzimi kullanılarak ribotiplendirmeye alınmış ve sistemin adlandırdığı 7 ribo grup belirlenmiştir (Şekil 3.6). Analiz edilen izolatların bant profilleri ve ribogrupları Çizelge 3.12 'de görülmektedir.

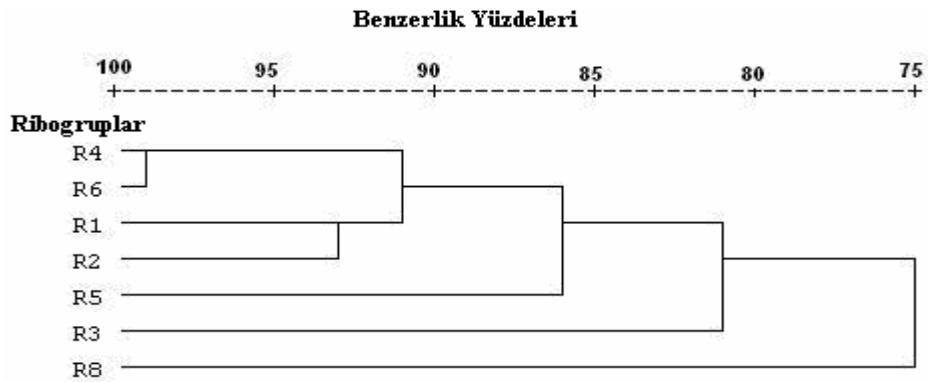
Birinci grup; NRRL B767, E33a, E49b izolatlarından oluşmuştur. İkinci grup; Cg2a, Gg1a, Brg1b, 10b, 17a, 16b, 16a, E29d, E29a, E29b, E29c izolatları, üçüncü grupta Tv1a1, Kş1a, Kş1b, Kş1c, 7c izolatları, dördüncü grupta 3A, 4A, But1b1, E16b, E16c, E27a, E17a, E17b, E17c, E25b, E25a izolatları, beşinci grupta sadece Bg2c izolatları yer almıştır. Altıncı grupta Bg2d, Bg2b, Bg2a, E33c, E21c izolatları yer alırken sekizinci grupta Sosis1a, E34a, E34c, P5a izolatları bulunmuştur. Bu çalışmada tüm izolatlarımız analiz edilemediğinden dolayı sadece test edilen izolatların ribogrupları verilmiştir.

Birinci ribogrupta. biri referans izolat olmak üzere, diğer iki izolat farklı kasaplardan alınan gıda örneklerinden izole edilmiştir. İkinci ribogrupta Cg2a, Brg 1b izolatları aynı kasaptan, farklı örneklerden, 10b, 17a, 16b, 16a izolatları aynı mandıradan ve 16b, 16a izolatları hariç farklı süt örneklerinden, üçüncü ribogrupta Tv1a1, Kş1a, Kş1b, Kş1c aynı kasaptan, 7c ise mandıradan alınan süt örneğinden, dördüncü ribogrupta, 3A, 4A aynı mandıranın farklı süt örneklerinden, E16a-E16b, E17a-E17b-E17c, E25a-E25b, E27a, But1b1 farklı kasaplardan alınan et örneklerinden izole edilmiştir. Beşinci ribogrupta gıda elleyicisinin boğaz kültüründen izole edilen strain yer almıştır(Bg2c). Altıncı ribogruplar aynı gıda elleyicisinin boğaz kültüründen izole edilen üç izolat (Bg2a, Bg2b, Bg2d), ve farklı kasaplardan izole edilen iki strain (E33c, E21c) bulunmaktadır. Son olarak yedinci ribogrupta E34a, E34c aynı et örneğinden, Sosis 1a farklı bir kasaptan, P5a ise mandıradan temin edilen örnekten izole edilmiştir.



Şekil 3.6. *S. aureus* İzolatının Ribotiplendirme Profilleri

Ribotiplendirme profillerine göre ribogrup 5, 1kbp- 2 kbp arasında diğer ribogruplara göre farklı bir bant oluşturmuştur. Ribogruplar arasında en çok farklı bantlaşma 5kbp-10 kbp arasında görülmektedir. 2kbp- 3 kbp arasındaki değerlerde ribogrup1, ribogrup3, ribogrup 4 ve ribogrup 5, diğer ribogruplara göre farklı bantlaşma göstermiştir. Ribogrup 3, 15 kbp değerinde diğerlerinden farklı olarak tek bir bant oluşturmuştur. Oluşan bu profillere göre ribogruplar içinde yer alan izolatlar Çizelge 3.12’de gösterilmiştir.



Şekil 3.7. Ribogrupların Benzerlik Yüzdesi

Oluşan dendograma göre 4. ve 6. grup birbirlerine %99, 1. ve 2. grubun ise birbirlerine %93 oranında benzer oldukları bulunmuştur. Bu grupların da 5. grup

ile benzerlik oranı %84 olarak tespit edilmiştir. 3. grubun ise yukarıda bahsedilen ribogruplarla benzerlik oranı %84 olarak belirlenirken, tüm bu gruplara %75 oranında 8. grup benzerlik oranı vermiştir. Gruplar arası benzerlik yüzdeleri Şekil 3.7.'de verilmiştir.

Çizelge 3.12. İzolatların Enterotoksin Tipleri, Pulsotipleri ve Ribogrupları

Strainler	Kaynak	Enterotoksin Testi	Pulsotip	Ribogrup
BG2A	Boğaz Kültürü	D	18	6
BG2B	Boğaz Kültürü	A	15	6
BG2C	Boğaz Kültürü	A	15	5
BG2D	Boğaz Kültürü	A	15	6
BUT1A	Kasap	-	21	-
BUT1B1	Kasap	-	20	4
CG2A	Kasap	-	12	2
SOSİS1A	Kasap	-	19	8
BRG1B1	Kasap	-	17	2
KŞ1A	Kasap	-	26	3
KŞ1B	Kasap	-	26	3
KŞ1C	Kasap	-	26	3
TV1A1	Kasap	-	16	3
Gg1a	Kasap	-	25	2
3A	Mandıra	-	7	4
4A	Mandıra	-	6	4
16a	Mandıra	D	10	2
16b	Mandıra	D	10	2
17a	Mandıra	-	9	2
7c	Mandıra	C+D	8	3
10b	Mandıra	A	24	2
P5a	Mandıra	-	11	8
E16a	Kasap	-	22	-
E16b	Kasap	-	22	4
E16c	Kasap	-	23	4
E17a	Kasap	-	13	4
E17b	Kasap	-	13	4
E17c	Kasap	-	13	4
E21a	Kasap	-	14	-
E21b	Kasap	-	14	-
E21c	Kasap	-	14	6

Çizelge 3.12.(Devam) İzolatların Enterotoksin Tipleri, Pulsotipleri ve Ribogrupları

Strainler	Kaynak	Enterotoksin Testi	Pulsotip	Ribogrup
E25a	Kasap	-	27	4
E25b	Kasap	-	27	4
E27a	Kasap	-	28	4
E27b	Kasap	-	28	-
E27c	Kasap	-	28	-
E29a	Kasap	-	29	2
E29b	Kasap	-	29	2
E29c	Kasap	-	29	2
E29d	Kasap	-	29	2
E33a	Kasap	-	1	1
E33b	Kasap	-	1	-
E33c	Kasap	-	1	6
E46b2	Kasap	-	5	-
E34a	Kasap	-	2	8
E34b	Kasap	-	2	-
E34c	Kasap	-	2	8
E34d	Kasap	-	2	-
E48a	Kasap	-	31	-
E48b	Kasap	-	31	-
E49a	Kasap	-	32	-
E49b	Kasap	-	32	1
E49c	Kasap	-	33	-
E50a	Kasap	-	3	-
E50b	Kasap	-	3	-
E50c	Kasap	-	3	-
E53a	Kasap	-	34	-
E53b	Kasap	-	35	-
E54a	Kasap	-	4	-
E54b	Kasap	-	4	-
E54c	Kasap	-	4	-
NRRL B 767	United States Department of	-	30	1

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tüketime sunulan her gıda maddesi belirli çeşit ve sayıda mikroorganizmadan oluşan bir mikrofloraya sahiptir. Mikroflorayı oluşturan mikroorganizmalar ürüne ham maddeden başlayarak, ham maddenin ürüne işlenmesi ve pazarlanmasına kadar olan süreçteki her aşamada çeşitli kaynaklardan kontamine olabilmektedir. Kontaminasyon üretim sürecinin her aşamasında alınabilecek veya uyulabilecek hijyen ve sanitasyon önlemlerine bağlıdır. Hammaddede bulunabilecek mikroorganizmalar veya üretimin belirli aşamasındaki bir ara ürüne herhangi bir şekilde bulaşan organizmalar genellikle son ürünün mikroflorasında da belirli oranda yer almaktadır. Bunun yanı sıra hammadde veya ara üründe bulunmayan bir mikroorganizma son ürüne ambalajlama, depolama, taşıma veya pazarlama gibi aşamalarda da çeşitli yollarla bulaşabilmektedir (Ünlütürk ve ark, 1998).

Üretim esnasındaki personel hijyenin yetersiz olması ve bileşiminde bulunan maddelerin arzu edilmeyen mikroorganizmalarla kontaminasyonu gıda zehirlenmesi riskini gündeme getirmektedir. Stafilokoklara bağlı gıda zehirlenmelerinin meydana gelişinde gıdaların hazırlanmasında çalışan personel önemli bir kontaminasyon kaynağıdır (Sağun ve ark, 2003). Bunlardan *S. aureus* doğal çevrede yaygın olarak bulunan ve oldukça sık rastlanılan gıda zehirlenme etkenlerinden birisidir.

Hayatı tehdit eden nozokomiyal enfeksiyonlardan en sık soyutlanan etkenlerin başında gelen Stafilokoklar, antibiyotiklere karşı gittikçe artan dirençlilik sebebiyle gerek hastanelerde gerekse toplum kökenli enfeksiyonlarda büyük bir sağlık sorunu haline haline gelmiştir. Hastane ortamında bakterinin enfekte kişiden sağlık personelinin elleri ve giysileri ile aktarılması önemli bir bulaşma yoludur (Gülbandılar, 2006).

