



**ÇİĞ VE PİŞMİŞ GIDALARDAN İZOLE EDİLEN PATOJEN
BAKTERİLERİN BAZI FİZİKSEL VE KİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Serdar COŞKUN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2020

Serdar COŞKUN tarafından hazırlanan “ÇİĞ VE PIŞMIŞ GIDALARDAN İZOLE EDİLEN PATOJEN BAKTERİLERİN BAZI FİZİKSEL VE KİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Biyoloji Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Neslihan GÜNDOĞAN

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Başkan: Prof. Dr. Nilüfer CİHANGİR

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye: Prof. Dr. Demet ÇETİN

Fen Bilgisi Eğitimi Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Tez Savunma Tarihi:/...../.....

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Serdar COŞKUN

..../...../2020

ÇİĞ VE PIŞMIŞ GIDALARDAN İZOLE EDİLEN PATOJEN BAKTERİLERİN BAZI FİZİKSEL VE KİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Serdar COŞKUN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
OCAK 2020

ÖZET

Bu araştırmada çiğ ve pişmiş gıdalardan izole edilen patojen bakterilerin hemolitik aktiviteleri, slime ve biyofilm üretimleri ile antibiyotiklere dirençlilikleri çalışılmıştır. Toplam 106 çiğ süt, peynir, tavuk döner ve çiğ tavuk örneğinden, 14 *Macroccoccus caseolyticus*, 10 *Staphylococcus aureus*, 9 *Hafnia alvei* ve 7 *Salmonella* spp. izolatı elde edilmiştir. İzolat'ların tanımlanmaları Matrix assisted laser desorption ionization time of flight (Maldi-tof mass spektrofotometre) ile yapılmıştır. Sheep Blood Agar ile hemolitik aktivite, Congo Red Agar yöntemi ile slime, Mikroplate yöntemi ile biyofilm aktivite araştırılmıştır. Araştırma sonuçlarımıza göre izolat'ların tamamında slime üretimi ve hemolitik aktivite, (%90)'nında ise orta ve kuvvetli biyofilm oluşumu gözlenmiştir. Bauer-Kirby disk difüzyon metoduna göre yapılan antibiyotik duyarlılık testinde *Salmonella* spp. (%57,1) ve *Hafnia alvei* (%45,5), izolat'larının ampisilin'e dirençli olduğu tespit edilmiştir. Yukarıda adı geçen Gram negatif bakteri izolatların tamamı kloramfenikol, siprofloksasin ve streptomisin'e duyarlı bulunmuştur (%100). *Staphylococcus aureus*, izolat'larında tetrasiklin ve eritromisin'e (%30), *Macroccoccus caseolyticus* izolat'larında ise eritromisin'e (%57,1) direnç tespit edilmiştir. Yukarıda adı geçen Gram pozitif izolat'lar gentamisin ve kloramfenikol'e duyarlı bulunmuştur (% 100).

Bilim Kodu : 20325
Anahtar Kelimeler : *S.aureus*, *Salmonella* spp., biofilm, antibiyotik direnci
Sayfa Adedi : 85
Danışman : Prof. Dr. Neslihan GÜNDOĞAN

DETERMINATION OF SOME PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF
PATHOGENIC BACTERIA ISOLATED FROM RAW AND COOKED FOODS

(M. Sc. Thesis)

Serdar COŞKUN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

January 2020

ABSTRACT

The present study was carried out to test hemolytic activity, slime and biofilm production and antibiotic resistance of pathogenic bacteria isolated from raw and cooked foods. 14 *Macrococcus caseolyticus*, 10 *Staphylococcus aureus*, 9 *Hafnia alvei* and 7 *Salmonella* spp. isolates were obtained from total of 106 raw milk, cheese, chicken döner and raw chicken samples. The identification of the isolates was performed by Matrix assisted laser desorption ionization time of flight (Maldi-tof mass spectrophotometer). Hemolytic activity was investigated by Sheep Blood Agar, slime by Congo Red Agar method and biofilm activity by Microplate method. According to our results, slime production and hemolytic activity were observed in all isolates and moderate and strong biofilm formation was observed in 90% of the isolates. The antibiotic susceptibility test according to the Bauer-Kirby disk diffusion method was performed using *Salmonella* spp. (57.1%) and *Hafnia alvei* (45.5%) were found to be resistant to ampicillin. All Gram-negative bacteria isolates mentioned above were found to be susceptible to chloramphenicol, ciprofloxacin and streptomycin (100%). Resistance to tetracycline and erythromycin (30%) was found in *Staphylococcus aureus* isolates and to erythromycin (57.1%) in *Macrococcus caseolyticus* isolates. The Gram positive isolates mentioned above were found to be sensitive to gentamicin and chloramphenicol (100%).

Science Code : 20325

Key Words : *S.aureus*, *Salmonella* spp., biofilm, antibiotic resistance

Page Number : 85

Supervisor : Prof. Dr. Neslihan GÜNDÖĞAN

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca her türlü bilgi ve deneyiminden faydalandığım, yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren, teşvikleriyle beni destekleyen değerli hocam Prof. Dr. Neslihan GÜNDOĞAN ve çalışmalarım boyunca desteğini eksik etmeyen Prof. Dr Sumru ÇITAK a, laboratuvar çalışmalarım süresince bilgi ve deneyimleriyle bana destek olan Araş. Gör. Meryem Burcu KÜLAHÇI' ya, Araş. Gör. Dr. Betül AYDIN'a, bana her zaman her koşulda destek olan eşim Merve COŞKUN, kardeşim Semanur COŞKUN, annem Zeynep COŞKUN, babam Abdullah COŞKUN' a ve tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu araştırma 05-2019-09 kodlu BAP projesi ile desteklenmiştir. Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Kuruluna maddi ve manevi desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	7
2.1. Mikroorganizmaların Bulaşma Kaynakları.....	7
2.2. <i>Staphylococcus aureus</i> ‘un Genel Özellikleri	7
2.3. <i>Salmonella</i> ‘ ların Genel Özellikleri	10
2.4. <i>Macroccoccus caseolyticus</i> ‘un Genel Özellikleri.....	12
2.5. <i>Hafnia alvei</i> ‘nin Genel Özellikleri.....	14
2.6. <i>Staphylococcus aureus</i> Gıda İlişkisi	15
2.7. <i>Salmonella</i> spp. Gıda İlişkisi	17
2.8. Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight (MALDI TOF)...	20
2.9. Gıda Patojenlerinin Antibiyotik Direnci	23
2.10. Biyofilm	24
2.11. Slime Faktör	27
2.12. Hemoliz Aktivitesi	29
3. MATERYAL-METOT	31
3.1. Gıda Örneklerinin Toplanması.....	31

Sayfa

3.2. Gıda Örneklerinde <i>Staphylococcus</i> İzolasyonu ve Ön Tanımlamasının Yapılması	31
3.3. <i>S.aureus</i> İzolasyonunda Kullanılan Besiyerleri ve İçerikleri.....	32
3.4. Gıda Örneklerinde <i>Salmonella</i> spp. İzolasyonu ve Ön Tanımlamasının Yapılması	33
3.5. <i>Salmonella</i> Türlerinin İzolasyonunda Kullanılan Besiyerleri ve İçerikleri	34
3.6. Mikroorganizmaların İdentifikasyonunda Kullanılan Testler	37
3.6.1. Gram boyama	37
3.6.2. Katalaz testi	37
3.6.3. Koagülaz testi	38
3.6.4. TSI (Triple Sugar Iron) testi	39
3.6.5. Sitrat testi.....	41
3.6.6. Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight (MALDI TOF) ile bakterilerin tanımlanması	42
3.6.7. İzolat'ların slime oluşturma özelliklerinin belirlenmesi.....	42
3.6.8. İzolat'ların biyofilm oluşturma özelliklerinin belirlenmesi.....	43
3.6.9. İzolat'ların hemoliz özelliklerinin belirlenmesi	46
3.6.10. İzolat'ların antibiyotik duyarlılık testi	46
4. BULGULAR.....	49
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇ	73
KAYNAKLAR	75
ÖZGEÇMİŞ	85

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. 2000-2009 yıllarında ABD de gıda kaynaklı hastalıkların rastlanma oranları	18
Çizelge 2.2. Salgınların büyük çoğunluğuna yol açan ilk yirmi <i>Salmonella enterica</i> serotipi	19
Çizelge 2.3. Hücre dışı polimerik maddelerin (EPS) biyofilmdeki görevleri.....	26
Çizelge 3.1. Biyofilm aktivitelerinin değerlendirme ölçeği.....	45
Çizelge 4.1. Araştırmada materyal olarak kullanılan gıda örneklerinin dağılımı.....	49
Çizelge 4.2. Gıda örneklerinden izole edilen bakterilerin, izole edildikleri materyallere göre dağılımları	49
Çizelge 4.3. Çiğ tavuk örneklerinden izole edilen 7 <i>Salmonella</i> spp. izolatının numune türlerine göre dağılımı.....	50
Çizelge 4.4. Çiğ tavuk örneklerinden izole edilen 9 <i>H. alvei</i> izolatının numune türlerine göre dağılımı	50
Çizelge 4.5. MALDI TOF kütle spektrometresi ile Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin tür tayini	51
Çizelge 4.6. Gıda örneklerinden izole edilen bakterilerin, Congo Red Agar'a göre slime sonuçları	52
Çizelge 4.7. Luria Bertani Broth daki biyofilm ölçümü sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılan optik değerler	52
Çizelge 4.8. Gıda örneklerinden izole edilen toplam 24 Gram pozitif bakterinin biyofilm aktivite ölçüm sonuçları	53
Çizelge 4.9. Gıda örneklerinden izole edilen toplam 16 Gram negatif bakterinin biyofilm aktivite ölçüm sonuçları	54
Çizelge 4.10. Gıda örneklerinden izole edilen bakterilerin, Koyun Kanlı Agar'a göre hemoliz sonuçları.....	55
Çizelge 4.11. Gıda örneklerinden izole edilen <i>Staphylococcus aureus</i> izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antibiyotik dirençlilik oranları	55
Çizelge 4.12. Gıda örneklerinden izole edilen <i>M. caseolyticus</i> izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antibiyotik dirençlilik oranları	56
Çizelge 4.13. Gıda örneklerinden izole edilen <i>Salmonella</i> spp. izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antibiyotik dirençlilik oranları	56

Çizelge**Sayfa**

Çizelge 4.14. Gıda örneklerinden izole edilen <i>H. alvei</i> izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antibiyotik dirençlilik oranları	57
--	----



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. <i>Salmonella</i> spp. ve <i>S. aureus</i> mikroskop görüntüsü	37
Şekil 3.2. Katalaz testi lamda görünümü	38
Şekil 3.3. Koagülaz testi görüntüsü	39
Şekil 3.4. <i>Salmonella</i> spp.'de TSI testi görünümü.....	40
Şekil 3.5. <i>Salmonella</i> spp.' de Sitrat testi görünümü.....	42
Şekil 3.6. Congo red agarda slime	43
Şekil 3.7. Mikroplate biyofilm aktivite fenotipik değerlendirme.....	45
Şekil 3.8. <i>S. aureus</i> ' un koyun kanlı agarda hemoliz oluşturmaı	46

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Gram pozitif bakteriler arasında filogenetik ilişkiler.....	13
Resim 2.2. <i>Hafnia</i> cinsi ve çevresel dağılımı	15
Resim 2.3. MALDI kütle spektrometresi için örnek hedef.....	21
Resim 2.4. MALDI TOF kütle spektrometresi çalışma mekanizması.....	22
Resim 2.5. MALDI TOF kütle spektrometresi cihaz görüntüsü	23
Resim 2.6. Bakterilerin biyofilm oluşturma mekanizması	25
Resim 2.7. Bakterilerin slime oluşturma mekanizması	28
Resim 3.1. Baird Parker Agar besiyerinde üremiş olan <i>S. aureus</i> kolonileri	32
Resim 3.2. XLT4 besiyerinde üremiş olan <i>Salmonella</i> spp. kolonileri	34

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
°C	Derece santigrat
g	Gram
L	Litre
ml	Mililitre
Ph	Asitlik değeri
μ	Mikron

Kısaltmalar	Açıklamalar
AM	Ampisilin
C	Kloramfenikol
CIP	Siprofloksasin
E	Eritromisin
GN	Gentamisin
Ka	Kanamisin
S	Streptomisin
TE	Tetrasiklin
VA	Vankomisin
PW	Peptonlu su

1. GİRİŞ

Gıdalar çok çeşitli mikroorganizma gruplarını içerebilmektedir. Bunlardan bazıları gıda üretiminde kullanılırken, birçoğu gıdalarda bozulmaya veya gıda kaynaklı hastalıklara neden olmaktadır. Gıda kaynaklı hastalıklar genel anlamda patojen mikroorganizmalar ya da mikrobiyel toksinler ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesiyle oluşan ve daha çok gastrointestinal semptomlarla seyreden klinik tablolardır. Bu mikrobiyel kökenli hastalıklar; gıda kaynaklı infeksiyonlar ve gıda kaynaklı mikrobiyel intoksikasyonlar şeklinde ortaya çıkabilmektedir. Gıda infeksiyon ve intoksikasyonlarına neden olan çok sayıda bakteri bulunmakla birlikte, en önemlileri *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Clostridium* spp., *Escherichia coli* O157:H7, *Shigella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio* spp., *Brucella* spp. ve *Aeromonas* spp. olarak bilinmektedir [1].