Bu çalışmada Eskişehir’de satış yapan market, kasap, mandıra ve pastanelerden alınan gıda örnekleri toplam mezofilik bakteri sayımı için analiz edilmiş ve *S. aureus* bakterisi izole edilmeye çalışılmıştır.

Türk gıda kodeksinin ilgili bölümünde (17,03,2001-24345 sayılı resmi gazete) taze et, hazırlanmış et ve hazırlanmış et karışımları örneklerinin gramında en fazla bulunabilecek toplam mezofilik bakteri sayısı 5.10^6 olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmada incelenen parça et, tavuk, sosis, sucuk, ciğer örneklerinin toplam mezofil bakteri sayılarına göre, hiçbir örneğin Türk Gıda Kodeksinin toplam mezofil bakteri sayısı açısından belirlenen mikrobiyolojik kriterleri aşmadığı gözlenmiştir.

Türk gıda kodeksinin ilgili bölümlerinde (02,09,2001-24511 sayılı resmi gazete) süt ve süt örneklerinin gramında bulunabilecek toplam mezofil bakteri sayısı 10^5 olarak verilmektedir.

S3 süt örneğinde, P4 peynir örneğinde ve D16 dondurma örneğinde Türk Gıda Kodeksinin toplam mezofil bakteri sayısı açısından belirlenen mikrobiyolojik kriterleri aştığı gözlenmiştir. Bu nedenle tüketilmemesi gerekir .

Shale ve ark (2005); Güney Afrika'da mezbahanelerden temin edilen örneklerin stafilokok sayımları açısından inceleme, identifiye etme ve koagülaz tiplerini belirleme çalışmaları yapmışlardır. Bu çalışmayla et örneklerindeki stafilokok kontaminasyon seviyesini azaltıcı hijenik şartların yerine getirilmesinin önemini vurgulamışlardır. Bunun için gıda elleyicilere, yüzeylere, alet ve ekipmanlara bulaştığı görülen stafilokok kontaminasyon seviyesinin azaltılması için mezbahanelerin et işlenmesindeki stratejilerini gözden geçirmelerini tavsiye etmişlerdir. Biz bu çalışmada, özellikle süt ürünü işleyicilere bu tip tavsiyelerde bulunuyoruz.

Çalışmamızda izolatların identifikasyonu için geleneksel yöntemlerin yanı sıra VITEK analizatörü (VITEK Mikrobiology Reference Manual, bioMerieux, Inc. Box 15969 Durham, North Carolina 27704-0969/USA) kullanılmıştır. Vitek analizatörü kullanılarak yapılan testler sonucunda 60 izolatların %99 oranında, 3A izolatı %96 oranında, Gg1a izolatı %97 oranında *S. aureus* olarak doğrulanmıştır. Geleneksel yöntemler ve vitek analizatörü ile yapılan şeker testlerinin sonuçları uyumlu bulunmuştur.

Gülbandılar (2006); Kütahya yöresinde çeşitli gıdalardan ve gıda elleyicilerinden izole ettiği *S. aureus* izolatlarını geleneksel ve vitek analizatörü ile identifiye etmiştir. Her iki yöntemin karşılaştırmasında vitek analizatörü ile yapılan identifikasyonun daha çabuk sonuç verdiğini ve daha güvenilir olduğunu belirtmiştir. Bu nedenle rutin ve çok sayıda izolatın identifikasyonunu gerektiren durumlarda Vitek testi güvenilir bir yöntem olarak tercih edilmelidir.

S. aureus bakterisi kemoterapötiklere karşı hızla direnç kazanarak onlara karşı direnç kazanır. Yeni kullanılan bir antibiyotik bakteriye karşı etkili olsa da zamanla, *S. aureus* kullanılan antibiyotikten etkilenmez. Stafilokok taşıyıcılığının en önemli kısmını metisilin (oksasilin) dirençliği oluşturmaktadır. Metisiline dirençli *S. aureus* taşıyıcıları bulunduğu hastane ortamında kolaylıkla yayılmaktadır. Aynı zamanda metisiline dirençli izolatlar eritromisin, sefalosporinler, tetrasiklin, klindemisin, aminoglikozid, kinolonlar gibi bir çok antibiyotiğe de direnç göstermektedir.

Çalışmamızda antibiyotik duyarlılıklarını tespit etmek için Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. İzolatlar amoksisilin-klavulanik asite en yüksek (%79,03) direnç gösterirken, en düşük dirençlilik vankomisine (%9,67) karşı tespit edilmiştir.

Bu çalışmada test edilen 62 izolatın 19'sü (%30.64) oksasiline direnç göstermiştir. Bu örneklerin iki tanesi boğaz kültüründen (Bg2a, Bg2d), 13'ü et örneklerinden (Kş1b, E147a, E17b, E25b, E29a, E29c, E33c, E46b2, E48a, E50a, E50b, E53a, E53b), 4'ü süt örneklerinden (3A, 16a, 17a, 10b) izole edilmiştir. Metisiline dirençli izolatlarla kontamine olmuş gıdaların tüketimi risk oluşturabilir ve böyle gıdalarla sürekli temas eden kişilerin enfeksiyon kapma riskini de doğurabilir. Aynı zamanda antibiyotiğe dirençli gıdaların varlığı zayıf sanitasyon göstergesi olarak yorumlanabilir.

Gündoğan ve ark (2005); et ve tavuk örneklerinden izole ettikleri *S. aureus* strainlerinin antibiyotiklere duyarlılıklarını disk difüzyon yöntemiyle araştırmışlardır. Deney sonuçlarına göre izolatların %67.5'i methisiline, %87,5'i basitrasine, %53,8'i penisilin G'ye, %7,5'i eritromisin'e dirençli bulunurken, vankomisin, sulbaktam amfisilin, siproflaksasin ve sefaperozon-sulbaktama duyarlı bulunmuştur.

Gündoğan ve ark (2005); toplam 180 inek sütü, pastörize süt ve dondurma örneklerini *S. aureus* varlığı yönünden incelemişler ve bu örneklerden 110 *S. aureus* izole etmişlerdir. Bu izolatların farklı antibiyotiklere dirençliliklerini tespit etmek için disk difüzyon tekniğini kullanmışlardır. Test sonuçlarına göre bu izolatlar penisilin G'ye (%96,3), methisiline'e (%97,2) ve basitrasine'e (%99

oranında) direnç gösterirken, vankomisin, sulbaktam-amfisilin, siproflaksasin ve sefaperazon- sulbaktama duyarlı bulunmuştur.

Tondo ve ark (2000); iki buçuk yıl süreyle süt ürünlerini işleyen bir fabrikada *S. aureus* kontaminasyonunu ve kontaminasyon kaynaklarıyla korelasyonunu araştırmışlardır. Bunun için izolatlara antibiyotik duyarlılık testlerini ve PFGE analizini uygulamışlardır. Gıda elleyicilerinin %35,2'sinin *S. aureus* taşıyıcısı oldukları tespit edilmiş ve bu kişilerin süt örneklerinin %90,4'nü kontamine ettikleri belirtilmiştir. İzolatların oksasilin, sefalothin, vankomisin, gentamisin ve sulfamethoksozol-trimethoprim antibiyotiklerine duyarlılıkları araştırılmıştır. Personelden, işlenmiş ve işlenmemiş süt örneklerinden izole edilen *S. aureus* 'ların sırasıyla %94,4, %47,3 ve %50 oranında penisilin G'ye dirençli bulunmuştur. Diğer antibiyotiklere ise izolatların tümünün duyarlı oldukları belirtilmiştir.

Enterotoksin üretebilen *S. aureus* strainleri ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesi gıda zehirlenmelerine neden olabilir. Özellikle gıda zehirlenmelerine en çok neden olan toksin A ve D enterotoksinleridir. Aynı miktarda toksin alan şahıslar arasında zehirlenme belirtileri göstermeyenler olabileceği gibi, çok hafif zehirlenenler ya da şiddetli zehirlenenler de olabilir.

SET-RPLA test kiti (Staphylococcal enterotoksin test by reserved passive latex agglutination) ile *S. aureus* izolatlarının A, B, C ve D tip enterotoksini üretme yetenekleri test edilmiştir. Test sonuçlarına göre Bg2b, Bg2c, Bg2d, 10b izolatları A enterotoksini, Bg2a, 16a, 16b izolatları D enterotoksini, 7c izolatu C ve D enterotoksini ürettiği, referans izolatımız dahil diğer izolatların ise enterotoksin üretmediği belirlenmiştir. Enterotoksin üreten bu strainler boğaz kültüründen ve süt örneklerinden izole edilen örneklerdir. Gıda elleyicisinden alınan boğaz kültürü örneklerinden izole edilen strainlerin enterotoksin üretmelerine rağmen, aynı kasaptan alınan et örneklerinin hiç birinde enterotoksin üreten strainler bulunmamıştır. Enterotoksin üreten strainlerin sadece süt örneklerinde bulunması ise sağım sırasında bir kontaminasyonun varlığını göstermektedir.

Atanossova ve ark (2001); yaptıkları çalışmada işlenmemiş domuz eti, tuzlanmış et ve janbona ait 135 örneği *S. aureus* prevalansı yönünden araştırmış

ve enterotoksin tiplerini belirlemişlerdir. Bunun için klasik kültürel metotlarla moleküler teknikler kullanılmış ve sonuçları karşılaştırmışlardır. PCR kullanılarak *S. aureus* prevalansı 69 örnekte pozitif sonuç vermiştir. İşlenmemiş domuz etinde en yüksek oran %62,2 tuzlanmış et örneklerinde %55,6 janbon örneklerinde ise %35,6 oranında pozitif bulunmuştur. Buna karşılık klasik metotlarda bu oranlar sırasıyla %57,7, %8,9 ve %11,1 olarak tespit edilmiştir.

Genetik olarak aynı mikroorganizmaların içerdikleri yağ asitleri sayısı, çeşitliliği ve % değerleri çevre şartları aynı olduğu sürece aynıdır. Yağ asitleri analizi sonucunda farklı profillerin oluşması mikroorganizmalar arasındaki genetik akrabalıkların tespit edilmesini sağlar.

Stoakes ve ark. (1994); bilgisayar destekli mikrobiyal identifikasyon sistemi (MIS) kullanarak gaz-sıvı kromatografisi ile bakterilerin yağ asitlerini belirlemişlerdir. Bu yöntemle elde edilen sonuçlar geleneksel yöntemle elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. 470 izolattan 413'ü her iki yöntemle uyumlu iken 45 izolat yanlış identifiye edilmiş, 12 izolatın ise bu sistemde karşılığı bulunamamıştır. 78 izolat yeniden test edilerek aynı sonuçlar bulunurken beş izolatın sonuçlarının değiştiğini rapor etmişlerdir.

Bu çalışmada, analiz edilen 62 izolatın 5' i (%8,06) *S. aureus* olarak tanımlanırken, referans izolat dahil 48 strain (%77,4) *Kocuria rosea*, 4'ü (%6,45) *Staphylococcus* sp. (*S. cohnii*, *S. simulans*), bir izolat (%1,61) *Rothia mucilaginosa* ve dört izolat (%6,45) *Bacillus circulans* olarak tanımlanmıştır.

Referans olarak kullanılan NRRL B 767 *S. aureus* izolatının bulundurduğu yağ asitleri diğer izolatlarla benzer olmasına rağmen, analiz edilen izolatların sadece 5'i *S. aureus* olarak tanımlanmıştır. Bu nedenle izolatların biyokimyasal test ve Vitek ile identifiye edilmesi gerekliliği doğmuştur. Gaz karomotografisi ile identifiye edilemeyen izolatların oluşturduğu yağ asitleri ile *S. aureus* yağ asitleri kütüphanesi oluşturulmuştur. Böylece bundan sonraki gaz kromatografisi ile yapılacak *S. aureus* identifikasyon çalışmalarında kolaylık sağlayacaktır.

Bu çalışmada, genotipik analiz yöntemlerinden PFGE ve ribotiplendirme analizleri yapılmıştır. PFGE çok büyük DNA moleküllerini ayırma özelliğine sahip olup *S. aureus* tiplendirmesinde kullanılmaktadır. Bu yöntemde DNA

molekülleri belirli zaman aralıklarında birbirinden farklı açıda iki elektriksel zaman etkisinde bırakılır.

Mork ve ark (2005); *S. aureus* izolatlarını PFGE analiz yöntemi ile identifikasyon çalışmalarında bulunmuşlardır. Analiz sonuçlarında bu izolatların 10 küme halinde 64 farklı pulsotip oluşturduğu, 319 izolatı içeren H grubunun en büyük grubunu oluşturduğu rapor edilmiştir. Yaygın olarak bulunan pulsotiplerin hiçbiri birbirleriyle ilişkili bulunamamıştır.

Hennekinne ve ark (2003), 73 *S. aureus* ve bir *S. simulans* strainleri PFGE yöntemi ile analiz etmişlerdir. Analiz sonucu 62 patern oluşturduğunu belirtmişler, farklı iki grup oluştuğu ve bunlar arasındaki benzerlik oranını %20 olarak rapor etmişlerdir. *S. aureus* strainleri 14 alt grup oluşturmuş ve bu alt gruplar %50 oranında benzerlik değeri göstermişler ve PFGE analizi bakterilerin tiplendirilmesi için yüksek derecede ayırtedici bir metot olduğu belirtmişlerdir.

Bu çalışmada, PFGE analiz yönteminde incelenen 62 izolat 35 pulsotip oluşmuştur. Bu pulsotiplerde yer alan strainlerin çoğu aynı gıda örneklerinden izole edilmiştir. Aynı örneklerden izole edilen strainlerin farklı pulsotiplerde toplanması ise PFGE'nin yüksek derecede ayırtedici olduğunu göstermektedir. Oluşan dendograma göre izolatlar iki farklı kollarda kümelenmiştir. Bu A ve B kolları birbirleriyle %75 oranında benzerlik göstermiştir. Farklı kasaplardan ve örneklerden izole edilen E34a, E34b, E34c ile E54a, E54b, E54c izolatlarının %99 oranında benzerlik göstermesi aynı strainlerin farklı ortamlarda bulunabileceğini göstermektedir.

Ribotiplendirme yönteminde ise *EcoRI* restriksiyon enzimi ile kesilen kromozomal DNA fragmentleri boyutlarına göre ayrılıp işaretli rRNA operon problemleri ile hibridize olmaktadır ve sistemde kayıtlı referans marker fragmenti ile fragmentler karşılaştırılarak izolatların ribotipleri belirlenebilmektedir.

Bu çalışmada ribotiplendirme analiz sonuçlarına göre yedi ribogrup belirlenmiştir.

Aynı ribogrup içerisinde farklı kasaplardan alınan örneklerden izole edilen strainler olduğu gibi aynı kasaptan alınan farklı örneklerden elde edilen strainlerde yer almaktadır. Örneğin bir ribogrup içerisinde, Cg2a, Brg 1b izolatları aynı kasaptan, farklı örneklerden, 10b, 17a, 16b, 16a izolatları aynı

mandıradan ve bunlar arasında 16b, 16a izolatları hariç farklı süt örneklerinden elde edilen strainler yer almaktadır.

Gıda elleyisinin boğaz kültüründen izole edilen üç izolat (Bg2a, Bg2b, Bg2d) strainlerinin yer aldığı ribogrup içerisinde, bu gıda elleyicisinin işletmesinden alınan gıda örneklerinden izole edilen *S. aureus* strainleri yer almamıştır. Aynı şekilde aynı boğaz kültüründen izole edilen Bg2c izolatı tek başına bir ribogrup oluşturmuştur. Bu sonuçlar bize taşıyıcıdan elde edilen izolatlarla aynı işletmede ki gıdalardan elde edilen izolatlar arasında bir ilişki göstermemiştir.

Oluşturulan benzerlik dendogramına göre 4. ve 6. grup birbirlerine %99, 1. ve 2. grubun ise birbirlerine %93 oranında benzer oldukları bulunmuştur. Bu grupların da 5. grup ile benzerlik oranı %84 olarak tespit edilmiştir. 3. grubun ise yukarıda bahsedilen ribogruplarla benzerlik oranı %84 olarak belirlenirken, tüm bu gruplara %75 oranında 8. grup benzerlik oranı vermiştir. Dördüncü grupta 3A, 4A, But1b1, E16b, E16c, E27a, E17a, E17b, E17c, E25b, E25a izolatları ile altıncı grupta Bg2d, Bg2b, Bg2a, E33c, E21c izolatları yer almaktadır. Bu ribogruplar arasında sadece taşıyıcının boğaz kültüründen izole edilen (Bg2a, Bg2b, Bg2d) strainleri ile But 1b1 straini aynı işletmedeki gıda örneğinden izole edilmiştir. Bunun dışında iki ribogrup arasında ki strainler farklı kasaplardan elde edilmiştir.

Rodriguez ve ark (2006); tavşan etlerinden izole edilen *S. aureus* strainlerinin orjinlerini ve farklılıklarını belirlemek için üç fenotipik ve üç moleküler tiplendirme metodu kullanmışlardır. Bu metotlar arasında PFGE yüksek ayırt edicilik gösterirken ribotiplendirme metodu düşük oran vermiştir. Antibiyotik dayanıklılık testi ve faj tipleme benzer bir ayırım gücü gösterirken biyotiplendirme ise altı metot arasında en düşük ayırt ediciliğe sahip olduğubelirtilmiştir. PFGE patternlerinin analizlerinin sonuçlarına göre, farklı özelliklerdeki tavşan etinden elde edilmiş izolatlar olsalar da *S. aureus* tiplerinin ayırtedilemeyeceği ve yakın derecede birbirleriyle ilişkili izolatlar olduğu saptanmıştır. Böylece PFGE tip A en yaygın olarak bulunan grubu oluşturmuş, aynı zamanda PFGE tip B, D, H ve I birden fazla fabrikada kesim yapılan karkaslardan tespit edilmiştir. Farklı coğrafik alanlardan elde edilen örneklerde

son derece yakın ilişkili izolatların varlığı araştırmacılara üretim tesisleri ve tavşan çiftlikleri arasındaki kolonilerin yayıldığını düşündürmüştür.

Bu çalışmada incelenen örnekler hem toplam mezofil bakteri sayısı açısından incelenmiş, hem de *S. aureus* izolasyonu gerçekleştirilmeye çalışılmıştır. *S. aureus* izolasyonu gerçekleştirilirken örneklerin önce zenginleştirilme işlemine alınması izolasyon şansını daha da arttırdığı gözlenmiştir. Bu nedenden dolayı örnekler Brain Heart Infusion Broth besiyerinde bir gece inoküle edilerek zenginleştirme işlemi sağlanmıştır.

Sonuç olarak;

1. İncelenen toplam 65 et ve et ürünleri örnekleri, S3 örneği dışındaki 16 süt örneği, P4 örneği dışında 16 peynir örneği, D16 örneği dışında 17 dondurma örneği toplam mezofilik bakteri yoğunluğu açısından Türk Gıda Kodeksinin belirlediği kriterlere uygun bulunmuştur. Toplam incelenen 135 örneğin %22,2'de *S. aureus* izole edilmiştir.
2. İzolasyon aşamasından sonra gerçekleştirilen identifikasyon çalışmalarında geleneksel biyokimyasal testlerin ve Vitek analizi ile yapılan identifikasyon testleri kıyaslandığında Vitek sisteminin daha çabuk ve kısa sürede sonuç verdiği, daha güvenilir olduğu ve iş gücünü azalttığı tespit edilmiştir.
3. Antibiyotiklere duyarlılık testinde ise oksasiline dirençlilik %30,64 olarak bulunmuştur. Oksasiline (methisilin) dirençlilik gösteren strainlerin iki tanesi boğaz kültüründen elde edilirken diğer izolatlar et ve süt örneklerinden elde edilmiştir. Bu nedenle bu gıda ürünleri oksasiline dirençli bakteri *S. aureus* açısından risklidir. En yüksek oranda dirençlilik gösterilen antibiyotik ise amoksisilin klavunalik asit (%79,03) olarak belirlenmiştir. En az dirençlilik ise vankomisine (%9,67) karşı gösterilmiştir.
4. İzolatların enterotoksin üretimine bakıldığında izolatların çoğunun (% 87) enterotoksin üretmediği görülmüştür. İzolatlar arasında sadece 3'ü D enterotoksini, 4'ü A enterotoksini ve 1'i C+D enterotoksini ürettiği tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre süt ürünleri enterotoksin üreten *S. aureus* varlığı açısından riskli gıdalardır.
5. Boğaz kültüründen izole edilen enterotoksin üreten *S. aureus* strainlerinin varlığı gıda elleyicisinden gıdalara bulaşma olasılığını göstermektedir.