Salmonella türleri *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan Gram negatif çomak şeklinde, sporsuz, çoğu peritrik flagellaları ile hareketli, fakültatif anaerofilik, katalaz pozitif ve oksidaz negatif özellikte bakterilerdir. Asidik çevre koşullarına kolay uyum sağlayabilen *Salmonella* türleri ısıl işleme duyarlı olup, 60 °C'de 1-6 dakika arasında ölürlür. Etkenlerin gıdalara bulaşmasının 3 ana yolu vardır. İlki, *Salmonella* taşıyıcısı hayvanların et ve süt üretiminde kullanılmasıdır. Kanatlı etleri ve yumurtaları, kırmızı et ve süt bulaşmada en önemli gıdalardır. İkinci yol, çevreye ve sulara dışkı, mezbaha atıkları gibi atıkların karışması ile bulaşmanın gerçekleşmesidir. Bu şekilde *Salmonella* türleri sulama suyu ve gübreleme ya da çevre aracılığı ile meyve ve sebzelere bulaşabilmektedir. Üçüncü yol ise, çapraz kontaminasyon sonucu etkenlerin çiğ tüketime hazır gıdalara bulaşmasıdır. Et ve tavuk ürünleri, tavuk karkasları, yumurta, çiğ kıymalar, süt ve süt ürünleri, deniz ürünleri, salatalar, hazır yiyecekler, pastane ürünleri, kuru çorbalar, çocuk mamaları bulaşmada aracı gıdalardır [1].

Bu gıdalarda en sık bulunan türler ise *Salmonella enteritidis* ve *Salmonella typhimurium*'dur. *Salmonella* infeksiyonlarından korunmada, bulaşma yolu ve kaynağına göre farklı kontrol yöntemleri kullanılır. Bunlar; hayvanların *Salmonella* taşıyıcılığının azaltılmasına yönelik önlemler, hayvanların *Salmonella* içermeyen yemlerle beslenmesi, suların dezenfeksiyonu, kesimhanelerde hijyenik koşullar sağlanarak çapraz bulaşmanın önlenmesi, gıdaların işlenmesi sırasında çapraz bulaşmanın önlenmesi, gıdaların uygun

sıcaklıkta pişirilmesi, uygun ısıda soğutulması ve soğukta muhafaza edilmesi, kirli ve kırık yumurta kullanımının engellenmesi, işletmede çalışan personelin taşıyıcılık kontrolünün yapılması, işletmede kemirgen ve böceklerin kontrolünün yapılmasıdır [1].

Staphylococcaceae familyasındaki en patojen tür olan *Staphylococcus aureus*, Gram pozitif, kok şeklinde, hareketsiz, sporsuz, bazı izolatları kapsüllü, fakültatif anaerofilik özellikte, uygun ortam koşullarında 7-48 °C arasında üreyebilen mezofilik bir bakteridir. Etken, insan ve hayvanların deri, üst solunum sistemi, alt ürogenital sistem ve sindirim sistemi mukozalarında kommensal olarak bulunmasının yanı sıra, insan ve hayvanlarda çok çeşitli enfeksiyonlar ve besin zehirlenmelerinden en sık izole edilen patojendir. Etkenler hava, toz, kanalizasyon suları, gıda ve gıda ekipmanlarında da bulunabilmektedir. *S. aureus*, başta ısıl işlem olmak üzere mikroorganizmaların indirgenmesine yönelik tüm uygulamalara karşı yüksek bir duyarlık göstermesine rağmen, insanlarda özellikle gıda zehirlenmelerine neden olan ve yüksek derecede ısı stabilitesi gösteren enterotoksinler üretmektedir [1].

Macrococcus cinsi, *Staphylococcus* cinsinin yakın bir akrabasıdır. Bu cinse ait türler hayvan derisinden, et ve süt ürünlerinden sıklıkla izole edilebilirler. Bu cinse ait türler insan patojeni olmamasına rağmen hayvanlarda enfeksiyonlara neden olduklarına dair çalışmalar bulunmaktadır [2].

Hafnia alvei, insanların gastrointestinal sisteminde bulunan Enterobacteriaceae ailesi üyelerinden biridir. Bu bakteri *Hafnia* cinsinin tek adlandırılmış türüdür. Genellikle memeliler, kuşlar, sürüngenler, balıklar ve böcekler de dahil olmak üzere insanların ve hayvanların gastrointestinal sisteminden ve et ve süt ürünleri gibi gıdalardan izole edilirler [3].

Biyofilmler, mikroorganizmaların, genellikle çevresel stres koşullarına karşı oluşturduğu formlarıdır. Bu çevresel stres faktörleri; başta konakçı hücre immün yanıtları, konakçı sistemlerde yerleşik mikrobiyota, ortamdaki antimikrobiyal bileşikler ve ortamdaki sıcaklık, pH, tuz, organik ve inorganik besin değişimleri olabilmektedir. Patojen bakteriler hem biyotik ve hem de abiyotik yüzeylerde, yüksek düzeyde biyofilm yapıları oluşturma yeteneği içerdiğinden, önemli ölçüde kalıcılık ve inatçı enfeksiyon karakteristiği göstermektedir. Biyofilmler; su sistemleri, gıda üretim yüzeyleri, konakçı organizma

mukozal yüzeyleri, gıda ve gıda paketlenme yüzeyleri, tıbbi cihazlar, dış yüzeyleri gibi, doğadaki nerede ise tüm biyotik ve abiyotik yüzeylerde oluşabilmektedir. Yüksek kalıcılık ve yeniden kontaminasyon kaynağını teşkil ettiklerinden, hem tıbbi ve hem de endüstriyel açıdan ciddi sorunlara yol açmaktadırlar [4].

Gıda sektöründe, endüstriyel ekipmanlar, gıda işleme yüzeyleri, tezgâhlar ve araç gereçler üzerinde oluşabilirler. Bakteriyal hücreler biyofilmlerden gıda ürünlerine kolayca geçebildiklerinden patojen mikroorganizmaların oluşturabileceği biyofilm, gıda endüstrisi için çok önemli olmaktadır. Gıda üretim ekipmanlarının yüzeyinde bakteriyel biyofilm oluşumu, ürünün çapraz kontaminasyon tehlikesini artırır. Patojenik bakteriler veya bozulma nedeni olan mikroorganizmaların bulunması son ürünün kalitesi ve güvenliği üzerine etki eder. Ayrıca gıda endüstrisinde uygulanan rutin hijyen çalışmalarının biyofilmi ortadan kaldırmada yetersiz olduğu rapor edilmektedir. Çünkü biyofilm içindeki mikroorganizmalar desikasyon, ultraviyole, antimikrobiyal ve sanitasyon ajanlarına karşı dirençlidir. Bu sebeplerden dolayı özellikle *S. aureus* ve *Salmonella* spp. gibi patojen bakterilerin biyofilmlerinin tespiti gıda güvenliği bakımından büyük önem taşımaktadır [4].

Hemolizin'ler; bazı Gram-pozitif ve negatif mikroorganizma tarafından sentezlenen, toksik karakterde, alyuvarları parçalama özelliği bulunan maddelerdir. Hemolizin'ler alyuvarların membranında zedelenmeler yaparak hemoglobinin dışarı çıkmasına yol açarlar. Mikroorganizmaların bir kısmı kanlı agar'da alfa hemoliz (koloni etrafında tam açılmanın olmadığı yeşilimsi görünüm), bir kısmı ise tam hemoliz (beta hemoliz) oluşturabilir.

Antibiyotik direnci tüm dünyada küresel bir halk sağlığı sorununa dönüşmüştür. Antibiyotikler, Türkiye'de de hem tıp hem veteriner hekimlikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Ülkemiz, Avrupa ülkeleri arasında en yüksek antibiyotik kullanımına sahip ülke olarak belirlenmiştir [5].

Antibiyotiklere dirençli ve gıdalarda bulunan bakteriler, insanlar için büyük bir tehdit oluşturmaktadır. Hayvanlarda tedavi veya koruyucu amaçlı olarak kullanılan antibiyotikler patojen ve normal flora bakterilerinde antimikrobiyal direncin oluşumunu artırır. Örneğin, penisilinin tedavi amacıyla kullanılmaya başlandığı ilk yıllarda stafilokok kökenlerinin tümü bu antibiyotiğe duyarlı iken daha sonraları β -laktamaz üretimi sonucu

büyük oranda direnç geliştirmişlerdir. Direnç genlerini taşıyan patojen veya flora üyesi bakteriler gıdalar yoluyla insan florasına kolonize olarak oluşan bu direncin insana geçmesine aracılık ederler [5].

Tavuk eti ülkemizde en fazla tüketilen gıdalardan biridir. Kırmızı ete göre ucuz olması, protein içeriğinin yüksek, yağ içeriğinin düşük, doymamış yağ asitleri içeriğinin tercih edilen düzeyde olması popülaritesinde önemli rol oynamaktadır. Ayrıca tavuk eti kolayca hazırlanabilen bir yiyecek olduğundan hamburger ve döner gibi hazır gıdaları satan yerlerde de yaygın şekilde kullanılmaktadır. Ancak, tavuk eti patojen ve bozulma etkeni mikroorganizmaları da içeren birçok mikroorganizmanın gelişmesi için uygun bir ortam oluşturmaktadır [6].

Gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyonlarda tavuk ve tavukla hazırlanan ürünlerin önemli bir yer tuttuğu bilinmektedir. Günümüzde hazır yemek sektörü hızla gelişmiştir ve bu sektörün önde gelen yiyeceklerinin başında, ekonomik olması nedeniyle kanatlı etlerinden yapılan dönerler gelmektedir. Döner kebabın mikrobiyolojik kalitesi, kullanılan kırmızı veya kanatlı etlerin florasında bulunan mikroorganizmalar, pişirme ve servis sırasındaki kontaminasyonlar ve ayrıca birlikte servis edildiği garnitürler ile yakından ilişkilidir. Ülkemizde yapılan birçok araştırmayla tüketime hazır döner kebabların mikrobiyolojik kalitesinin iyi olmadığı belirlenmiştir. Bu çalışmalar çiğ veya pişmiş döner örneklerinde patojenlerin varlığına işaret etmektedir [6].

İnsan beslenmesinde çok önemli bir yere sahip olan süt, hijyenik koşullarda üretilmediği, saklanmadığı, işlenmediği, gerekli kontrollerinin yapılmadığı durumlarda insan sağlığı açısından zararlı olabilmektedir. Çiğ süt az sayıda bakteri içerse bile sağımdan sonra çevreden çeşitli yollarla bulaşan mikroorganizmaların etkisiyle oldukça kısa sürede bozulur ve insanlarda hastalıklara yol açan birçok patojenin potansiyel kaynağını oluşturur. Bu nedenle çiğ süt insan gıdası olarak doğrudan tüketime uygun değildir [7].

Ülkemizde süt ve süt ürünlerinin üretimi oldukça yüksek olup bu ürünlerin çoğu küçük işletmelerde, mandıralarda kontrolsüz olarak üretilmektedir. Peynirin mikroflorasının yapımı sırasında kullanılan süt ve starterin peynirin olgunlaşma süresine bağlı olarak değiştiği de bilinmektedir. Ancak; özellikle geleneksel ve yöresel tip peynir üretimi yapan işletmelerde temizlik ve hijyen gerektiği şekilde yapılmadığında, mikroorganizma bulaşma

kaynağı oldukça fazladır. Sağım, taşıma ve depolama sırasında hijyenik koşullara yeterince uyulmaması sonucunda süte birçok mikroorganizma bulaşabilmektedir. Bu sütler kullanılarak üretilen peynirlerin olgunlaştırılmadan satışa sunulması ise patojen mikroorganizmaların canlı kalma olasılığı nedeniyle tüketici sağlığı açısından risk taşımaktadır. Özellikle çiğ süttten elde edilen peynirler halk sağlığı açısından büyük riskler oluşturmaktadırlar. Bu üretim koşullarından dolayı süt ve süt ürünleri kaynaklı enfeksiyon ve gıda zehirlenmelerinin riski artmaktadır [7].

Geleneksel yöntemlerle ayrılması zor olan bazı bakterilerin ayrımı son yıllarda kullanılaya başlanan MALDI-TOF MS (Matrix Supported Laser Desorption/Ionization Flight Time Mass Spectrometry) ile başarılı bir şekilde yapılabilmektedir. Bu yöntemin birçok avantajı bulunmaktadır. Bunlardan bir tanesi hızlı bir yöntem olmasıdır. Geleneksel yöntemlerde bir mikroorganizmanın tanımlanması birkaç gün sürerken, MALDI-TOF MS yönteminde tanımlama işlemi 1 saat hatta yarım saate kadar inebilmektedir. Ayrıca bu yöntem yeni bir yöntem olmasından dolayı 16S rRNA gen sekansı ile ayrımı yapılamayan, ayrımı zor olan benzer türlerin bile ayrımını yapabilmektedir [8].

Yapılan literatür araştırmasında çeşitli gıda patojenlerinin izolasyonu ve tanımlanmasına dair çalışmalara sıklıkla rastlanmıştır. Ancak çiğ süt, tavuk, peynir ve pişmiş tavuk dönerden izole edilerek MALDI-TOF MS ile tanımlanan *S. aureus*, *M. caseolyticus*, *H. alvei* ve *Salmonella* spp. izolatlarının hemolitik aktiviteleri, slime ve biyofilm oluşturma yetenekleri ve antibiyotik direnç profillerine dair az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Bu çalışma kapsamında Ankara’da tüketime sunulan çiğ süt, tavuk, peynir ve tavuk döner, *S. aureus*, *M. caseolyticus*, *H. alvei* ve *Salmonella* spp. bakterilerinin bulunma sıklığı açısından incelenmiştir. Ayrıca bu bakterilerin hemolitik aktiviteleri, slime ve biyofilm oluşturma yetenekleri ve antibiyotik dirençlilikleri de tespit edilmiştir.