6. Bu çalışmada yağ asitlerinin *S. aureus* identifikasyonunda kullanılabilmesi için biyokimyasal ve Vitek testleri ile doğrulama gerekliliği doğmuştur. Çalışmanın sonucunda gelecek çalışmalarda veri tabanı olarak kullanılacak bir *S. aureus* yağ asitleri kütüphanesi oluşturulmuştur.
7. PFGE analiz yöntemi el becerisi gerektirmektedir ancak, aynı gıda örneklerinde farklı pulsotiplerin (örneğin, E16c straini E16a, E16b strainlerinden farklı bir pulsotiptir) belirlenmesi, yöntemin ayırdedici gücünü göstermektedir.
8. Ribotiplendirmede de benzer şekilde aynı ortamdan izole edildiği halde strainler farklı ribogruplar oluşturmuştur (örneğin 10b, ikinci ribogrupta yer alırken, 7c üçüncü ribogrupta yer almıştır.). Hatta farklı kasaplardan izole edilen strainler (E16b,E27a, E17a,E25b, dördüncü ribogrup içerisinde yer almıştır.) aynı ribogruplarda, buna karşın aynı ortamdan izole edilen strainlerin (örneğin 10b, 17a, 16a, 16b, 7c, 3A, 4A) farklı ribogruplarda belirlenmesi de yöntemin ayırdedici gücünü göstermektedir.
9. Ribogruplar ile PFGE analizi sonuc oluşan pulsotipler birebir örtüşmese de alternatif bir genotipik yöntem olarak tercih edilebilir.

Öneriler:

Gıdalarda TGK'nin toplam mezofil bakteri sayısı ile ilgili kriterlerin üzerinde değerler bulunması işletmelerin hijyen kriterlerine önem vermediklerini göstermektedir. Böyle gıdaların tüketilmesi insan sağlığı açısından bir risk oluşturabilir. Bu sebepten dolayı işletmelerin, gıdaların elde edilmesi ve son ürüne gelene kadar ki süreçte hijyen ve sanitasyon kurallarına uymaları gerekmektedir. Bu sorun için alınması gereken önlemler arasında işletmelerin modern aletlerle donatılması, çalışan personelin eğitime tabi tutulması, çeşitli koruyucu kıyafetlerin kullanılması sıralanabilir.

Bu çalışmada kullanılan biyokimyasal identifikasyon, Vitek testi, antibiyogram duyarlılık testi, SET-RPLA ile enterotoksin testi, laboratuvar alışmaları için ekip çalışması gerektirmemesi, daha ucuz olması, sonuç vermesi bakımından tercih edilmektedir. Fakat moleküler yöntemlerle kıyaslandığında güvenilirlikleri az olan yöntemlerdir

PFGE ve ribotiplendirme pahalı olmaları, ve PFGE'nin el becerisi, ribotiplendirmenin ise kit gerektirmesi yönünden dezavantajlı olmasına karşın, bu yöntemlerin, özellikle gıda zehirlenmelerinin yaşandığı epidemiyolojik vak'alardan izole edilen ya da hastane enfeksiyonlarına yol açan *S. aureus* kökenlerinin belirlenmesinde strain seviyesinde identifikasyon (tiplendirme) için en güvenilir yöntemler olması nedeniyle merkezi laboratuvarlarda kullanılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Acco, M., Ferreira, F.S., Henriques, J.A.P. ve Tondo, E.C. (2003), *Identification of multiple strains of Staphylococcus aureus colonizing nasal mucosa of food handlers*, Food Microbiology, **20**, 489-493.
- Adesiyun, A.A., Lenz, W. ve Schaal, K.P. (1992), *Phage Susceptibility and Enterotoxin Production by Staphylococcus aureus Strains Isolated from Nigerian Foods*, Journal of Food Protection, **55**, 871-873.
- Atanassova, V., Meindly, A. ve Ring, C. (2001), *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.
- Avkan, V. (1997), *Staphylococcus aureus Prevelansı ve Methicillin Direnci*, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı, Şişli Etfal Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, İstanbul.
- Belkum, A., Bax, R., Peerbooms, P., Goessens, W.H.F., Leeuwen, N. ve Quint, G.V. (1993), *Comparison of Phage Typing and DNA Fingerprinting by Polmerase Chain Reaction for Discrimination of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus Strains*, Journal of Clinical Microbiology, **31 (4)**, 798-803.
- Berber, I., Cokmus, C. ve Atalan, E. (2003), *Characterization of Staphylococcus species by SDS-P AGE of whole-cell and extracellu/ar proteins*, Microbiolgy, **72(1)**, 54-59.
- Boone, D.R., Castenholz, R.W. (2001), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* – 2nd Ed. – New York, Springer.
- Brock, T.D., ve Madigan, M.T. (2006), *Biology of Microorganisms*, 11. Edition, Pearsen Prentice Hall, New Jersey, A.B.D.
- Capita, R., Calleja, C.A., Garcia-Fernandez, M.C. ve Moreno, B. (2002), *Characterization of Staphlococcus aureus Isolated from Poultry Meat in Spain*, Poultly Science, **81**, 414-421.

- Chen, T., Hsiao, M., Chiou, C. ve Tsen, H. (2001), *Development and Use of PCR Primers for the Investigation of C1, C2 ve C3 Enterotoxin Types of Staphylococcus aureus Strains Isolated from Food-Borne Outbreaks*, International Journal of Food Microbiology, **71**, 63-70.
- Cremonesi, P., Luzzana, M., Baccata, M., Morandi, S., Lodi, R., Vimercati, C., Agnellini, D., Caramenti, G., Moroni, P. ve Castiglioni, B. (2005), *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.
- Demiroglu, S. (2000), *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.
- Duijkeren, E., Box, A.T.A., Heck, M.E.O.C., Wannet, W.J.B. ve Fluit, A.C. (2004), *Methicillin- Resistant Staphylococci Isolated from Animals*, Veterinary Microbiology, **103**, 91-97.
- Fueyo, J.M., Martin, M.C., Gonzales-Hevia, M.A. ve Mendoza, M.C. (2001), *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.
- Guidry, A., Fattom, A., Patel, A. ve O'Brein, C. (1997), *Prevalence of Capsular Serotypes Among Staphylococcus aureus Isolated from Cows with Mastitis in the United States*, Veterinary Microbiology, **59**, 53-58.
- Gülbandılar, A. (2006), *Kütahya Yöresinde Çeşitli Kaynaklardan Elde Edilen Staphylococcus aureus İzolatlarının Karakterizasyonu*, Doktora Tezi, Anadolu Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Eskişehir.
- Gündoğan, N., Çitak, S. ve Turan, E. (2005), *Slime production, Dnase Activity and Antibiotic Resistance of Staphylococcus aureus Isolated from Raw Milk, Pasteurised Milk and Ice Cream Samples*, Food Control.

- Gündoğan, N., Çitak, S., Yucel, N. ve Devren, A. (2005), *A note on the Incidence and Antibiotic Resistance of Staphylococcus aureus Isolated from Meat and Chicken Samples*, Meat Science, **69**,807-810.
- Güzel, İ.A. (1998), *Tavuk Etlerinin, Kesim İşleminin Değişik Aşamalarında Staphylococcus aureus ile Kontaminasyon Derecesinin Belirlenmesi*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Hacıbektaşoğlu, A., Eyigün, C. P. ve Özsoy, M.F. (1993), "*Gıda Elleyicileri "nde Burun ve Boğaz Portörlüğü*", Mikrobiyoloji Bülteni, **27**, 62-70.
- Hennekinne, J.A., Kerouanton, A., Brisabois, A. ve Buyser De, M.L.(2003), *Discrimination of Staphylococcus aureus Biotypes by Pulsed-Field Gel Electrophoresis of DNA Macro-restriction Fragments*, Journal of Applied Microbiology, **94**, 321-329.
- Hsiao, M., Chen, T. ve Tsen, H. (2003), *Novel PCR Primers for Specific Detection of C1, C2 ve C3 Enterotoxin Genes in Staphylococcus aureus*, Journal of Food and Drug Analysis, **11 (4)**, 338-343.
- Kampf, G., Lecke, C., Cimbali, A.K., Weist, K. ve Rüdén, H. (1998), *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.
- Kondoh, K., Furuya, D., Yagihashi, A.ve Uehata, N., Nakamura, M., Kobayashi, D., Tsuji, N. Ve Watanabe, N. (2002), *Comparison Of Arbitrarily Primed-Polymerase Chain Reaction and Pulse- Field Gel Electrophoresis for Characterizing Methicilin- Resistant Staphylococcus aureus*, Letters in Applied Microbiology, **35**, 62- 67.
- Larsen, H.D., Huda, A., Eriksen, N.H.R. ve Jensen, N.E. (2000), *Differences Between Danish Bovine and Human Staphylococcus aureus Isolated in Possession of Superantigens*, Veterinary Microbiology, **76**,53-162.
- Livermore, D.M. (2000), *Antibiotic Resistance in Staphylococci*, International Journal of Antimicrobial Agents, **16**,3-10.
- Matushek, N. G., Bonten, J. M. ve Hayden, M. K. (1996), *Rapid Preparation of Bacterial DNA for Pulsed- Field Gel Electrophoresis*, Journal of Clinical Microbiology, **34(10)**, 2598- 2600.

- Mork, T., Tollersmd, T., Kvitle, B., Jorgensen, H.J. ve Waage, S. (2005), *Genetic Diversity of Staphylococcus aureus Isolated from Ovine Intramammary Infections in Norway*, Veterinary Microbiology, **106**, 265-273.
- Nishijima, S. ve Nakagawa, M. (1997), *Sensitivity of Antibacterials of Staphylococcus aureus Isolated from Impetigo Patients*, The Journal of International Medical Research, **25**, 210-213.
- Nishijima, S., Nakagawa, M., Tsuboi, N., Akamatsu, H., Horio, T., Fujita, M. ve Kawabata, S. (1996), *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.
- Nishijima, S., Namura, S., Nakagawa, M., Kurokawa, I. ve Kawabata. S. (1997), *Sensitivity to Antibacterials of Staphylococcus aureus Isolated from Different Types of Skin Infeksiyons*, The Journal of International Medical Research, **25**,1-7.
- Normanno, G., Firinu, A., Virgilio, S., Mula, G., Dambrosio, A., Poggiu, A., Decastelli, L., Miorn, 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. (2005), *Coagülase-Positive resistant resistant Staphylococci and Staphylococcus aureus in Food Products Marketed in Italy*. International Journal of Food Microbiolgy, **98**, 73-79.
- Pinto, B., Chenoll, E. ve Aznar, R. (2005), *Identification and Typing of Food Borne Staphylococcus aureus by PCR- Based Tecniques*, Systematic and Applied Microbiology, **28**,340-352.
- Prasanna, M. ve Thomas, C. (1998), *A Profile of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus Infection in the Burn Center of the Sultanate of Oman*, Burns, **24**, 631-636.
- Rodriguez-Calleja, J. M., Lopez, I. G., Santos, J. A., Otero, A. ve Lopez, M.L.G. (2006), *Molecular and Phenotypic Typing of Staphylococcus aureus Isolated from Rabbit Meat*, Research in Microbiology, **157**, 496-502.

- Ruzickova, V., Pantucek, R., Petras, J., Doskar, J., Sedlacek, I., ve Rosypal, S. (2003), *Moleculer Typing of Exfoliative Toxin Producing Staphylococcus aureus Strains Involved in Epidermalitic Infections*, International Journal Medical Microbiology, **292**, 541-545.
- Saçılık, S.C., Osmanağaoğlu, Ö., Gündüz, U. ve Çökmüş, C. (2000), *Availibility of Use of Total Extracellular Proteins in SDS-PAGE for Characterization of Gram Positive Cocci*, Turk Journal Biol, **24**, 817-823.
- Saçılık, S.C., Osmanoğlu, Ö., Kısa, Ö., Başustaoğlu, A. ve Çökmüş, C.(2000), *Protein Profiles and Prevalence of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in Gülhane Military Academy Hospital in Turkey*, Turk Journal Biol., **24**, 809-816.
- Sağun, E., Alişarlı, M. ve Durmaz, H. (2003), *Farklı Sıcaklıklarda Muhafazanın Çiğ Köftede Staphylococcus aureus'un Gelişimi ve Enterrotoksin Üretimi Üzerine Etkisi*, Turk Journal Veteriner Animal Scientis, **27**, 839-845.
- Sandel, M.K. ve McKillip, J.L. (2004), *Virulence and Recovery of Staphylococcus aureus Relevant to the Food Industry Using Improvements on Traditional Approaches*, Food Control, **15**, 5-10.
- Schlichting, C., Branger, C., Fournier, J.M., Witte, W., Boutonnier, A., Wolz, C., Goulet, P. ve Döring, G. (1993), *Typing of Staphylococcus aureus by Pulsed-Field Gel Electrophoresis-mototyping, and Phage Typing: Resolution of Clonal Relationships*, Journal of Clinical Microbiology, **Feb**, 227-232.
- Selander R.K., Caugant, D.A., Ochman, H., Musser, J.M., Gilmour, M.N. ve Whittam, T.S. (1986), *Methods of Multifocus Enzyme Electrophoresis for bacterial Population Genetics and Systematics*, Applied and Environmental Microbiology, **51(5)**, 873-884.
- Shale, K., Lues, J.F.R., Venter, P. ve Buys, E.M. (2005), *The Distribution of Staphylococcus sp. on Bovine Meat from Abattoir Deboning Rooms*, Food Microbiology, **22**, 433-438.

- Shimizu, A., Fujita, M., Igarashi, H., Takagi, M., Nagase, N., Sasaki, A. ve Kawano, J. (2000), *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 Microbiolgy, **38(10)**, 3746-3749.
- Staphylococcus aureus* <http://www.food-info.net/tr/bact/staur.htm>
- Stoakes, L., John, M.A., Lanmngan, R., Schieven, RC., Ramos, M., Harley, D. ve Hussain, Z. (1994), *Gas-liquid Chromatografy of Cel/ular Fatty Acids for Identifcation of Staphylococci*, Journal of Clinical Microbiology, **Aug**, 1908-1910.
- Temizkan, G. ve Arda, N. (2002), *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler*, Nobel Tıp Kitabevleri, Genişletilmiş 2. Baskı.
- Tenover, F.C., Arbeit, R., Archer, G. ve ark., (1994), *Comparison of Traditional and Molecular Methods of Typing Isolates of Staphylococcus aureus*, Journal of Clinical Microbiology, **Feb.**, 407-414.
- Tondo, E.C., Guimaraes, M.C.M., Henriques, J.A.P. ve Ayub, M.A.Z. (2000), *Assessing and Analysing Contamination of a Dairy Products Processing Plant by Staphylococcus aureus Using Antibiotic Resistance and PFGE*. Can. J. Microbiol., **46**, 1108-1113.
- Tunail, N. (2000), *"Mikrobiyal enfeksiyonlar ve intoksikasyonlar"*, *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, (Ed. Tunail, N.), Ankara Üniv. Ziraat Fak. Gıda Müh. Bölümü Yayını, Sim Matbaacılık, Ankara, 82-88.
- Tükel, Ç. ve Doğan, H.B. (2000), *"Staphylococcus aureus"*, *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, (Ed. Tunail, N.), Ankara Üniv. Ziraat Fak. Gıda Müh. Bölümü Yayını, Sim Matbaacılık, Ankara, 357-365.
- Tükel, Ç. ve Doğan, H.B. (1999), *"Staphylococcus aureus Aranması"* *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, Ankara Üniv. Ziraat Fak. Gıda Müh. Bölümü Yayını, Sim Matbaacılık, Ankara, 233-238.
- Ünlütürk, A., ve Turantaş, F. (1998), *Gıda Mikrobiyolojisi*, Pınar Yayınları, İzmir.

- Vanderlinde, P.B., Fegan, N., Mills, L. ve Desmarcheiler, P.M. (1999), *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.
- Villard, L., Lamprell, H., Maurin, F., Noel, Y., Beuvier, E., Chamba, J.F. ve Kodjo, A. (2005), *Enterotoxin D Producing Strains of Staphylococcus aureus are Typeable by Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE)*, Food Microbiolgy, **22**, 261-265.
- Vural, H. ve Öztan, A. (1993), *Effects of Starter Culteres on Growth of Staphylococcus aureus in Fermented Meat Products*, Gıda, **18(4)**, 259-263.
- Wang, J., Huang, T., Chang, Y., ve Shih, D.Y. (2003), *Subtyping of Enterotoxin C Strains Isolated from Food Poisoning Outbreak in Taiwan*, Journal of Food and Drug Analysis, **11(3)**, 239-245.
- Zuccarelli, A. J., Roy, I., Harding, G.P. ve Couperus, J.J. (1990), *Diversity and Stability of Restriction Enzyme Profiles of Plazmid DNA from Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*, Journal of Clinical Microbiology, **28(1)**, 97-102.

EK-1. Biyokimyasal Test Sonuçları

İzolatlar	Katalaz	Koagülaz	Dnaz	Jelatinaz	Lesitinaz	mamitolun anaerobik fermantasyonu	glükozun anaerobik fermantasyonu	Rafinoz	Ksiloz	Arabinoz	Dekstroz	Mannitol	Sükroz	Trehaloz
BG2A	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
BG2B	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
BG2C	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
BG2D	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
BUT1A	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
BUT1B1	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
CG2A	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
SOSİS1A	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
BRG1B1	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
KŞ1A	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
KŞ1B	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
KŞ1C	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
TV1A1	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
Ggl a	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
3A	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
4A	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
16a	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
16b	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
17a	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
7c	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
10b	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
P5a	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E16a	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E16b	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E16c	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E17a	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E17b	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E17c	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E21a	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E21b	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E21c	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E25a	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E25b	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E27a	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E27b	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E27c	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E29a	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E29b	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E29c	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E29d	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E33a	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E33b	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E33c	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E46b2	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E34a	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+

EK-1. (Devam) Biyokimyasal Test Sonuçları

E34b	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E34c	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E34d	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E48a	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E48b	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E49a	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E49b	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E49c	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E50a	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E50b	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E50c	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E53a	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E53b	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E54a	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E54b	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E54c	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
NRRL B 767	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+

EK-2. *S. aureus* İzolatlarının VİTEK Otomatik Sistemi İle Analiz Sonuçları

İZOLATLAR	PEPTON BAZ	HEMİSELLİLOZ	%6 SODYUM KLORİT	%10 SAFRA	%40 SAFRA	ESKULİN	ARJİNİN	ÜRE	TETRAZOLYUM	DEKSTROZ	LAKTOZ	MANNİTOL	RAFİNOZ	SALİSİN	SORBİTOL	SUKROZ	TREHALOZ	ARABİNOZ	PÜRUVAT	PULLULAN	İNULİN	MELLİBİYOZ	MELESİTOZ	SELLOBİYOZ	RİBOZ	KSİLOZ	KATALAZ	BETA HEMOLİZ	BAC	OPT	NOV	
BG2A	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	
BG2B	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
BG2C	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
BG2D	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
BUT1A	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
BUT1B1	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
CG2A	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
SOSİS1A	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
BRG1B1	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
KŞ1A	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
KŞ1B	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
KŞ1C	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
TV1A1	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
Gg1a	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-
3A	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
4A	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
16a	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
16b	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
17a	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
7c	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
10b	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
P5a	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
E16a	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-

EK-2. (Devam) *S. aureus* İzolatlarının VİTEK Otomatik Sistemi İle Analiz Sonuçları