2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Mikroorganizmaların Bulaşma Kaynakları

Gıdaların mikrobiyal florasını gıdalarda doğal olarak bulunan mikroorganizmalar ile depolama, taşıma ve işleme gibi faaliyetler sırasında dış çevreden bulaşan mikroorganizmalar oluşturur. Gerek gıda kaynaklı intoksikasyonlar ve enfeksiyon hastalıklarının önlenmesi ve gerekse gıdaların depolama ömürlerinin uzatılabilmesi açısından kontaminasyon kaynaklarının bilinmesi ve bu kaynaklardan gelebilecek kontaminasyonların önlenmesi veya minimum düzeyde tutulması için gerekli önlemlerin alınması gereklidir [9].

Bir gıdanın bozulması; ham maddenin temini, taşınması, işlenmesi ve depolanması sırasında mikroorganizmaların gelişerek yüksek sayılara ulaşabileceği bir ortamın oluştuğunun göstergesidir. Bu sırada gıdaya patojen bir mikroorganizma da bulaşmışsa bu mikroorganizma tehlikeli sayılara ulaşarak insanlarda çeşitli enfeksiyon ve gıda zehirlenmelerine neden olabilir. Pek çok etken gıdaya bulaşarak, gıdanın zehirlenme etkeni haline dönüşmesine neden olabilir. Bu olumsuzluk başta bakteriler olmak üzere diğer mikroorganizmalar ve parazitlerin bulaşmasıyla biyolojik karakterli olabileceği gibi haşarelere ve kemirgenlere karşı kullanılan mücadele ilaçlarının kalıntıları ve yakıcı maddeler gibi kimyasallarla da ortaya çıkabilir [9].

Gıdalarda olası bulaş kaynaklarının bilinmesi bu kaynaklardan gelebilecek bulaşmaların önlenmesi açısından önemlidir. Gıdalara mikroorganizmaların bulaşma kaynakları hava, su ve toprak, bitkiler ve bitkisel ürünler, hayvan ve insanların bağırsak sistemi, hayvan deri ve postları, hayvan yemleri, gıda işleme teknolojisindeki hatalar (yetersiz pişirme ve/veya ısıtma, kalitesiz ham madde kullanımı), gıda üretiminde çalışan personel, gıda üretiminde kullanılan alet ve ekipman, gıda muhafaza kapları, katkı maddeleri ve işletme sanitasyonunun uygun olmaması olarak sayılabilir [9].

2.2. *Staphylococcus aureus* 'un Genel Özellikleri

S. aureus, ilk olarak 1880 yılında, İskoç cerrah Sir Alexander Ogston tarafından diz eklemindeki bir apseden izole edilmiştir. Ogston, stafilokokların mikroskop altında üzüm

salkımına benzeyen yığınlar şeklinde görüldüğünü tespit etmiştir. Mikroorganizmanın ismi Yunanca üzüm salkımı anlamına gelen “staphyle” ve tane anlamına gelen “coccus” kelimesinden türemiştir. Alman hekim Friedrich Julius Rosenbach’ın 1884 yılında bu mikroorganizmayı *S. aureus* olarak isimlendirmiştir. Bunun nedeni saf kültürden izole ettiği mikroorganizmayı kolonilerin rengine göre Latince’de altın anlamına gelen “aurum” kelimesinden türeterek isimlendirmesidir [10].

Staphylococcus’lar Eubacteriales takımının *Micrococcaceae* familyası bakterileridir. Sporsuz, 0.4-1.6 µm boyutunda, hareketsiz, çeşitli pigmentasyon gösteren ve genelde üzüm salkımı şeklinde kümeler oluşturan gram pozitif koklardır. Stafilokoklar, esteraz, lipaz, hiyaluronidaz, jelatinaz, koagülaz, proteaz, kazeinaz, fosfolipaz, deoksiribonükleaz (DNaz), β-glukosidaz ve üreaz gibi çeşitli enzimler üretmektedirler [11].

Fakültatif anaerobik bakterilerdir. Optimum üreme sıcaklıkları 30-37° C’dir. Birçok invitro besiyerlerinde kolaylıkla üreyebilirler, metabolizmaları aktiftir. Birçok karbonhidratı fermante ederler, katı besiyerinde üreyen koloniler beyazdan sarıya kadar renk değişimi gösterirler. Koloniler yuvarlak, (S) kolonileri meydana getirir. *S.aureus* altın sarısı renginde koloni oluşturduğu gözlemlenirken *S.epidermidis* ise beyaz renkte genç koloniler meydana getirir [12].

Kolonilerin seçici olmayan laboratuvar besiyerlerinde 6-9 mm boyutuna kadar ulaşabildikleri görülmüştür. Kolonilerin oluşturdukları pigmentler sarı ya da sarıdan turuncuya değişen sarımsı bir zon veya yeşil ile çevrili beyaz-yeşil tonları arasında değişmektedir. Oluşan pigmentin rengi çeşitli gelişme koşullarından etkilenebilmektedir [13].

Bazılarında polisakkarit yapısında belirgin bir kapsül ya da mukus tabakası bulunabilmektedir. Kokların seklinin tam yuvarlak ve bakterilerin birbirine benzer görünümde olması *Staphylococcus*’lar için karakteristiktir. *Staphylococcus*’lar bazen 3-4 bakteriden oluşan tetrat ve kısa zincirler şeklinde de bulunabilirler. Besiyerlerinde oluşturdıkları koloniler; yuvarlak, opak keskin kenarlı yaklaşık 4 mm çapında, düz (S) kolonilerdir [14].

Staphylococcus aureus, enterotoksijenik türleri; 21 adet değişik toksin üretir. Toksinler toksiteleri farklı, serolojileri değişik 26-30 kDa molekül ağırlıklarında ısıya dayanıklı protein yapılarında oluşmaktadır. Suda çözülünebilen bu toksinler proteolitik enzimlere dayanıklılık gösterebilir. Enterotoksini kodlayan genler; profajlarda plazmitlerde enterotoksin gen topluluklarında bulunur [14].

Staphylococcus aureus, mannitolu fermente ederler, termonukleaz, koagulaz ve hemolizin türü enzimleri üretirler. Hücreler 66°C' de 12 dakikada, 72°C' de 15 saniyede ölürler. *S. aureus* fakültatif anaerop olmasına karşın aerobik ortamlarda hızla çoğalırlar. Karbonhidratları fermente eder ve ürettikleri hücre dışı proteazlarla proteinleri parçalarlar. 7-48°C aralığında gelişen mezofiller olmasına karşın 20-37°C'de aralığında gelişme hızları yüksektir. Düşük su aktivitelerinde (0,86), düşük pH'larda (4,8) ve yüksek tuz ve şeker konsantrasyonlarında (%15) gelişme özellikleri önem taşır. Buna rağmen çoğalmaları bir veya birkaç parametrenin birleştirilmesiyle yavaşlatılabilir. *S.aureus* bu değişik zor koşullarda çoğalma kabiliyeti özelliği ile birçok gıdada çoğalma yeteneği gösterir. Başka mikroorganizmaların bulunduğu ortamlarda çoğalma başarıları düşüktür. Fakat, zor ortamlarda gelişme özellikleri onlara diğer mikroorganizmaların çoğalamayacağı ortamlarda da çoğalabilme imkanı sağlar [15].

Staphylococcus aureus'un toksin üretme hızı onun gelişme hızı ve ve sayısı ile doğrudan ilgilidir. Bakteri 37-40°C arasında optimum gelişme hızına ulaşır. Optimum gelişme şartlarında hücre sayısının bir gram veya milimetrede milyona ulaşmasında sonra toksinin etkisi hissedilir, bu durum genellikle 4 saat içinde meydana gelir. Ortam parametrelerinin toksin üretimini önleyen alt sınır değerleri; 10°C, pH 5 ve su aktivitesi 0,86 'dır fakat iki veya daha fazla parametrenin beraber uygulanması halinde bu değerler olumsuz yönde değişebilir [15].

Enterotoksin üreten *S.aureus* izolatları genelde stafilokok intoksikasyonlarına neden olur. Bununla birlikte *S.aureus*' un birçok stafilokok ile birlikte sağlıklı insan, hayvan ve kuşların burun, boğaz, deri ve tüylerinde doğal olarak bulunur. *S. aureus* ayrıca insanlar, hayvanlar ve kuşların derilerindeki kesik ve abselerde, insanlardaki sivilcelerde bulunur, gıdalara genellikle bu yollardan bulaşır [15].

Staphylococcus aureus, çeşitli toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonların önemli bir nedenidir. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına, cerrahi alan enfeksiyonlarına ve piyojenik kemik ve eklem enfeksiyonlarına neden olur. Hastane kaynaklı bakteriyeminin en yaygın etkenlerindendir. Hastane kaynaklı solunum yolu enfeksiyonları ile ilişkilidir. Ayrıca, Stafilokok'un etken olduğu mastitis enfeksiyonu geçiren büyükbaş çiftlik hayvanlarından elde edilen pastörize edilmemiş süt ve süt ürünleriyle bulaşan önemli bir gıda patojenidir. Koagülaz negatif stafilokoklar, insan derisi mikroflorasının ortak bileşenleridir. Peynir, sosis gibi fermente şarküteri gıdalarının üretilmesinde lezzet ve aroma oluşumunda önemli bir rol oynarlar. Son yıllarda, koagülaz negatif stafilokokların neden olduğu hastane enfeksiyonları vakalarında bir artış olmuştur [16].

2.3. *Salmonella*'ların Genel Özellikleri

Salmonella cinsi bakteriler Amerikalı veteriner bir patalog olan T. Smith ve meslektaşı Daniel E. Salmon tarafından ilk kez 1886 yılında domuz kolerası hastalığı etkeni olarak düşündükleri bir bakteri olarak, domuz bağırsağından izole edilmiştir. İlk olarak *Bacillus choleraesuis* olarak isimlendirilen bakteri, 1900 yılında Fransız bakteriyolog Liengieres'in önerisi üzerine *Salmonella* olarak isimlendirilmiş ve taksonomisi hakkında daha çok bilgi edinmek amacıyla yapılan moleküler çalışmalar sonrası 1980 yılında Approved Lists of Names' te yerini almıştır [17].

Salmonella serovarlarının dna ile yüksek düzeyde ilişkili olduğu bulunmuştur. Buna dayanarak *Salmonella* cinsinin *Salmonella enterica* olmak üzere yalnızca tek bir türe ve ikisi *Arizona* grubundan olmak üzere 6 alttüre sahip olduğu öne sürülmüştür.

1. *Salmonella enterica subsp. enterica*
2. *Salmonella enterica subsp. salamae*
- 3a. *Salmonella enterica subsp. arizonae*
- 3b. *Salmonella enterica subsp. diarizonae*
5. *Salmonella enterica subsp. houtenae*
6. *Salmonella enterica subsp. bongori*

6 Alttür içerisinde, *Salmonella enterica subsp. enterica*, gıda kaynaklı salmonelloz ile ilişkilendirilen pek çok serotipi içerir. Ancak, 2000 den fazla serotipin yalnızca ikisi *Typhimurium* ve *Enteritidis* serotipleri dünya çapında sıklıkla görülmektedir [17].

Besi ve süt hayvanları ile evcil hayvanlar dahil olmak üzere çoğu hayvan, *Typhimurium* serotipinin taşıyıcısı durumunda iken, *Enteritidis* serotipi kümes hayvanlarının, özellikle de tavuklarının yumurtalıklarına, oradan da yumurtaya bulaşabilir [18].

Salmonella, gram negatif, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerop, (hareketsiz olan *S. gallinarum* ve *S. pullorum*) hariç hareketli ve kokobasil şeklindedir. Glukoz içeren ortamlarda geliştiklerinde gaz oluştururlar. Genellikle laktozu değil, dulsitol fermente ederler, karbon kaynağı olarak sitratı kullanır, hidrojen sülfür oluşturur, lisin ve ornitini dekarboksile eder, ancak indol üretmez ve üreaz negatiftir [19].

Mezofiliktir ve optimum olarak 35-37°C arasında gelişir. Ancak gelişme sıcaklık aralığı genellikle 5-46°C' dir. Pastörizasyon sıcaklıklarında canlılıklarını yitirir, düşük pH (4,5 ve altı) değerlerinde gelişemezler [19].

Salmonella donmuş ve kuru durumlarda uzun süre canlı kalabilirler. Pek çok gıdada kabul edilebilir kalite düzeyini etkilemeden gelişebilme özelliğine sahiptir. Son yıllarda yerfıstığı, badem, fıstık ezmesi, baharat ve buğday unu gibi düşük nemli gıdalarla ilişkili *Salmonella* salgınları göstermiştir [19].

Son 10 yıldır, *S. enterica ser. Enteritidis* nedeniyle oluşan gıda kaynaklı salmonellozda büyük artış görülmüş ve günümüzde bu tür olayların sıklığı *S. enterica ser. Typhimurium* daha çok rastlanılmaya başlanmıştır. Bunun nedeni kümes hayvanı tüketimindeki artıştan dolayı kaynaklanmaktadır [15].

Ortalama pH' sı 7.2 olan invitro ortamlarda daha çabuk ürerler. Sıvı besiyerlerinde homojen bir bulanıklık yaparlar. Çeşitli *Salmonella* izolatlarında kabarıklık, yüzey ve kenar yönünden ayrılıklar olabilir [15].