İZOLATLAR	PEPTON BAZ	HEMİSELLİLOZ	%6 SODYUM KLORİT	%10 SAFRA	%40 SAFRA	ESKULİN	ARJİNİN	ÜRE	TETRAZOLYUM	DEKSTROZ	LAKTOZ	MANNİTOL	RAFİNOZ	SALİSİN	SORBİTOL	SUKROZ	TREHALOZ	ARABİNOZ	PÜRUVAT	PULLULAN	İNULİN	MELLİBİYOZ	MELESİTOZ	SELLOBİYOZ	RİBOZ	KSİLOZ	KATALAZ	BETA HEMOLİZ	BAC	OPT	NOV
E16b	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
E16c	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E17a	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E17b	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E17c	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E21a	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E21b	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E21c	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E25a	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
E25b	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E27a	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
E27b	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E27c	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
E29a	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E29b	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
E29c	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
E29d	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
E33a	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
E33b	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
E33c	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E46b2	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E34a	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E34b	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-

EK-2. (Devam) *S. aureus* İzolatlarının VİTEK Otomatik Sistemi İle Analiz Sonuçları

İZOLATLAR	PEPTON BAZ	HEMİSELLİLOZ	%6 SODYUM KLORİT	%10 SAFRA	%40 SAFRA	ESKULİN	ARJİNİN	ÜRE	TETRAZOLYUM	DEKSTROZ	LAKTOZ	MANNİTOL	RAFİNOZ	SALİSİN	SORBİTOL	SUKROZ	TREHALOZ	ARABİNOZ	PÜRUVAT	PULLULAN	İNULİN	MELLİBİYOZ	MELESİTOZ	SELLOBİYOZ	RİBOZ	KSİLOZ	KATALAZ	BETA HEMOLİZ	BAC	OPT	NOV
E34c	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E34d	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E48a	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E48b	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E49a	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E49b	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E49c	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E50a	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E50b	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E50c	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E53a	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E53b	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E54a	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E54b	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E54c	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
NRRL B 767	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-

EK-3. *S. aureus* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Testleri

İZOLATLAR	Ciproflaxacin			Gentamicin			Vancomycin			Oxacilin			Amoxicilin- klavulanik asit			Ofloxacin			Azithromycin			Rifampin			Lincomisin			Netilmisin			Trimethoprim- Suphmethoxaz ole			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	D	ODD	R			
BG2A	1				1			1				1	1				1	1			1			1								1			1	1						
BG2B		1				1			1		1				1	1				1	1			1							1				1	1						
BG2C	1			1			1			1				1		1		1			1			1		1				1				1			1	1				
BG2D	1			1			1				1			1	1			1			1			1			1				1				1	1						
BUT1A			1	1			1			1				1		1		1	1			1			1			1			1	1				1	1					
BUT1B1			1	1			1			1				1			1			1			1	1			1	1			1					1	1					
CG2A			1	1			1		1			1			1				1			1			1			1			1				1			1	1			
SOSIS1A	1			1			1			1			1			1			1			1			1			1			1				1			1	1			
BRG1B1	1			1			1			1				1			1		1		1			1		1			1			1				1			1	1		
KŞ1A	1			1			1			1			1	1					1		1			1		1		1		1			1				1	1				
KŞ1B	1			1				1			1			1	1				1		1			1		1		1			1				1			1	1			
KŞ1C	1			1			1			1				1	1			1			1			1		1		1			1	1				1			1	1		
TV1A1	1			1			1			1				1	1			1			1			1		1		1			1	1				1			1	1		
Gg1a	1			1			1			1		1			1			1			1			1		1		1			1				1			1	1			
3A			1	1			1			1			1		1	1		1			1			1		1		1		1			1				1	1				
4A	1			1			1		1			1			1	1			1			1			1			1			1			1	1			1	1			
16a	1			1			1			1			1	1				1	1			1	1			1			1				1				1	1				
16b	1			1			1			1			1			1			1			1			1			1	1					1				1	1			

EK-3.(Devam) *S. aureus* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Testleri

İZOLATLAR	Ciproflaxacin			Gentamicin			Vancomycin			Oxacilin			Amoxicilin- klavulanik asit			Ofloxacin			Azithromycin			Rifampin			Lincomisin			Netilmisin			Trimethoprim- Suphmethoxaz ole			Bacitracin			Optochin			Novobiyocin				
	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	D	ODD	R					
17a	1					1		1				1		1				1					1					1						1		1								
7c			1	1				1			1	1			1				1	1				1				1						1		1								
10b	1			1				1			1		1	1			1					1		1		1					1				1		1							
P5a	1			1				1		1			1	1				1	1					1	1				1	1						1	1							
E16a	1					1		1		1			1	1			1		1				1		1		1	1							1		1							
E16b	1			1			1		1			1			1			1		1			1		1		1		1							1		1						
E16c	1				1		1		1				1	1					1	1				1	1			1						1			1		1					
E17a	1			1				1				1		1	1				1		1			1		1			1						1		1		1					
E17b	1					1		1				1			1			1	1				1	1		1			1							1		1		1				
E17c	1			1				1		1			1	1					1		1			1		1		1								1		1		1				
E21a		1		1				1				1					1	1				1		1		1			1							1		1		1				
E21b			1	1				1				1					1	1				1		1		1			1							1		1		1				
E21c			1	1				1				1					1	1				1		1		1			1							1		1		1				
E25a	1					1		1		1				1			1			1			1		1		1			1						1		1		1				
E25b			1			1		1				1		1			1		1	1				1		1			1						1		1		1		1			
E27a	1					1		1		1				1		1			1		1			1		1			1								1		1		1			
E27b	1				1				1		1			1		1				1	1				1	1		1		1							1		1		1			
E27c		1		1				1		1				1			1				1	1				1			1	1								1		1		1		

EK-3.(Devam) *S. aureus* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Testleri

İZOLATLAR	Ciproflaxacin			Gentamicin			Vancomycin			Oxacilin			Amoxicilin-klavulanik asit			Ofloxacin			Azithromycin			Rifampin			Lincomisin			Netilmisin			Trimethoprim-Suphmethoxazole			Bacitracin			Optochin			Novobiyocin		
	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	D	ODD	R			
E29a	1			1			1			1			1			1			1			1			1			1			1			1			1					
E29b	1			1			1			1			1	1			1			1			1	1		1			1			1			1			1				
E29c	1			1			1			1			1	1			1	1		1			1		1			1			1			1			1					
E29d	1			1			1			1			1	1			1			1			1		1			1			1			1			1					
E33a	1			1			1			1			1	1			1	1		1			1			1			1			1			1			1				
E33b		1			1	1				1			1			1			1			1		1			1	1		1			1			1			1			
E33c	1				1		1			1			1			1			1	1		1			1		1			1			1			1			1			
E46b2	1				1		1			1			1	1			1			1	1		1	1			1	1			1			1			1					
E34a	1			1				1	1				1	1			1	1		1			1			1			1			1			1			1				
E34b	1				1	1				1			1	1			1	1		1	1			1		1			1			1			1			1				
E34c	1			1			1			1			1	1			1			1			1		1			1			1			1			1					
E34d	1			1			1			1			1	1			1			1			1			1		1			1			1			1					
E48a	1				1		1			1			1	1			1			1			1			1	1		1			1			1			1				
E48b	1				1	1				1			1	1			1			1	1			1			1	1			1			1			1					
E49a	1			1			1			1			1	1			1			1	1			1	1			1			1			1			1					

EK-3.(Devam) *S. aureus* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Testleri

İZOLATLAR	Ciproflaxacin			Gentamicin			Vancomycin			Oxacilin			Amoxicilin- klavulanik asit			Ofloxacin			Azithromycin			Rifampin			Lincomisin			Netilmisin			Trimethoprim- Sulphamethoxazole			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	D	ODD	R			
E49b	1			1				1		1			1			1		1	1			1			1	1					1			1	1							
E49c	1				1	1			1				1	1			1		1			1		1		1				1			1			1	1					
E50a	1				1		1				1	1			1			1			1			1		1				1			1			1	1					
E50b		1		1			1				1	1			1			1			1		1			1			1			1			1	1						
E50c	1			1			1			1				1			1	1			1		1			1			1			1			1	1						
E53a	1			1			1				1		1	1			1			1			1		1			1			1			1			1	1				
E53b	1				1			1			1		1	1			1			1			1		1			1			1			1			1	1				
E54a	1				1		1		1				1			1		1	1				1		1			1			1			1			1	1				
E54b	1				1		1		1				1	1			1		1	1			1		1			1			1			1			1	1				
E54c	1			1			1			1			1			1		1			1			1		1			1			1			1			1	1			
NRRL B 767	1			1			1			1			1			1		1			1			1		1			1			1			1			1	1			

EK-4 Yağ Asitleri Metil Esterleri (FAME) Analiz Sonuçları

Yağ asidi çeşitleri	Kş1a	Kş1b	Kş1c	Bg2a	Bg2b	Bg2c	Bg2d
13:0 ISO							
13:0 ANTEISO			0,19		0,13		0,17
14:0 ISO	0,81	3,88	0,39	0,90	0,85	0,88	0,90
14:0	0,48	1,97	0,62	0,64	0,67	0,89	0,84
15 ISO	4,74	4,01	3,39	6,49	5,29	5,44	5,39
15:ANTEISO	58,02	54,82	43,39	54,07	47,17	48,20	49,61
16:0 ISO	0,99	1,90	0,46	1,28	1,23	1,16	1,22
SUM IN FEATURE 3			0,26		0,24	0,26	
16:0	3,46	5,93	5,16	3,60	5,21	5,16	4,89
17:0 ISO	1,76		1,48	2,50	2,35	2,35	2,26
17:ANTEISO	12,81	3,72	10,47	12,13	11,98	12,13	11,89
17:0				0,23	0,24	0,33	0,26
18:0 ISO			0,15	0,29	0,30	0,30	0,26
SUM IN FEATURE 5	4,75	5,75	7,80	6,06	5,90	5,27	5,15
18:1W9C	3,79	5,83	7,24	3,47	5,83	5,38	5,52
18:1 W7C	0,77	1,28	1,47	0,55	1,12	1,06	1,05
18:0	3,24	5,24	6,98	2,95	5,13	4,93	4,54
19: ISO			0,36	0,33	0,38	0,39	0,33
19:0 ANTEISO	1,03		1,49	0,83	0,97	1,11	1,01
19:0					0,96		
20:4W6,9,12,15C	0,98		1,00	0,89		1,16	1,21
18:03OH							
20:2W6,9C	2,36	2,45	3,98	2,34	2,20	1,82	1,82
20:1W9C		1,54	2,36		1,14	0,97	1,05
20:0		1,69	1,36	0,45	0,70	0,79	0,62
SUMMED FEATURE 3			0,26		0,24	0,26	
SUMMED FEATURE 5	4,75	5,75	7,80	6,06	5,90	5,27	5,15