2.4. *Macrococcus caseolyticus* 'un Genel Özellikleri

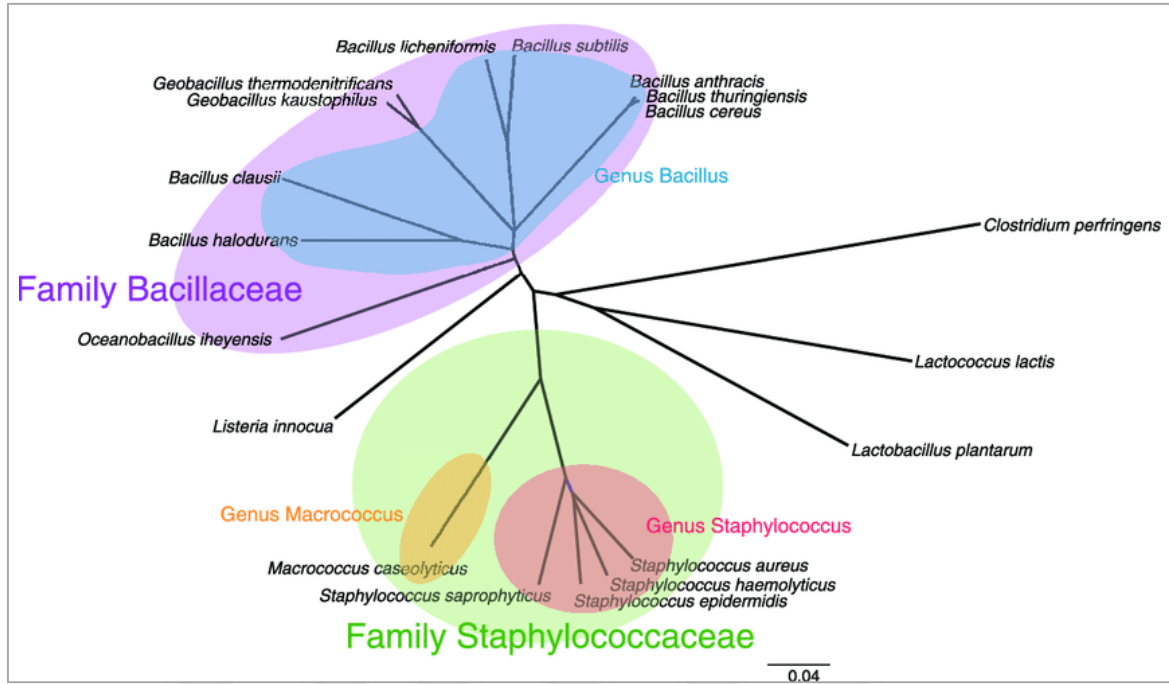
Macrococcus veya “large coccus” olarak adlandırılan bu cinsin üyeleri, kardeş cinsi *Staphylococcus*'lara kıyasla büyük bir hücre boyutuna sahip olduğu için (hücre boyutu *Staphylococcus* çapının 2.5-4 katıdır) *Macrococcus* olarak isimlendirilmiştir. *Macrococcus* 'lar gram pozitifdir, çoğunlukla çiftler, dörtgenler veya düzensiz kümeler halinde ve bazen de tekli hücreler halinde veya kısa zincirlerde halinde bulunurlar. Küresel veya kokoid şeklinde 1.1-2.5 mm çapındadırlar. *Macrococcus*'lar genellikle kapsülsüz, hareketsiz ve marjinal olarak fakültatif anaerobik olabilirler ancak aerobik koşullar altında daha iyi üreme gösterirler. *Macrococcus*'lar koagülaz negatiftir ve katalaz pozitifdir [20].

Stafilokok türlerinin aksine, makrokoklar insan veya hayvan hastalıklarına neden olmaz ve tipik olarak hayvan derisinden, süt ve et ürünlerinden izole edilirler. Bununla birlikte, bu mikroorganizmanın fizyolojik özellikleri büyük ölçüde bilinmemektedir ve makrokoklar hakkında az sayıda çalışma yapılmıştır [20].

Bu türün ilk tanımı 1916 yılında Evans tarafından inek sütünden izole edilerek yapılmıştır. Bu tür yeteneği ile karakterize edilerek sütü hızlı ve tamamen peptonize ettiği için “*caseolitikus*” (kazein çözücü) ismi önerilmiştir. *M. caseolyticus*' un ilk tarif edilen türü olarak sütün bir kirletici maddesi olarak izole edilmiştir [21].

Staphylococcus caseolyticus olarak sınıflandırılan *M. caseolyticus* sığır, keçi, at, midilli derisinde, balinalar, yunuslar ve et ürünlerinden izole edilmiştir [22].

Staphylococcus caseolyticus olarak sınıflandırılan *M. caseolyticus*' un inek sütü, sığır organları ve gıda işleme fabrikalarından izole edildiği bildirilmiştir. 16S rRNA dizilerine dayanan filogenetik ilişki analizi, *Staphylococcus*'a ek olarak, *Bacillus* türlerinin de *M. caseolyticus* ile yakından ilişkili olduğunu ortaya koymuştur [23].



Resim 2.1. Gram pozitif bakteriler arasında filogenetik ilişkiler [23].

Günümüz bakteri cinsleri arasında *Macrococcus*’lar *Staphylococcus* cinsiyle en yakından ilişkili olanıdır. Tarihsel olarak stafilokok ailesinden belirgin olarak, daha küçük genom büyüklüğüne sahiptir. Kendi cinsine *Macrococcus* identifiye edilene kadar Stafilokok cinsine dahil edilerek sınıflandırılmış *Staphylococcus caseolyticus* olarak isimlendirilmiştir [24].

Günümüzde ise *Macrococcus* cinsine yedi tür dahil edilmiştir:

1. *Macrococcus bovicus*
2. *M. carouselicus*
3. *M. caseolyticus*
4. *M. equipercicus*
5. *M. brunensis*
6. *M. hajekii*
7. *M. lamae*

2.5. *Hafnia alvei* ‘nin Genel Özellikleri

Hafnia cinsinde bulunan organizmaların ilk ne zaman izole edildiği konusu, bazı spekülasyonlar ve tartışmaların konusudur. 1919 yılında L. Bahr, arılar için patojenik olduğunu düşündüğü “*Bacillus paratyphi-alvei*” adını verdiği bir bakteri üzerinde çalışmalar yapmıştır. Daha sonra Moller 1954 yılında bakteriyi tekrar karakterize etmiştir [25].

Hafnia sistematik araştırmalarda *Enterobacteriaceae* familyasının üyeleri arasında isimlendirilmiştir. Bazı araştırmacılar L. Bahr’ın izolatlarının bazı biyokimyasal özelliklerde Moller tarafından izole edilenlerden farklı olmasından dolayı bu türün taksonomik isimlendirilmesini sorguladılar. Ancak Moller, L. Bahr’ın türünün *Hafnia* cinsini türü olarak görülmesi gerektiğini savunmuştur ve *Hafnia alvei* adını alması gerektiğini önermiştir [25].

Hafnia alvei’nin “alvei” anlamı Latince arı kovanı anlamına gelen “*Alveus*” kelimesinden türetilmiştir. Bununla birlikte, *H. alvei* bal arılarının bağırsaklarından (*Apis mellifera*) ve baldan izole edilmiştir [26].

H.alvei abdominal ve peritoneal apse örneklerinden sıklıkla izole edildiğinden insanda normal enterik flora elemanı olduğu düşünülür [27].

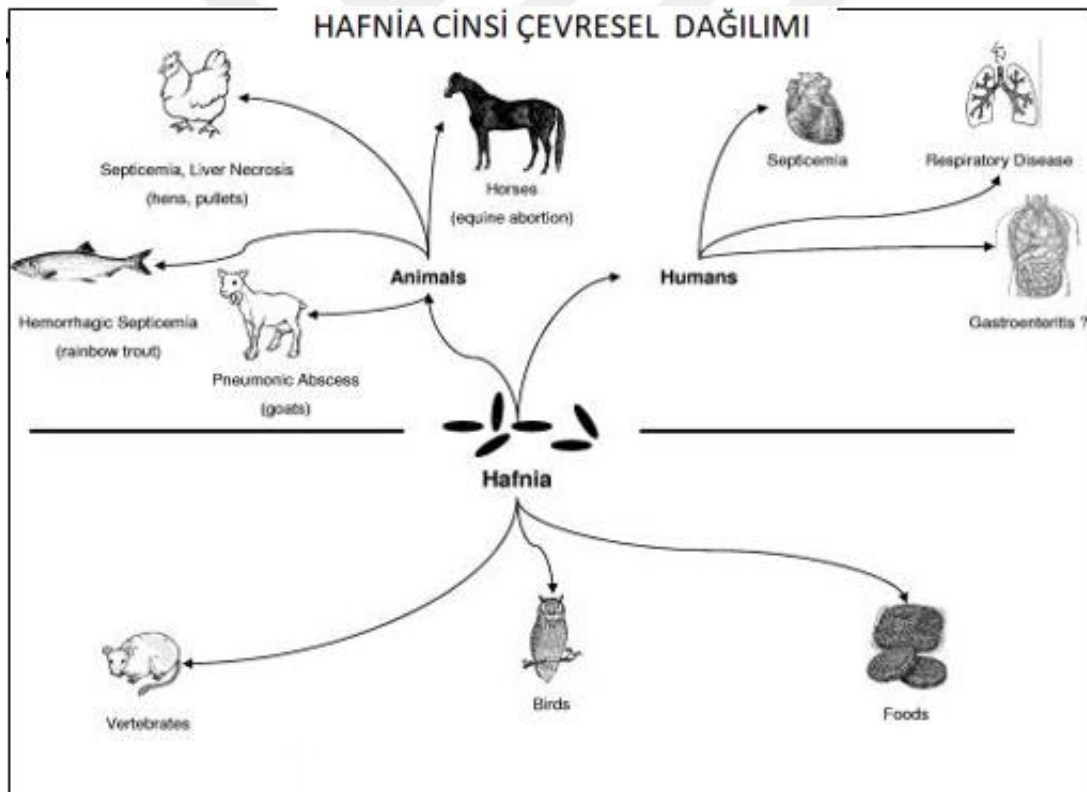
Enteropatojenik *Escherichia coli*’de bulunan *eae* geni, *H.alvei*’de bulunmaktadır. Çeşitli klinik infeksiyonlarla ilişkilendirilen *H.alvei* türünün neden olduğu sepsis, menenjit, endokardit, pnömoni, endoftalmit, üriner sistem infeksiyonu, diyare, nekrotizan enterokolit, postoperatif yara infeksiyonları tespit edilmiştir [28].

Enterobacteriaceae ailesinin bir üyesi olan *Hafnia* cinsi, zaman zaman insanlarda hem bağırsak hem de bağırsak enfeksiyonlarında rol oynayan gram negatif bakterilerden oluşur. DNA ile ilgili ve 16S rRNA gen sıralama çalışmalarına dayanarak daha geniş filogenetik derinlik (iki veya daha fazla tür) görülmektedir. *Hafnia*, sepsis ve zatürree gibi çeşitli sistemik enfeksiyonlara neden olurlar, gastrointestinal patojen olarak rolü hala tartışma konusu olmuştur [29].

Hafnia, çevrede bitki ve gıdaların yanı sıra memelilerin gastrointestinal kanallarında bulunan yaygın bir gram negatif bakteri cinsidir. Mikroorganizmalar kanalizasyon sularında ve toprakta bulunur, ayrıca insanlarda orofarinkste kolonize olabilir [30].

Hafnia üyeleri genellikle insanların ve hayvanların (memeliler, kuşlar, sürüngenler, balıklar ve böcekler dahil) gastrointestinal kanalından ve gıdalardan (et ve süt ürünleri dahil) izole edilir [31].

Hafnia' lar bir dizi hayvan enfeksiyonlarıyla ilişkilidir. Bakteriyemi, gastroenterit, solunum yolu enfeksiyonları vakalarında ve insan klinik örneklerinden izole edilmişlerdir. İnsan veya hayvan patojenleri olarak durumları tartışmalıdır, çünkü bu organizmalar genellikle enfeksiyon alanındaki diğer patojenler birlikte bulunurlar [31].



Resim 2.2. *Hafnia* cinsi ve çevresel dağılımı [31]

2.6. *Staphylococcus aureus* Gıda İlişkisi

Staphylococcus aureus insan ve hayvanların normal mikrobiyotalarında bulunan genelde zararsız olan fırsatçı patojendendir. Ana habitatları insan ve hayvanların deri, deri bezleri

ve mukoz membranlarıdır, birçok türü de gıdalar ve insan sağlığı için önem arz etmektedir. Hayvanlarda mastitits, kene ateşi, periorbital ekzama, osteomiyelit, artrit gibi, insanlarda solunum rahatsızlıkları, dolaşım sistemi rahatsızlıkları, gıda zehirlenmeleri, artrit, osteomiyelit gibi yaşamı tehdit eden hastalıklara yol açmaktadırlar [32].

S. aureus, dünyada en sık görülen gıda kaynaklı hastalık olan gıda zehirlenmelerine sebep olan en önemli stafilokok türüdür. Bu bakterinin virülans faktörlerinden biri olan ısıya dayanıklı enterotoksin, hayvan veya insanlardan, et ve süt ürünleri gibi hayvansal gıdalara, üretim, işleme veya saklama aşamalarında bulaşan bakterinin aşırı çoğalması sonucu üretilmekte ve ciddi gıda intoksikasyonlarına sebebiyet vermektedir [33].