EK-4 (Devam) Yağ Asitleri Metil Esterleri (FAME) Analiz Sonuçları

Yağ asidi çeşitleri	But1a	But1b1	Cg2a	Tv1a1	E16a	E16b	E16c
13:0 ISO							
13:0 ANTEISO					0,16		
14:0 ISO	0,74	0,41	0,75	0,44	0,80	0,57	0,50
14:0	0,66	0,28	0,37	0,48	0,88	0,79	0,62
15 ISO	4,94	7,17	6,57	4,21	6,09	5,07	5,20
15:ANTEISO	55,24	48,23	41,27	52,18	49,17	51,27	47,83
16:0 ISO	0,87	0,97	1,72	0,56	1,02	0,75	0,77
SUM IN FEATURE 3	0,19	0,25		0,21	0,28	0,28	0,20
16:0	4,17	4,66	4,90	3,71	5,46	5,38	3,98
17:0 ISO	1,62	3,61	4,25	1,67	2,17	2,10	2,64
17:ANTEISO	10,73	14,89	14,80	12,30	9,76	12,22	13,59
17:0		0,23		0,16			0,29
18:0 ISO	0,17		0,52				0,16
SUM IN FEATURE 5	6,17	7,41	6,49	6,91	5,42	4,89	6,53
18:1W9C	5,03	3,49	3,44	4,84	6,99	6,38	4,96
18:1 W7C	1,05	0,49	0,44	1,09	1,28	1,15	0,84
18:0	3,29	4,24	6,91	4,04	4,18	4,12	4,44
19: ISO	0,20	0,36	0,78	0,29	0,30		0,39
19:0 ANTEISO	0,71	0,72	1,20	1,12	0,67	0,90	1,18
19:0			0,57				0,38
20:4W6,9,12,15C	0,98	1,00	0,81	1,11	1,19	1,11	0,85
18:03OH					0,32		
20:2W6,9C	1,95	0,61		2,88	1,99	1,15	2,64
20:1W9C	0,83	0,34	0,99	1,11	1,26	0,92	0,84
20:0	0,46	0,64	3,21	0,67	0,60	0,55	1,19
SUMMED FEATURE 3	0,19	0,25		0,21	0,28	0,28	0,20
SUMMED FEATURE 5	6,17	7,41	6,49	6,91	5,42	4,89	6,53

EK-4 (Devam) Yağ Asitleri Metil Esterleri (FAME) Analiz Sonuçları

Yağ asidi çeşitleri	E17a	E17b	E17c	E21a	E21b	E21c	E25a
13:0 ISO	0,17		0,12	0,18			
13:0 ANTEISO	0,21		0,20	0,24			0,19
14:0 ISO	0,63	0,53	0,58	0,52			0,67
14:0	0,69	0,59	0,55	0,55		0,34	0,81
15 ISO	5,71	5,07	5,48	6,44	8,16	8,73	5,90
15:ANTEISO	57,60	53,10	55,17	52,34	46,87	47,96	57,70
16:0 ISO	0,75	0,85	0,82	0,72	4,10	1,64	0,75
SUM IN FEATURE 3	0,29	0,25	0,20	0,33			0,19
16:0	3,98	4,13	3,36	5,27	4,10	4,10	3,33
17:0 ISO	1,88	2,25	2,25	2,22	4,66	4,47	2,01
17:ANTEISO	11,19	13,48	13,33	10,87	17,35	16,45	10,72
17:0	0,17		0,19				
18:0 ISO			0,14				
SUM IN FEATURE 5	4,90	5,63	5,31	6,91	6,03	6,04	6,80
18:1W9C	4,28	4,69	3,85	5,63	2,90	2,79	3,83
18:1 W7C	0,86	0,94	0,84	1,02			0,66
18:0	2,70	3,58	3,17	3,34	4,33	4,03	2,42
19: ISO	0,22	0,38	0,27		0,74	0,49	
19:0 ANTEISO	0,64	0,88	0,88	0,47	1,16	0,88	0,68
19:0							
20:4W6,9,12,15C	1,10	0,83	0,76	0,69	0,98	0,99	0,87
18:03OH							
20:2W6,9C	1,13	1,72	1,53	1,92	0,51	0,88	2,11
20:1W9C	0,51	0,64	0,57				
20:0	0,38	0,46	0,43	0,35	1,22	0,79	0,37
SUMMED FEATURE 3	0,29	0,25	0,20	0,33			0,19
SUMMED FEATURE 5	4,90	5,63	5,31	6,91	6,03	6,04	6,80

EK-4 (Devam) Yağ Asitleri Metil Esterleri (FAME) Analiz Sonuçları

Yağ asidi çeşitleri	E25b	E27a	E27b	E27c	E29a	E29b	E29c
13:0 ISO	0,10						0,13
13:0 ANTEISO			0,10			0,20	0,21
14:0 ISO	0,53	0,88	0,65	0,72	0,51	0,55	0,71
14:0	0,53	0,65	0,55	0,54	0,49	0,72	0,76
15 ISO	4,90	5,31	4,55	5,05	5,01	4,79	5,51
15:ANTEISO	50,55	55,60	51,47	51,64	49,36	49,05	57,67
16:0 ISO	0,81	1,24	1,05	1,07	0,86	0,79	0,83
SUM IN FEATURE 3	0,21		0,15		0,17	0,24	0,21
16:0	3,79	3,24	3,70	3,89	3,70	4,54	3,57
17:0 ISO	2,44	2,26	2,18	2,53	2,60	2,27	1,77
17:ANTEISO	15,02	12,90	14,62	14,07	15,30	13,66	11,16
17:0	0,26	0,28	0,22		0,24	0,29	0,16
18:0 ISO	0,22	0,21	0,27		0,19		
SUM IN FEATURE 5	5,02	5,46	5,01	5,83	5,38	5,49	6,14
18:1W9C	4,64	3,34	4,45	4,71	4,67	5,71	3,88
18:1 W7C	1,03	0,58	0,99	0,80	0,93	1,11	0,84
18:0	4,24	2,94	4,11	3,74	4,52	4,37	2,65
19: ISO	0,36	0,32	0,36		0,38	0,36	
19:0 ANTEISO	1,15	1,00	1,18	1,06	1,27	1,12	0,65
19:0							
20:4W6,9,12,15C	1,18	0,78	0,80	0,88	0,75	1,19	0,86
18:03OH							
20:2W6,9C	1,73	2,57	2,08	2,04	2,16	2,05	1,94
20:1W9C	0,83		0,90	0,90	0,88	0,97	
20:0	0,56	0,46	0,61	0,53	0,61	0,54	0,35
SUMMED FEATURE 3	0,21		0,15		0,17	0,24	0,21
SUMMED FEATURE 5	5,02	5,46	5,01	5,83	5,38	5,49	6,14

EK-4 (Devam) Yağ Asitleri Metil Esterleri (FAME) Analiz Sonuçları

Yağ asidi çeşitleri	E29d	E33a	E33b	E33c	E34a	E34b	E34c
13:0 ISO						0,13	
13:0 ANTEISO						0,21	
14:0 ISO	0,49	0,65	0,42	0,57	0,70	0,53	0,53
14:0	0,67	0,46		0,44	0,66	0,68	0,56
15 ISO	5,28	4,59	7,27	4,34	5,49	4,71	4,50
15:ANTEISO	48,98	53,82	45,99	51,08	56,66	52,27	49,68
16:0 ISO	0,69	1,02	0,75	0,97	1,05	0,78	0,89
SUM IN FEATURE 3	0,22					0,29	
16:0	5,02	3,56	5,05	3,65	4,00	5,39	4,86
17:0 ISO	2,41	1,84	3,70	2,04	1,96	1,71	2,08
17:ANTEISO	12,39	13,70	15,45	14,08	12,17	11,96	14,58
17:0		0,23		0,15		0,18	
18:0 ISO				0,22		0,13	
SUM IN FEATURE 5	7,12	5,42	6,51	5,44	6,09	5,50	5,48
18:1W9C	6,13	4,62	3,24	4,90	3,60	5,90	5,43
18:1 W7C	0,94	0,98	0,58	1,01	0,58	1,06	1,01
18:0	3,95	3,76	6,08	4,38	2,80	3,80	4,79
19: ISO	0,33	0,30	0,57	0,33			0,32
19:0 ANTEISO	0,89	1,02	0,91	1,22	0,75	0,77	1,15
19:0							
20:4W6,9,12,15C	0,98	0,84	0,98	0,85	0,99	1,29	0,82
18:03OH							
20:2W6,9C	2,11	2,32	0,99	2,52	2,08	1,45	1,84
20:1W9C	0,88	0,89		1,13		0,76	0,91
20:0	0,51	0,59	1,53	0,68	0,42	0,48	0,61
SUMMED FEATURE 3	0,22					0,29	
SUMMED FEATURE 5	7,12	5,42	6,51	5,44	6,09	5,50	5,48