Koagülaz negatif stafilokok (KNS) türlerinden *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* ve *S. haemolyticus* en iyi bilinen insan patojenleridir ve çeşitli deri ve idrar yolu enfeksiyonlara kaynak oluşturmaktadırlar. Bunun dışında kalan birçok KNS türü gıdaların normal kontaminatları olarak güvenli kabul edilmektedir. Hatta peynir ve fermente gıda ürünlerine renk ve aroma vermesi açısından başlangıç kültürlerinde eklenmektedirler [34].

Antimikrobiyal ajanların hayvancılıkta tedavi, korunma ve büyüme faktörü olarak aşırı kullanılmasının, antibiyotik dirençli bakterileri taşıyan ve yayılımına neden olan hayvan kaynakları oluşturacağı belirtilmektedir. Stafilokoklar patojenitelerinin yanında hızla antibiyotik direnci kazanmaları dolayı insan ve hayvan sağlığı için tehlike oluşturmaktadırlar. Antibiyotik direncinin, plazmid ve transpozonlar gibi hareketli genetik materyallerle farklı cins ve türler arasında aktarıldığı ve gıdaların dirençli bakteriler açısından ciddi bir rezervuar oluşturduğu bilinmektedir [35].

Son yıllarda stafilokokların da içinde bulunduğu birçok gıda kaynaklı bakterinin antibiyotik direncinin gıdalarda yayılımına sebep olduğu rapor edilmiştir [36].

Stafilokok toksini enterotoksindir ve gastroenteritise sebep olur. Sağlıklı bir insanda toksin etkisinin görülmesi için bir gram veya mililitresinde 10^6 veya 10^7 canlı hücrenin üretilmiş olduğu, 100-200 ng toksin içeren yaklaşık 30 gram gıdayı tüketmesi gerekir. Çocuklar, yaşlılar ve hastalarda bu oranlar daha düşüktür. Toksin bu şekilde vücuda alındıktan sonra midedeki vagus sinirlerini uyararak şiddetli şekilde kusmaya neden olur [15].

Semptomlar tüketiciye ve tüketilen toksin miktarına göre 30 dakika ile 8 saat aralığında görülür, bu süre tamamıyla toksin miktarına etki derecesine ve kişinin direncine bağlıdır. Semptomlar bir veya iki gün içinde sona erer, genelde ölümcül değildir [15].

S. aureus ' un enterotoksininin intoksikasyon mekanizması

1. Pişmiş veya proses edildikten sonra *S. aureus* ile kontamine gıda maddesi
2. Gıdada çoğalma sırasında enterotoksin (ısıya dayanıklı üretilmesi)
3. Gıdaların yenilmesi
4. Toksinin midedeki vagus sinirlerini etkilemesi
5. 1-6 saat içinde kusmanın tetiklenmesi

Toksinin otonom sinir sistemini uyarmasıyla ağızda sulanma mide bulantısı ve kusma, alt abdominal krampları ve ishal ilk semptomlar olarak görülür. Terleme, ürperme, baş ağrısı ve su kaybı ikincil semptomlar olarak ortaya çıkar. Zehirlenme olaylarında semptomlar ve neden olduğu problemler kişilere göre farklılık gösterebilir [15].

2.7. *Salmonella* spp. Gıda İlişkisi

Dünya genelinde *Salmonella*'nın neden olduğu tifo vaka sayısı yılda 16 milyon gastroenteritis vaka sayısı ise 1,3 milyardır. Vakalardaki ölüm sayısı ise 3 milyon dolaylarındadır. Günümüzde yapılan son çalışmalarda, Dünya da 93,8 milyon insanda *Salmonella* enfeksiyonu görüldüğü ve bunların 155 bininin ölümle sonuçlandığı bildirilmiştir [37].

1940' lı yıllardan önce *Salmonella enterica* serovar *Typhi* ve *Salmonella enterica* serovar *Paratyphi*, insanlarda *Salmonella*'nın yol açtığı dünya çapındaki gıda ve su kaynaklı hastalıkların ana nedenleri olarak görülmekteydi. Ancak sütün pastörizasyonu ve su kaynaklarının klorlanması ile birlikte tifo ve paratifonun gıda ve su aracılığıyla yayılması, en azından gelişmiş ülkelerde büyük ölçüde azalmasına yol açmıştır. Gıda ve çevresel örneklerden diğer *Salmonella* izolatlarının izole edilip tanımlanması için etkin teknikler geliştirilince, bunların yol açtığı gıda kaynaklı salmonellozun dünyadaki görülme sıklığının oldukça yüksek olduğu anlaşılmıştır [15].

1950'lerden bu yana, hem oluş sıklığı hem de vakaların sayısı göz önüne alındığında, gıda kaynaklı salmonellozun, patojen bakteri ve virüslerin yol açtığı tüm gıda kaynaklı hastalıklar içinde en önemlisi olduğu anlaşılmıştır. Yaşam alanları, gıdaya taşınma biçimleri, gelişme karakteristikleri ve canlı kalma parametreleri ile ilgili günümüzde bilimsel bilgiler mevcut olmasına ve gıdalara olan bulaşmaların kontrolü için yeni yöntemler geliştirilmiş olmasına rağmen, gıda kaynaklı salmonelloz, halen Amerika ve diğer gelişmiş ülkelerde tüm gıda kaynaklı mikrobiyal hastalıklar arasında başta gelmektedir. *Salmonella* 'nın her yıl ABD de 1,2 milyon hastalığa neden olduğu, bunların 23,000 hastanede tedavi gördüğü, 450 sinin ölümle sonuçlandığı tahmin edilmektedir [15].

2000-2009 yılları arasında bazı patojen bakterilerin rastlanma sıklığı düşerken, çoğu giderek artan bir eğilim göstermiştir. *Salmonella Typhimurium* un rastlanma sıklığı %51, *Agona* 'nın %48, *Heidelberg* 'in %33 ve *Thompson* 'ın %33 azalırken diğer bazı serotiplerin örneğin *Newport* ' un %64, *Oranienburg* ' un %39 *Enteritidis* %32 ve *Javiana* 'nın % 120 artmıştır [17].

Çizelge 2.1. 2000-2009 yıllarında ABD de gıda kaynaklı hastalıkların rastlanma oranları

Bakteriler	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
<i>Campylobacter spp</i>	15,7	13,8	13,37	12,6	12,9	12,72	12,71	12,79	12,68	13,2
<i>L.monocytogenes</i>	0,3	0,3	0,27	3,3	2,7	0,3	0,31	0,27	0,29	0,34
<i>Salmonella spp.</i>	14,4	15,1	16,10	14,5	14,7	14,55	14,81	14,92	16,20	15,19
<i>Vibrio spp.</i>	0,2	0,2	0,27	3,0	2,8	0,27	0,34	0,24	0,29	0,36
<i>Y. enterolitica</i>	0,4	0,4	0,44	4,0	3,9	0,36	0,35	0,36	0,96	0,32
<i>Shigella spp.</i>	7,9	6,4	10,34	7,3	5,1	4,67	6,09	6,26	6,59	3,99

Salmonella enterica subsp. enterica, gıda kaynaklı salmonelloz ile sık olarak ilişkilendirilen pek çok serotip içerir. 2000' den fazla serotipin yalnızca ikisi, Typhimurium ne Enteritidis serotipleri, dünya çapında yüksek sıklıkla görülmektedir. Son salgınlarda *Salmonella enterica* serotiplerine ait en çok karşılaşılan 20 serovar ABD Hastalık Kontrol ve Önizleme Merkezi (CDC) tarafından belirlenmiştir [17].

Çizelge 2.2. Salgınların büyük çoğunluğuna yol açan ilk yirmi *Salmonella enterica* serotipi

Sıra	Serotip	Yüzde
1	<i>Enteritidis</i>	17,5
2	<i>Typhimurium</i>	15,0
3	<i>Newport</i>	9,3
4	<i>Javiana</i>	4,9
5	<i>Heidelberg</i>	3,5
6	<i>Montevideo</i>	3,1
7	<i>I 4,[5],12:ī:-</i>	2,4
8	<i>Oranienburg</i>	2,2
9	<i>Saintpaul</i>	2,1
10	<i>Muenchen</i>	2,0
11	<i>Braenderup</i>	1,8
12	<i>Infantis</i>	1,6
13	<i>Thompson</i>	1,2
14	<i>Mississippi</i>	1,1
15	<i>Paratyphi B</i>	1,1
16	<i>Typhi</i>	1,1
17	<i>Agona</i>	1,0
18	<i>Schwarzengrund</i>	0,9
19	<i>Bareilly</i>	0,7
20	<i>Hadar</i>	0,7
	Diğer	27,2
	Toplam	100

Gıda kaynaklı Salmonelloz, ağırlıklı olarak ishal ve karın ağrısı ile kendini gösteren gastrointestinal rahatsızlıklar ile karakterize edilir. Enfeksiyonun başlaması için alınması gereken doz $>10^{2-3}$ hücredir, ancak daha az sayıda hücrenin hastalığa yol açtığı virülans suşlarda mevcuttur. Mide asitliğine duyarlı suşların, bağırsaklara yerleşmek ve hastalığa yol açmak için genellikle daha fazla hücreye gereksinim vardır. Diğer taraftan aside dirençli suşların hastalığa neden olabilmesi için daha az sayıda hücre yeterlidir. Patojen mide asitliğini nötralize eden süt ve peynir gibi gıdalarla tüketildiğinde enfeksiyon dozu düşüş gösterir. Hastalığın ilerleyişi, aynı zamanda, konağın fizyolojik durumuna da bağlıdır. Mide Ph değeri yüksek olan yaşlılar, salmonelloza daha kolay yakalanırlar [15].

Patojen, gıdanın tüketilmesinden sonra ince ve kalın bağırsakta kolonize olur. Patojenik lezyonların çoğunun, ince değil kalın bağırsakta bulunduğu bildirilmiştir. Organizma, fimbria ve diğer yapışma faktörleri kullanarak mukoza hücrelerine yapışır, mukoza

hücrelerini aktif biçimde istila eder. Bakteriler, ayrıca ince bağırsaktaki lokalize lenfoit doku olan Peyer plaklarındaki M hücreleri yoluyla da vücuda girebilir [15].

Salmonella, epitel hücreler, makrofaj ve nötrofiller içerisinde çoğalır ve sonunda hücrelerin lisize olmasına neden olur. Bunu sonucunda da enfeksiyon bölgesinde iltihap ve şiddetli ödem meydana gelir. Nötrofil gibi iltihaplı hücreler ve harekete geçirilen makrofajlar, prostaglandin salgılayarak mukozal hücrelerde siklik adenosin monofosfat (cAMP) artışına neden olur. Na^+ tutulumunu ve Cl^- iyonlarının salımını engeller. Bu şekilde elektrolit dengesizliği sıvı kaybını hızlandırarak ishale neden olur. *Salmonella* 'nın yol açtığı ısıya dayanıklı sitotoksik faktöründe iltihap ve doku hasarına neden olarak sıvı ve elektrolit kaybıyla sonuçlandığı düşünülmektedir. Enretoksin üretimi, patojenlerin çoğalma hızıyla doğrudan ilişkilidir [15].

Belirtiler 8-42 saat arasında, genellikle 24-36 saat aralığında ortaya çıkmaya başlar. Normalde 2-3 gün süren belirtiler, bazı kişilerde daha uzun devam edebilir. İyileştikten aylar sonra dahi taşıyıcı bireyler mevcuttur [15].

Patojenle bulaşmış aynı gıdayı tüketen tüm kişiler söz konusu belirtileri göstermeyebilir ya da tüm belirtiler aynı yoğunlukta sergilenmeyebilir. Kişinin sağlık ve doğal direnç durumuna göre belirtiler farklılık gösterir. Genel belirtiler arasında, mide krampları, ishal, mide bulantısı, kusma, üşüme, ateş ve halsizlik yer alır. Hastalık özellikle sağlıklı olmayanlar, bebekler ve yaşlılar için ölümcül olabilir [15].

2.8. Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight (MALDI TOF)

Van Veen ve arkadaşları 2010 yılında mikrobiyoloji laboratuvarında yaptıkları çalışmada hem bakterilerin hem de maya türlerini büyük bir doğruluk oranı ile tespit etmişlerdir. MALDI TOF' un tür tanımlamada doğruluk saptama oranı (%92) iken, klasik biyokimyasal testlerin tür tanımlama doğruluk saptama oranını (%83)'tür. Bu oranlar bakteri ve maya tanımlamada MALDI TOF' u diğer tanımlama metodlarına göre daha avantajlı hale getirir. MALDI TOF, dezorpsiyon, iyonizasyon ve time of flight olarak 3 kısımda incelenebilir [38].

Matriks: örneğin karıştırıldığı, molekülleri iyonize eden kimyasal zayıf asit çözeltisidir. Matriks maddesi, hidrojen iyonlarını (H^+) mikroorganizmanın hücrelerden gelen moleküllere ileterek mikroorganizmanın artı (+) yüklü hale geçmesini sağlar. Kolayca proton hidrojen iyonlarını (H^+) mikroorganizmanın hücrelerine verir. Lazer ışığını tutup, ortamın ısı derecesinin artmasını sağlar. Ortamın ısı derecesinin artması moleküllerin buharlaşması ve yüzeyden ayrılmasını sağlar [38].



Resim 2.3. MALDI kütle spektrometresi için örnek hedef [39]

Lazer: Mor ötesi ışınlar

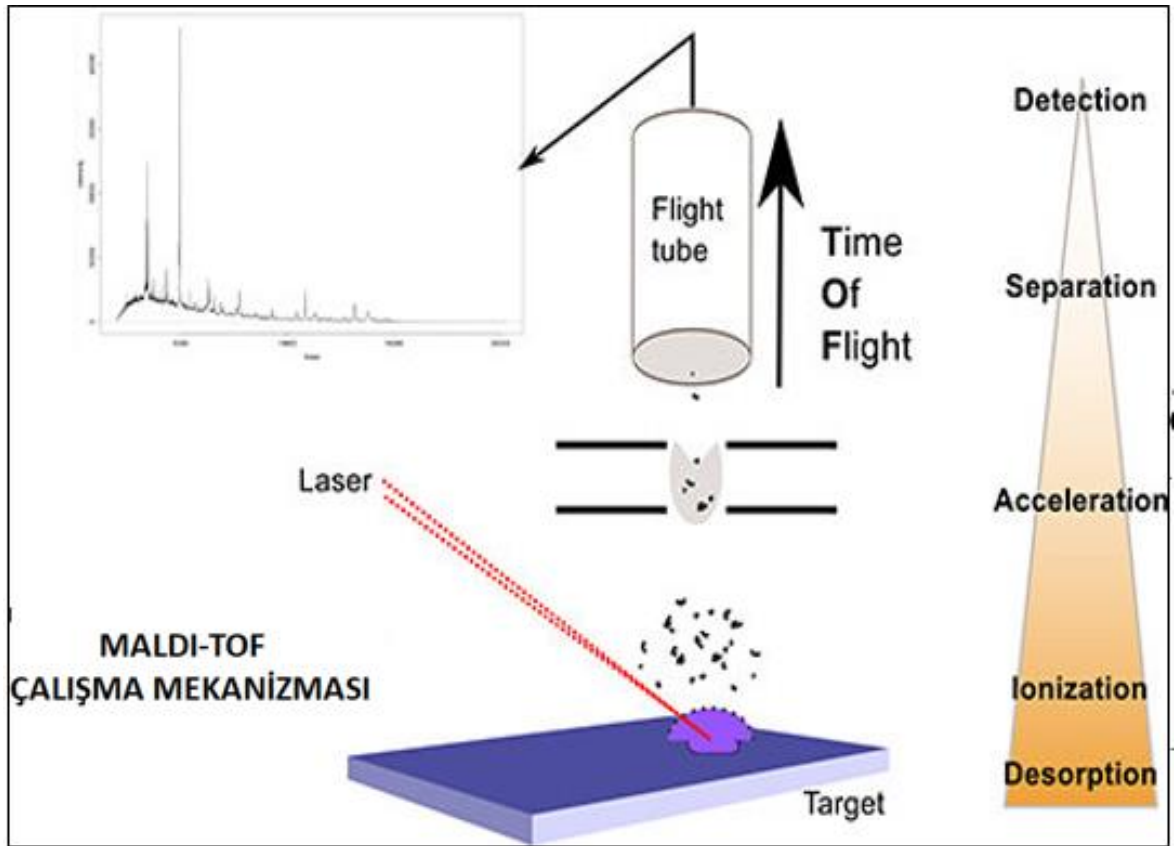
Dezorpsiyon: Mikroorganizma moleküllerin lazer ile ısıtılıp buharlaştırılarak yüzeyden ayrılması.

İyonizasyon: Mikroorganizma moleküllerin matriks kimyasalından proton alarak yüklü hale gelmesi.

İyonizasyon lazer (morötesi) ışınlar ile sağlanır. Diğer iyonizasyon yöntemleri DNA, protein gibi biyopolimerleri parçalayabildiğinden, MALDI TOF yöntemi yumuşak bir iyonizasyon yöntemi olarak değerlendirilir. MALDI TOF, moleküllerin bütünlüğünün korunması ve incelemenin güvenilirliği açısından daha çok avantaj sağlar.

Time of Flight: Örneklerin yüzeyden algılayıcıya kadar uçtuğu sırada geçen süredir.

İyonize olup havalanan mikroorganizma molekülleri cihazın tüpü içerisindeki yüksek elektrik geriliminden dolayı bulundukları yüzeyden algılayıcıya doğru hızlanma eğilimi gösterirler. İncelenen mikroorganizma moleküllerinin, ağırlığı ne kadar az ise hızlanma o kadar fazla, algılayıcıya ulaşma süreside o kadar kısa olur. Mikroorganizma moleküllerinin uçuşu sırasında hava molekülleri ile çarpışmasını önlemek için incelemenin yapıldığı tüpün içindeki hava boşaltılarak vakum oluşturulur [40].



Resim 2.4. MALDI TOF kütle spektrometresi çalışma mekanizması [41]



Resim 2.5. MALDI TOF kütle spektrometresi cihaz görüntüsü [Serdar Coşkun 2019]

2.9. Gıda Patojenlerinin Antibiyotik Direnci

Antibiyotik direnci; bir bakteri türünün bazı izolatlarının antibiyotikten etkilenmemesi ya da antibiyotiğe duyarlı bir izolatın çeşitli direnç mekanizmalarından biri ile dirençli hale dönmesi olarak tanımlanmaktadır. Günümüzde çeşitli antibiyotiklerin toplumumuzda tüketiminin artması, immün sistemi bozulmuş hastaların sayısında artış olması, yoğun bakım ünitelerinin sayısında da artış olması, gıda endüstrisinde gereksiz antibiyotik kullanımında artış, gibi nedenlerle bakterilerdeki antibiyotik direnci giderek artmaktadır [43].

Bakteriler, antibiyotiklere karşı doğal (intrinsik) olarak dirençli olabilmektedir. Bu direnç türü bakterilerin temel özelliğidir. Gereksiz antibiyotik kullanımı ile ilişkili ve genetik faktörlerle sağlanan direnç değildir. Doğal direnç, bakterilerin tür özelliğinden dolayı antibiyotiğe hedef olan yapıyı tanınamalarının veya antibiyotiğin yapısal bir özellikten dolayı hedefine gidememesinin doğal bir sonucu olarak görülmektedir. Antibiyotiğin dış membrandan geçememesi nedeni ile Gram negatif bakterilerin vankomisine doğal direnç göstermeleri veya bakterilerin L formları ve Mycoplasma'lar gibi çepersiz mikroorganizmaların penisilin gibi hücre duvar sentezi inhibitörlerine doğal direnç göstermesi örnek gösterilebilir. Metabolik olarak inaktif durumda olan bakteri sporları

doğal dirençlidir. Çünkü antibiyotiklerin etki göstermesi için bakterilerin aktif üreme döneminde olması gereklidir [43].

Diğer bir direnç yolu ise kazanılmış dirençtir. Mikroorganizmalar genetik özelliklerindeki değişimlere bağlı olarak duyarlı olduğu bir antimikrobiyal ajandan etkilenmeyebilir. Bu durumda o mikroorganizma direnç kazanmış olur [44].

Genetik kaynaklı direnç kromozomal veya kromozom dışı elemanlara bağlı olabilir. Kromozomal direnç, bakteri kromozomunda kendiliğinden (spontan) oluşturulan mutasyonlar sonucu ortaya çıkmaktadır. Spontan mutasyonlar bazı fiziksel ve kimyasal faktörlerle oluşabilir ve sonuçta bakterinin hücre yapısında bazı değişimlere neden olmaktadır. Bakterinin antibiyotiklere karşı permeabilitesi azalabilir veya hücre içinde antibiyotiklerin hedefinde değişikliklere sebep olabilmektedir. Streptomisin, aminoglikozid, eritromisin, linkomisine karşı bu tür direnç görülmektedir. Ekstrakromozomal direnç, çeşitli yollarla aktarılan plazmid, transpozon ve integronlara bağlıdır [44].

Mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesi evrensel bir sorun olup, özellikle hastane enfeksiyonların da tedaviyi zorlaştıran, mortaliteyi ve tedavi maliyetlerini artıran önemli bir etkidir. Gram pozitif bakterilerdeki direncin çok hızlı yayılması özellikle yoğun bakımlarda, kullandığı antibiyotiklerin hepsine karşı dirençli bakterilerin ortaya çıkmasına yol açarak son derece tehlikeli gelişmelere neden olmaktadır.

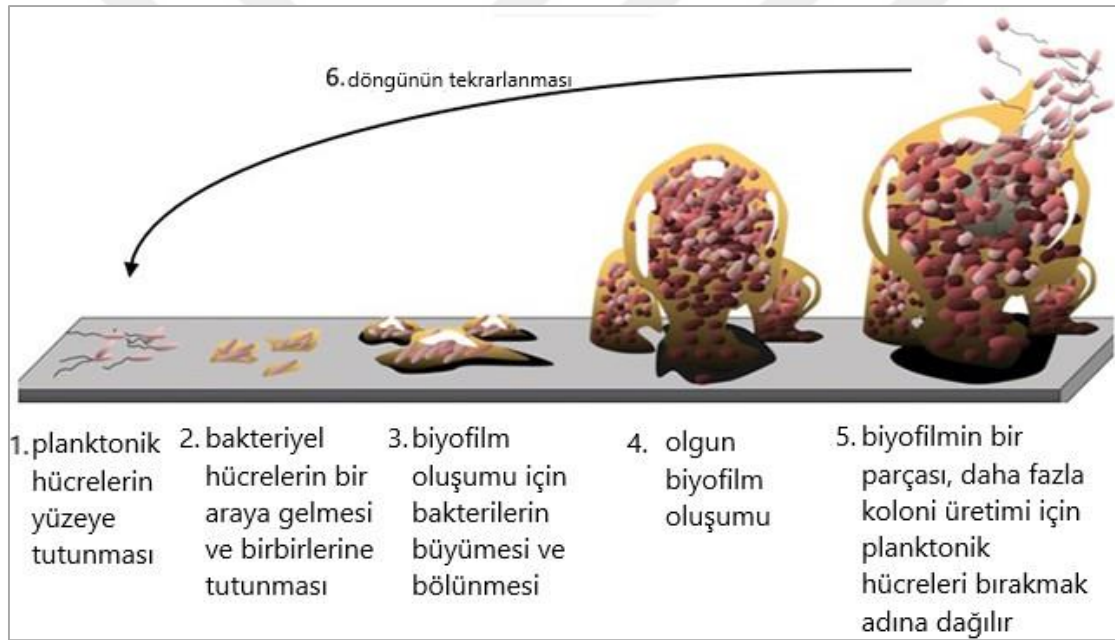
Salmonella’larda ve *Staphylococcus*’larda antibiyotiklere karşı direnci intrinsik ya da kazanılmış direnç olabilir. Plazmidler, transpozonlar ve kromozomlar üzerindeki direnç genlerine bağlı olarak kazanılmış direnç ve mevcut direnç genlerinin farklı tür ve cinsteki bakterilere aktarılabilmesi söz konusudur. Bu mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kliniklerde en çok karşılaşılan sorunların başında gelmektedir.

2.10. Biyofilm

Katı bir yüzeye temas eden bir mikrobiyal bir hücrenin (bakteri, maya, küf) normal eğilimi yüzeye tutanarak diğer mikrobiyal hücrelerle yer ve gıda temini için rekabet edebilmek ve uygun olmayan çevre koşullarına dayanabilmektedir. Katı yüzey biyotik ve

abiyotik oluşur. Biyotik yüzeye et, meyve ve benzerleri örnek gösterilirken, abiyotik yüzeye yer zeminleri, duvarlar, borular, kanallar ya da gıda maddesinin temas ettiği yüzeyler taşıyıcılar, contalar, kasalar örnek verilebilir [45].

Uygun koşullar altında mikrobiyal hücreler, kendi yeteneklerine bağlı olarak ürettikleri hücre dışı polisakkarit sayesinde yüzeylere tutunabilir. Hücreler çoğaldığı zaman, yüzeyde mikrobiyal hücre topluluğunu içeren biyofilm hücre dışı polimerik yapı ve hapsolmuş atıkları içeren üç boyutlu iskele bir yapı oluşturur. Ekzopolisakkarit yapı polisakkarit-glikokaliks, proteinler, fosfolipitler, teikoik ve nükleik asitler ve diğer polimerik maddelerden oluşur [46].



Resim 2.6. Bakterilerin biyofilm oluşturma mekanizması [47]

Hücreler, bazı koşullarda biyofilm oluşturmak yerine yüzeyler ve diğer hücrelerle temas etmek için fimbriyalarıyla tutunabilirler. Biyofilmler tek bir türden ya da bir türün baskın olduğu karışık kültürlerden oluşur. Yapılan sınırlı çalışmalarda *Salmonella* spp. ve *S. aureus* 'un et ürünlerinin yüzeylerinde biyofilm oluşturduğu saptanmıştır [48].

Bir biyofilmin yaşam döngüsü çok sayıda aşamadan oluşur.

1. Tutunma
2. Mikrokoloni ve hücre yığını oluşumu

3. Olgunlaşma
4. Dağılma

Tutunma iki aşamadan oluşur. Geri dönüşümlü olan ilk aşamada serbest biçimde yüzen planktonik hücre Wander Waals bağları ve elektrostatik kuvvetler gibi zayıf bağlarla bağlanır. İkinci aşamada hücre kendi dış yüzeyini bir gıda (biyotik) veya bir ekipman (abiyotik) yüzeye bağlamak üzere EPS molekülleri üretir bu işlem geri dönüşümsüzdür. Tutunmanın yanında EPS nin biyofilm için birçok görevi vardır [49].