EK-4 (Devam) Yağ Asitleri Metil Esterleri (FAME) Analiz Sonuçları

Yağ asidi çeşitleri	E34d	E46b2	E48a	E48b	E49a	E49b	E49c
13:0 ISO				0,11			0,11
13:0 ANTEISO			0,15	0,14		0,16	
14:0 ISO	0,60	0,44	0,52	0,62	0,60	0,65	0,60
14:0	0,55	0,51	0,43	0,55	0,63	0,69	0,54
15 ISO	4,93	5,29	5,49	6,04	4,55	4,23	5,16
15:ANTEISO	56,72	50,13	50,87	53,81	51,07	51,59	49,30
16:0 ISO	0,88	0,73	0,83	0,82	0,94	0,88	1,15
SUM IN FEATURE 3	0,22		0,16	0,21	0,19	0,23	
16:0	3,92	3,88	3,78	3,70	4,11	4,94	4,15
17:0 ISO	1,71	2,67	2,47	2,37	1,97	1,61	2,56
17:ANTEISO	13,04	13,83	12,51	11,65	13,28	11,40	15,12
17:0	0,19		0,14	0,16	0,20	0,20	0,30
18:0 ISO			0,56		0,21		0,27
SUM IN FEATURE 5	4,89	6,34	5,15	5,11	5,07	5,30	5,75
18:1W9C	4,12	5,34		4,93	5,39	6,42	3,92
18:1 W7C	0,86	0,93	1,07	1,05	1,09	1,23	0,62
18:0	3,14	3,94	4,27	3,34	4,34	4,26	4,15
19: ISO		0,37	0,41	0,32	0,36	0,25	0,42
19:0 ANTEISO	0,77	1,08	1,06	0,78	1,07	0,89	1,36
19:0							0,23
20:4W6,9,12,15C	1,19	0,87	0,86	1,06	1,01	1,14	0,80
18:03OH							
20:2W6,9C	1,30	2,19	2,39	1,82	2,16	2,12	2,16
20:1W9C	0,51	0,94	1,25	0,95	1,12	1,19	0,61
20:0	0,44	0,50	0,62	0,47	0,63	0,62	0,71
SUMMED FEATURE 3	0,22		0,16	0,21	0,19	0,23	
SUMMED FEATURE 5	4,89	6,34	5,56	5,11	5,07	5,30	5,75

EK-4 (Devam) Yağ Asitleri Metil Esterleri (FAME) Analiz Sonuçları

Yağ asidi çeşitleri	E50a	E50b	E50c	E53a	E53b	E54a	E54b
13:0 ISO	0,30	0,21	0,26				
13:0 ANTEISO			0,12				
14:0 ISO	1,75	1,27	1,84	0,58	0,82	0,55	0,56
14:0	1,25	1,03	1,08	0,75	0,70	0,48	0,45
15 ISO	8,85	8,72	9,42	5,40	6,48	4,88	4,42
15:ANTEISO	47,24	45,17	48,96	50,16	52,08	47,43	49,88
16:0 ISO	1,39	1,45	1,58	0,79	1,13	0,99	1,01
SUM IN FEATURE 3	0,25		0,17				
16:0	4,91	3,85	3,97	4,40	4,31	4,84	3,71
17:0 ISO	2,61	3,63	2,78	2,49	2,52	2,45	2,29
17:ANTEISO	7,98	10,30	8,24	12,78	11,38	14,44	16,66
17:0	0,30	0,57	0,36	0,22	0,22	0,22	0,25
18:0 ISO	0,29	0,48	0,33				0,23
SUM IN FEATURE 5	5,04	5,16	5,22	6,57	5,40	6,29	4,79
18:1W9C	5,11	3,68	3,76	5,80	5,27	5,47	4,05
18:1 W7C	1,12	0,66	0,90	0,91	1,00	0,88	0,83
18:0	4,66	5,54	4,35	3,93	3,96	4,80	4,73
19: ISO	0,41	0,65	0,45		0,35	0,40	0,39
19:0 ANTEISO	0,63	1,11	0,68	0,94	0,75	1,21	1,48
19:0	0,29	0,57	0,35				0,24
20:4W6,9,12,15C	1,27	0,66	0,89	0,83	0,70	0,86	0,67
18:03OH							
20:2W6,9C	2,15	3,11	2,34	2,14	1,52	2,07	1,82
20:1W9C	1,28	0,95	0,95	0,86	0,88	1,07	0,78
20:0	0,90	1,22	0,99	0,43	0,52	0,67	0,75
SUMMED FEATURE 3	0,25		0,17				
SUMMED FEATURE 5	5,04	5,16	5,22	6,57	5,40	6,29	4,79

EK-4 (Devam) Yağ Asitleri Metil Esterleri (FAME) Analiz Sonuçları

Yağ asidi çeşitleri	E54c	P5a	17A	NRRL B 767	Sosis 1a	Brg1b	Gögüs1a
13:0 ISO					0,19	0,44	
13:0 ANTEISO			0,12		0,23		
14:0 ISO	0,57	0,93	0,40	0,42	1,20	7,32	0,93
14:0	0,55	0,31	0,57	0,34	0,72	4,15	0,62
15 ISO	4,91	8,17	4,46	5,86	6,65	4,84	5,36
15:ANTEISO	55,16	52,14	47,64	50,54	54,71	43,32	45,59
16:0 ISO	0,92	2,01	0,82	0,84	1,34	1,92	1,44
SUM IN FEATURE 3	0,18		0,22		0,27		0,23
16:0	4,08	3,10	4,59	4,16	4,22	9,47	5,26
17:0 ISO	1,86	4,11	2,30	3,25	1,99		2,44
17:ANTEISO	13,38	15,01	14,20	16,14	9,33	1,48	12,17
17:0		0,16	0,25	0,24		0,49	0,34
18:0 ISO		0,44	0,16		0,23		0,39
SUM IN FEATURE 5	5,60	3,39	6,49	3,82	5,77	4,02	5,78
18:1W9C	4,45	2,26	5,48	4,71	4,44	6,27	6,05
18:1 W7C	0,87	0,51	1,07	0,60	0,85	1,99	1,16
18:0	3,32	3,52	4,98	3,77	3,12	7,35	5,38
19: ISO		0,55	0,32	0,50	0,31		0,45
19:0 ANTEISO	0,78	1,01	1,05	1,45	0,70		1,13
19:0							
20:4W6,9,12,15C	0,87	0,80	0,82	0,85	0,86	0,76	0,93
18:03OH							
20:2W6,9C	1,49	0,61	2,44	1,30	1,61	1,83	2,30
20:1W9C	0,61	0,30	1,00	0,73	0,66	2,15	1,08
20:0	0,40	0,65	0,62	0,49	0,62	2,19	0,95
SUMMED FEATURE 3	0,18		0,22		0,27		0,23
SUMMED FEATURE 5	5,60	3,39	6,49	3,82	5,77	4,02	5,78

EK-4 (Devam) Yağ Asitleri Metil Esterleri (FAME) Analiz Sonuçları

Yağ asidi çeşitleri	3A	4A	10b	16a	16b	7c
13:0 ISO	0,14			0,29		
13:0 ANTEISO			0,22	0,30		
14:0 ISO	1,21	1,28	0,41	9,27	0,62	0,54
14:0	10,40	0,38	0,59	1,25		0,44
15 ISO	2,13	12,38	4,80	7,42	6,69	4,80
15: ANTEISO	44,21	48,71	45,59	53,26	61,35	49,81
16:0 ISO	2,28	2,31	0,70	2,65	0,97	0,84
SUM IN FEATURE 3	0,29		0,23			
16:0	4,21	3,02	4,51	5,60	2,78	4,80
17:0 ISO	5,98	6,18	2,61	1,36	3,12	2,37
17: ANTEISO	12,13	13,24	13,38	4,66	17,98	14,80
17:0	0,23		0,19	0,83		
18:0 ISO	0,47	0,48	0,18			
SUM IN FEATURE 5	4,16	2,57	7,40	1,71	2,35	6,35
18:1W9C	3,04	1,95	6,50	1,07	1,26	4,97
18:1 W7C	0,54	0,41	1,05			0,80
18:0	4,08	3,37	4,61	7,02	1,87	3,68
19: ISO	0,79	0,71	0,40			0,35
19:0 ANTEISO	0,94	0,96	1,13		0,99	1,15
19:0				0,70		
20:4W6,9,12,15C	1,15	0,90	0,73			1,10
18:03OH						
20:2W6,9C	0,50	0,50	2,92			1,92
20:1W9C	0,36		1,24			0,83
20:0	0,78		0,61	2,62		0,43
SUMMED FEATURE 3	0,29	0,63	0,23			
SUMMED FEATURE 5	4,16	2,57	7,40	1,71	2,35	6,35

EK-5. CLIN-50 Veri Tabanına Göre *S. aureus* İzolatlarının İsimlendirilmesi

İzolatlar	<i>Kocuria rosea</i>	<i>S. simulans</i>	<i>S. cohnii cohnii</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. circulans</i>	<i>S. xyloso</i>	<i>S. warneri</i>	<i>R. mucilaginos</i>	<i>S. cornosus</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>D. hominis</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>R. dentrocariosa</i>
BG2A	0,417				0,260								
BG2B	0,284			0,192									
BG2C	0,334			0,215									
BG2D	0,395												
BUT1A	0,437												
BUT1B 1	0,394		0,257										
CG2A				0,379			0,27 6			0,279			
SOSİS1 A	0,472				0,313								
BRG1B 1					0,138			0,193					
KŞ1A	0,499												
KŞ1B	0,154				0,212	0,134							
KŞ1C				0,118				0,115			0,107		
TV1A1	0,268												
Gg1a	0,241			0,218							0,155		0,187
3A	0,280	0,436	0,323	0,344		0,330							
4A		0,588	0,668									0,501	
16a					0,324								
16b	0,629	0,479							0,39 5				
17a	0,267			0,205									
7c	0,345												
10b	0,176			0,149							0,139		0,131
P5a	0,501	0,582	0,610									0,377	
E16a	0,319												
E16b	0,435												
E16c	0,241		0,161	0,221									
E17a	0,600												
E17b	0,458												
E17c	0,510												
E21a	0,436												
E21b	0,353	0,307	0,378	0,379						0,360			
E21c	0,402	0,324	0,411	0,333									
E25a	0,461												
E25b	0,380	0,262	0,238	0,244									
E27a	0,418												
E27b	0,375	0,251	0,227										
E27c	0,385												
E29a	0,330	0,233	0,229	0,280									
E29b	0,320			0,200									
E29c	0,503												
E29d	0,303												
E33a	0,394												
E33b	0,344	0,290	0,259	0,354						0,230			