Çizelge 2.3. Hücre dışı polimerik maddelerin (EPS) biyofilmdeki görevleri

GÖREV	BİYOFİLM İLE İLGİSİ
Tutunma	Katı yüzeye ilk tutunma ve koloni oluşturma
Hücrelerin oluşturulması (yığın)	Hücreler arası köprü oluşumu, hücre yoğunluğundaki artış, hücreler arası iletişim
Biyofilmlerin birleşimi	Sulu polimer ağı oluşturma, mekanik dayanıklılık, üç boyutlu yapı
Suyun tutulması	Sulu mikro çevre sağlama, kurumaya karşı direnç
Koruyucu bariyer	Antimikrobiyal ajanlara, antibiyotiklere, biositlere
Organik ve inorganik maddelerin bileşenlerin tutulması	Besinlerin yığılması
Enzimatik aktivite	Besin temini için dış kaynaklı makromoleküller
Besin kaynağı	Karbon, azot ve fosfor kaynağı
Genetik alışveriş	Biyofilm hücreleri arasında gen transferi

Patojenlerin taze meyve ve sebzelere sıkı biçimde tutunmaları, yıkama ve temizlemeye karşı dirençli olmalarının, ürün kaynaklı salgınların artışında sorumlu oldukları düşünülmektedir. *Escherichia coli*' nin marul, brüksel lahanası ve ıspanağın kenarlarına, girintilerine, zarar görmüş dokularına tutunduğu bilinmektedir. *Salmonella enterica* nın domates, kavun ve elmaların zarar görmüş ve sağlam kabuklarında, kişnişin zarar görmüş yapraklarında varlığı tespit edilmiştir [49].

Çoğu bakteri doğal veya abiyotik yüzeylerle ilişkilidir ve serbest hücrelerden ziyade biyofilm olarak büyür. Biyofilmler, yüzeylerde oluşan ve doğada bulunan

mikroorganizmalar için yaygın bir büyüme şekli olan bir ekzopolimerik manto içinde (dış-polimerler ve hücre dışı enzimler) bulunan mikroorganizmaların ortak yapılarıdır. Biyofilmlerdeki bakteri hücreleri, çeşitli mekanizmalar ile biyositlere ve antibiyotiklere karşı artan direnç gibi serbest hücrelerden farklı özellikler göstermektedir. Bu mekanizmalar; hücre dışı polimerik matriks nedeniyle aktif moleküllerin biyofilm boyunca difüzyonunun azaltılması, biyofilmde yüksek bakteri konsantrasyonu olması, fizyolojik durumun modifiye edilmesi: azalmış metabolizma ve büyüme hızı, porin sentezinin azalması ile membran geçirgenliğinin değiştirilmesi, çok ilaca direnç operonlarının ve efluks pompalarının indüksiyonu, antimikrobiyal bileşikleri parçalayan enzimlerin aşırı üretimi ve pasifleşme (dormansi) dir [51].

Biyofilm tabakası ile bakteriler, doğal immun mekanizmaların etkilerinden korunur. Biyofilm maddesi, bakterinin makrofajlar tarafından inhibe edilmesini önler. Bakterilerin gruplar halinde polisakkarit matriks içinde bulunmaları, fagosit edilmelerini güçleştirir ve bağışıklık sistemi hücrelerinin bakterilere ulaşmaları engellenir. Kronik enfeksiyonlara biyofilm tabakasının bu özelliklerinin neden olduğu bilinmektedir. Ayrıca biyofilm oluşturabilen mikroorganizmalar oksijen radikalleri, dezenfektanlar, antibiyotiklere karşı da dirençlidir. Biyofilm bakterilere antibiyotik direnci kazandırabilir ve antibiyotiklerin girişini engelleyebilir [51].

2.11. Slime Faktör

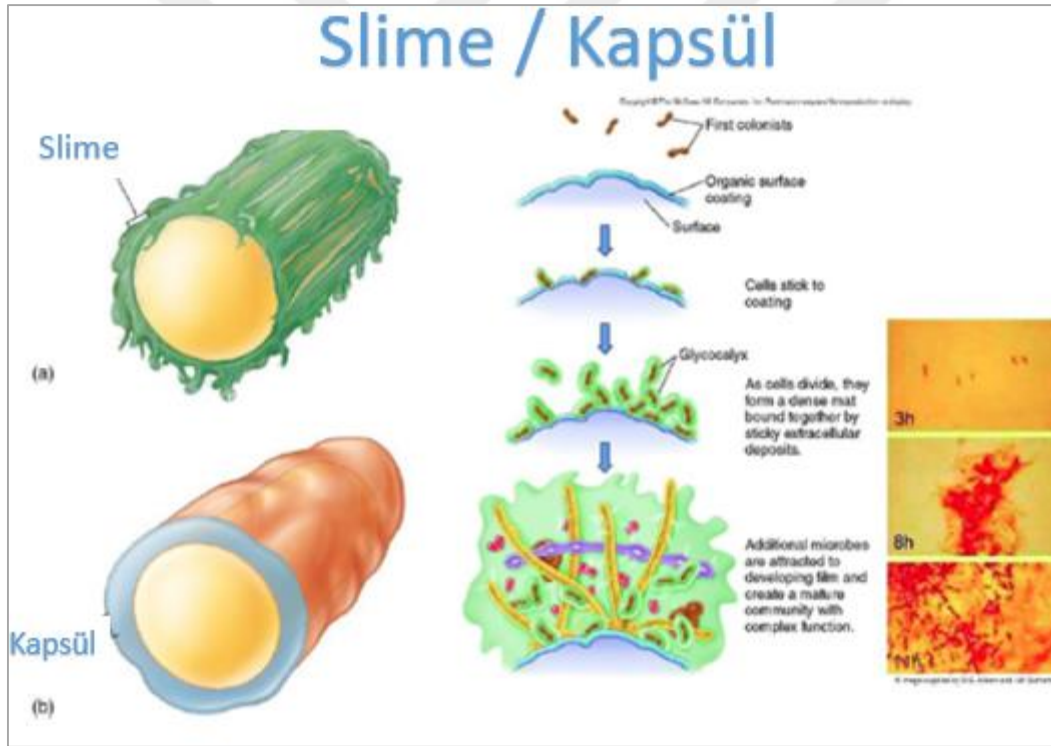
Slime faktör; kapsül benzeri sümüksü bir glikokaliks yapısıdır. Karbonhidratlar ve protein yapılarından oluşmaktadır. Slime faktör plastik ve metal yüzeylere yapışmayı sağlayan, bakterilere antifagositer özellik kazandıran, antibiyotiklere karşı direnç oluşturur [52].

Slime faktör, koagülaz negatif stafilokok (KNS) lerin oluşturduğu enfeksiyonlarında ayrıntılı biçimde incelenmiş ve mikroorganizmanın virülansını artırdığı saptanmıştır. Slime faktör, mikroorganizmayı konağın savunma mekanizmalarına karşı direnç göstermesini sağlar. Bu yüzden slime faktör önemli bir virülans etkenlerden biridir [53].

Slime faktörü bazı özellikleriyle de kapsüle benzemektedir. Ancak belirgin bir şeklin olmaması, mukopolisakkarid yapısında olması, her türlü katyonik boyalarla boyanması, en

az 50000 dalton molekül ağırlığına sahip olması ve daha kuvvetli adherans özelliği göstermesi ile kapsülden farklılıklar gösterir [54].

Slime üretimi kommensal *Staphylococcus*'larda da görülmekle beraber, klinik anlamlı yabancı cisim enfeksiyonu yapan koagülaz negatif stafilokok (KNS) lerde çok daha yaygındır. Slime üretimi ile, klinik anlam taşıyan enfeksiyon arasında, istatistiksel açıdan önem taşıyan ilişki olduğu gösterilmiştir. Genel olarak *Staphylococcus*'lar tarafından slime üretimi aerobik ortamda, anaerobik ortama göre daha fazla olmaktadır. Slime üretimi önemli bir virülans faktörü olarak görülmektedir. Slime üreten izolatlarla oluşan yabancı cisim enfeksiyonlarının eradikasyonu, slime oluşturmeyen izolatların oluşturduğu enfeksiyona göre daha güç olmaktadır [55].



Resim 2.7. Bakterilerin slime oluşturma mekanizması [56]

Slimenin değişik biyolojik etkileri mevcuttur. Yabancı cisim varlığında, slime üreten *Staphylococcus epidermidis* izolatları, Slime üretmeyen izolatlara göre bazı antibiyotiklere karşı daha dirençlidirler. Önceleri, slimenin fiziksel bir engel oluşturarak bakterinin bulunduğu bölgeyi kazandığı ortaya konmuştur. Slime insan mononükleer hücrelerinin poliklonal uyarıcılara karşı normalde oluşan çoğalma cevabını baskılayarak, hücresel immün cevabı azaltmaktadır [57].

Slime, nötrofillerin fagositoz yapabilmesini engellemekte, kemotaksis ve antibiyotiklerin ulaşmasını önlediği düşünülmüştür. Ancak, daha sonra yapılan çalışmalarda, bu etkinin zayıf olduğu, slime içerisinde yabancı cisme yapışmış bir şekilde üreyen bakterinin metabolizmasındaki değişiklikler sonucu antibiyotiklere direnç cevabını baskılamakta ve degranülasyon fonksiyonunu bozmaktadır. İn vitro yüksek konsantrasyonda slimenin, antikoagülan özelliği mevcuttur [58].

Staphylococcus aureus akut veya kronik enfeksiyonlara neden olmaktadır. *S.aureus* izolatlarının patojenitesi; adherans özellikleri, çeşitli toksinler, enzimler, yapısal ve ekstrasellüler faktörler gibi özelliklerine bağlıdır. Slime faktör ve biyofilm oluşumu da patojenite faktörlerindendir [59].

2.12. Hemoliz Aktivitesi

S. aureus hücre membranları lizise uğratan (alfa, beta, delta, gama ve Panton-Valentin lökosidin) beş sitotoksin, (A ve B) olarak isimlendirilen iki eksfoliyatif toksini üretir. Sitotoksinlerin nötrofilleri lizise uğratması sonucu hücrelerden lizozomal enzimler açığa çıkarak çevre dokulardaki hücrelerinin yıkımına neden olurlar. Sitotoksinlerden biri olan P-V lökosidin şiddetli pulmoner ve kutanöz enfeksiyonlarla ilişkilendirilmektedir [60].

Alfa hemoliz, düz kaslardaki epitel hücrelerine ağır zararlar verir ve alyuvarlara, akyuvarlara ve trombosit hücrelerini lizise uğratar. Alfa toksinin stafilokokkal hastalıklarda epitel doku hasarında önemli bir virülans faktörü olduğu düşünülür. Ayrıca alfa hemolizinin deneysel endokardit oluşumunda önemli olduğu saptanmıştır [61].

Beta toksin, insan ve hayvanlarda hastalık oluşturabilen *S. aureus* tarafından üretilebilen, 35 kD'lik ısıya duyarlı bir proteindir. Bu enzim sfingomiyelin ve lizofosfatidilkolin için spesifiteye sahiptir ve eritrosit, fibroblast, lökosit ve makrofajları da içeren çoğu hücre için toksiktir. Beta toksinin insan hastalıklarındaki rolü henüz tam olarak açıklanamamıştır. Ancak alfa toksinle birlikte stafilokok hastalıklarının karakteristik abse formasyonlarında ve doku yıkımından sorumlu olabileceğine inanılmaktadır [61].

Delta Toksin *S. aureus* izolatları ve diğer stafilokoklar tarafından üretilen polipeptittir. Bu toksin eritrosit, lökosit, makrofaj, lenfosit ve trombositler üzerine etkilidir. Diğer memeli hücreleri ve hücre içi membran yapılarını da içeren geniş bir sitolitik aktiviteye sahiptir.

Delta toksin kısmi nonspesifik membran toksisitesiyle deterjan benzeri etki gösterir. Antijenik özelliğe sahip değildir [61].

Gama hemolizin neredeyse *S. aureus*' un bütün izolatları tarafından üretilmektedir ancak PV lökositidin, suşların yalnızca % 2-3'ü tarafından üretilir. Her iki toksin de iki komponentten oluşmuştur. Bu komponentler S ve F komponentleri olarak bilinir ve birbirleriyle ilişkisi olmayan salgısal protein olarak üretilir. Üç farklı S komponenti ve iki farklı F komponenti aralarında birleşerek altı farklı gama hemolizin – PV lökositidin toksinlerini oluşturur. Bütün olası altı kompozisyon lökositleri lize etme yeteneğine sahiptir [61].

Haşlanmış deri sendromu, Eksfoliyatif Toksinler ile oluşur. Eksfoliyatif toksinin iki farklı şekli (ETA ve ETB) tanımlanmıştır. Her ikisinde hastalık etkeni olabilirler. ETA ısıya karşı dirençlidir ve geni kromozomaldır [62].

ETB ise ısıya karşı duyarlı ve plazmid aracılıdır. Ultrastrüktürel çalışmalar, serin proteazlar olan bu toksinlere maruz kalma sonucunda epidermisin stratum granulosum tabakasındaki intrasellüler köprüler (desmozomlar)' ın ayrılmasının gerçekleştiğini göstermiştir. Bu olayın tam mekanizması hala bilinmemektedir [62].

Toksinler hücre yıkımı veya inflamasyonla ilişkili değildir. Bu yüzden epidermisin etkilenen tabakasında ne stafilokoklar ne de lökositler bulunmazlar. Epidermisin toksine maruz kalması sonucu koruyucu nötralizan antikorlar gelişir. Haşlanmış deri sendromu çoğunlukla küçük çocuklarda ve erişkinlerde görülür [62].

3. MATERİYAL-METOT

3.1. Gıda Örneklerinin Toplanması

Eylül 2018–Mayıs 2019 tarihleri arasında, Ankara’nın çeşitli market, sokak satıcıları ve pazarlarında satışa sunulan 25 çiğ süt, 25 peynir, 20 tavuk döner, 36 çiğ tavuk (ciğer, taşlık, yürek, deri) olmak üzere toplam 106 gıda örneği materyal olarak kullanılmıştır. Örnekler soğuk zincir koşulları dikkate alınarak, steril kapların içinde laboratuvar ortamına getirilmiş ve aynı gün içinde çalışılmıştır.

3.2. Gıda Örneklerinde *Staphylococcus* İzolasyonu ve Ön Tanımlamasının Yapılması

Araştırmamızda *S.aureus* izolasyonu için, Türk Standartları Enstitüsünde [63] belirtilen esaslara göre, laboratuvara getirilen çiğ süt, peynir ve tavuk örnekleri steril 200 ml ‘lik steril şişelere alınmıştır. Laboratuvara getirilen 25 ml çiğ süt örneğinden 225 ml’lik steril Buffered Peptone Water (BPW, Merck, 107228) kullanılarak sırasıyla 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ’lük dilusyonlar hazırlanmıştır.

Analiz için laboratuvara steril koşullarda getirilen peynir örnekleri 25 gram olacak şekilde steril bir kapta tartılmış, 225 ml steril Ringer Çözeltilisi’nde (Merck, 115525) ezilerek, homojenize edilerek 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ’lük dilusyonları hazırlanmıştır. Tavuk örnekleri 25 gram olacak şekilde steril bir kapta tartılmış, 225 ml’lik steril BPW içine alındıktan sonra 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ’lük dilusyonları hazırlanmıştır. Bütün dilüsyonlardan, dilüsyonlardan egg-yolk tellurit içeren steril Baird Parker Agar (BPA) besiyeri yüzeyine 0.1 ml aktararak Drigalski özesi yardımıyla yüzeye yayma yöntemi ile ekimler gerçekleştirilmiştir. Ekim yapılan Petri kutuları 37°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda BPA besiyerinde oluşan siyah renkli ve etrafında berrak ve mat zon bulunan koloniler tipik *S. aureus*, olarak değerlendirilmiştir.

BPA besiyerinde oluşan siyah renkli ve etrafında berrak ve mat zon bulunan şüpheli kolonilere gram boyama, katalaz, koagülaz testleri uygulanmıştır. Gram pozitif (+), üzüm salkımı şeklinde kok, katalaz pozitif (+) ve koagülaz pozitif (+) olan koloniler *S.aureus* olarak tanımlanmıştır.



Resim 3.1. Baird Parker Agar besiyerinde üremiş olan *S. aureus* kolonileri [64]

3.3. *S.aureus* İzolasyonunda Kullanılan Besiyerleri ve İçerikleri

Tamponlanmış peptonlu su (Biomerieux Ref 42629)

Pepton	10 g/L
Sodyum Klorit	5 g/L

Bileşimi verilen tamponlanmış peptonlu su besiyerindeki maddeler tartılıp distile su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır. pH'sı $7,2 \pm 0,2$ 'ye ayarlanmıştır. Besiyeri tüplere 9'ar ml pipetlendikten sonra otoklavda 121°C 'de 15 dakika steril edilmiştir.

Baird parker agar (Oxoid CM 275)

Yeast extract	1 g/L
Sodyum piruvat	10 g/L
Glisin	12 g/L
Lityum klorid	5 g/L
Agar	20 g/L

63 gr tartılarak 1000 ml distile su ile karıştırılıp, pH: 6,8 + 0,2 ayarlanıp, 121 °C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. 50 °C’ye soğutulduktan sonra içerisine Egg Yolk Tellurite emülsiyonundan 50 ml eklenerek karıştırılıp petri plaklarına dökülmüştür.

Egg yolk tellurite (Oxoid SR 34)

Potasyum telürit	1 ml/L
Yumurta Sarısı	5 ml/L
Distile su	100 m/L

3.4. Gıda Örneklerinde *Salmonella* spp. İzolasyonu ve Ön Tanımlamasının Yapılması

Araştırmamızda *Salmonella* spp. izolasyonu için, Türk Standartları Enstitüsünde [65] belirtilen esaslara göre alınan gıda örnekleri tat ve koku değişimine neden olmayacak ve örneklerin mikrobiyal yükünü etkilemeyecek şekilde steril kaplara alınarak 0°C - +2°C sıcaklık koşullarında laboratuvar ortamına getirilerek aynı gün çalışılmıştır.

Kültürel yöntemlere göre uygulanan metotta izolasyon için 3 aşama izlenmiştir:

Ön zenginleştirme: Alınan örnekler 9:1 oranında Tamponlanmış Peptonlu Su’ya konulmuştur (sıvı örnekler için 25ml örnek/ 225 ml PW; katı örnekler için 5g örnek/45 ml PW). Örnekler 24 saat 37°C ‘de inkübe edildikten sonra bir sonraki aşama olan zenginleştirme işlemine geçilmiştir.

Zenginleştirme: *Salmonella* spp.’nin iyi ürediği bunun yanı sıra diğer bakterilerin üremesinin kısmen engellendiği spesifik besiyerleri kullanılmıştır. Rapport Vassiliadis Broth (RVS) ve Muller Kauffman Tetrathionate-Novobiocin Broth (MKTTn) bu işlem için kullanılmış olan iki besiyeridir. PW’ da üretilen gecelik kültürlerden 1 ml alınarak 9 ml RVS ’ye aktarılmıştır, RVS ise 41,5°C’de 24 saat bekletilmiştir.

Selektif Agar’a ekim: RVS de üretilen gecelik kültürlerden 0,1 ml alınarak *Salmonella* spp. için selektif bir besiyeri olan XLT4 Agar (Xylose Lysine Tergitol)’e Dragaski özesi ile yayma ekim yapılmıştır ve yayma ekimler 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Salmonella spp. izolatları XLT4 agar üzerinde merkezi siyah etrafı şeffaf zon oluşturmuş koloniler şeklinde görülmektedir. Saf kültür, XLT4 Agar'da gözlenen *Salmonella* spp. şüpheli kolonilerden tekrar XLT4 Agar'a tek koloni ekim yapılarak saf kültürler elde edilmiştir.



Resim 3.2. XLT4 besiyerinde üremiş olan *Salmonella* spp. kolonileri [66]

3.5. *Salmonella* Türlerinin İzolasyonunda Kullanılan Besiyerleri ve İçerikleri

XLT4 Agar (Xylose Lysine Tergitol) (Merck 1.13919)

Proteoz pepton	1,6 g/L
Maya ekstraktı	3,0 g/L
L-lizin	5,0 g/L
Ksiloz	3,75 g/L
Laktoz	7,5 g/L
Sükroz	7,5 g/L
Amonyum-demir (III) sitrat	0,8 g/L
Sodyum thiosülfat	6,8 g/L
NaCl	5,0 g/L
Fenol kırmızısı	0,08 g/L
Agar-agar	18,0 g/L

pH'sı 7,4±0,2

Dehidre besiyeri 59,0 g/L ve XLT4 Agar Supplement (Merck 1.08981) 4,6 ml/L olacak şekilde distile suda kaynatılarak eritilmiştir. Sterilizasyon, besiyerini eritirken yapılmış olur. Isıya oldukça duyarlı olan bu besiyeri 50°C 'de 45 dakikadan fazla tutulmamalıdır. Besiyeri 45-50°C'a soğuyunca steril petri kutularına 12,5'er ml dökülmüştür. Hazırlanmış besiyeri berrak ve kırmızıdır. Salmonella için selektif bir besiyeridir.

MKTTn Broth (Mueller Kauffmann Tetrathionate Novobiocin) (Oxoid CM0343B)

Et ekstraktı	4,3 g/L
Kazein enzimatik sindirimi	8,6 g/L
Sodyum klorid	2,6 g/L
Kalsiyum karbonat	38,7 g/L
Sodyum thiosülfat	30,5 g/L
Oxbile	4,78 g/L
Brilliant yeşili	0,0096 g/L

pH'sı 8,0±0,2

Besiyeri 89,5 g/L konsantrasyonda olacak şekilde distile su içinde iyice karıştırılmış ve kaynatılmıştır. Belirli miktarlarda iodin solüsyonu karıştırıldıktan sonra tüplere 9 ml olacak şekilde dağıtılmıştır. Salmonella'nın iyi ürediği bunun yanı sıra diğer bakterilerin üremesinin kısmen engellendiğinden dolayı zenginleştirme besiyeri olarak adlandırılır.

RVS Broth (Rappaport Vassiliadis) (Merck 1.07700)

Soy pepton	4,5 g/L
Magnezyum klorür heksahidrat	28,6 g/L
NaCl	7,2 g/L
K ₂ HPO ₄	1,26 g/L
KH ₂ PO ₄	0,18 g/L
Malaşit yeşili	0,036 g/L

pH'sı 5,2±0,2

Dehidre besiyeri 41,8 g/L olacak şekilde distile su içerisinde hafifçe ısıtılarak çözülmüştür, deney tüplerine 9 ml aktarılmış ve otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Hazırlanmış besiyeri berrak ve koyu mavi renklidir.

Buffered Peptone Water (Tamponlanmış Peptonlu Su) (Oxoid CM0509)

Pepton	10,0 g/L
NaCl	5,0 g/L
Na ₂ HPO ₄ .12HPO ₄	9,0 g/L
K ₂ HPO ₄	1,5 g/L

pH'sı 7,0±0,2

Dehidre besiyeri 25,5 g/L olacak şekilde su içinde gerekirse hafifçe ısıtılarak eritilmiş, Alınan örnekler 9:1 oranında Tamponlanmış Peptonlu Su'ya konulmuştur (sıvı örnekler için 25ml örnek/ 225 ml PW; katı örnekler için 5g örnek/45 ml PW). Otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edilmiştir. Besiyeri bileşiminde bulunan fosfat tampon pH düşmesine karşı özellikle hasar görmüş olan bakterileri korumaktadır.

Nutrient Agar (Merck 1.05450)

Pepton (etten)	5,0 g/L
Et ekstraktı	3,0 g/L
Agar-agar	12,0 g/L

pH'sı 7,0±0,2

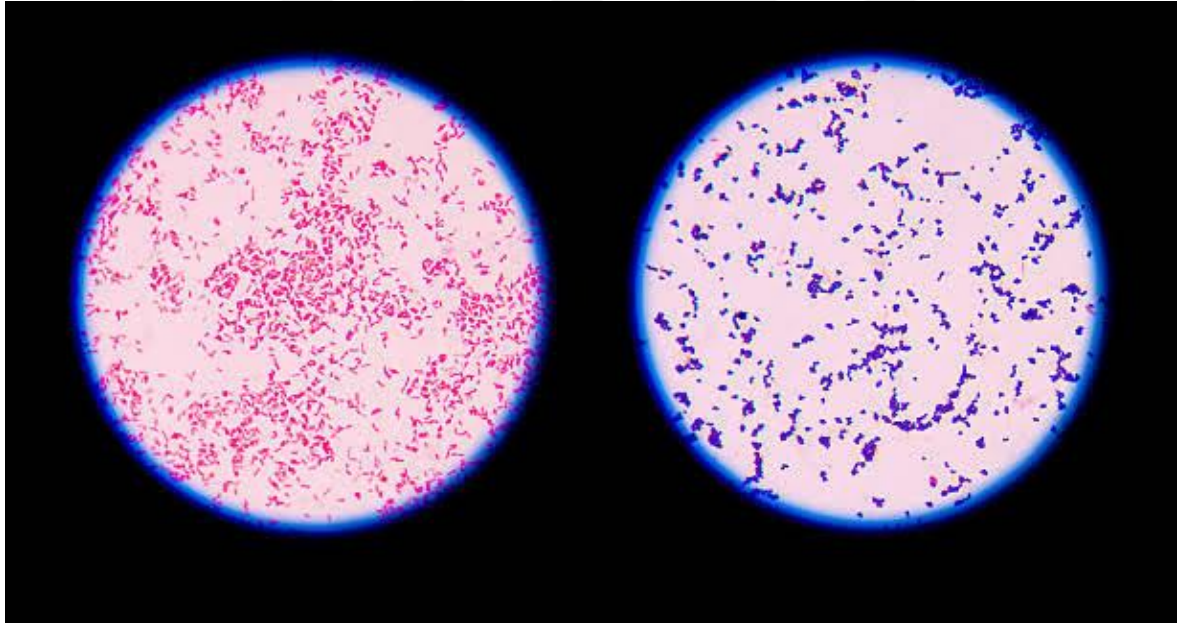
Dehidre besiyeri 20,0 g/L olacak şekilde distile su içinde ısıtılarak eritilip, otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edilmiştir ve 45-50°C'a soğutulup steril petri kutularına 12,5'er ml dökülmüştür. Hazırlanmış besiyeri berrak ve sarımsı kahve renktedir.

3.6. Mikroorganizmaların İdentifikasyonunda Kullanılan Testler

3.6.1. Gram boyama

Temiz bir lam üzerine bir damla distile su damlatılarak lam yüzeyine ince bir tabaka oluşturacak şekilde taze bakteri örneği yayılmıştır ve kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan lam alevden birkaç kez geçirilerek hücreler tespit edilmiş, sabitlenmiştir. Lamın üzerine kristal-violet dökülüp 1 dakika sonra distile su ile tüm yüzey yıkanmıştır.

Yıkanan lamın üzerine lugol dökülerek 1 dakika beklenmiş, distile su ile hafifçe yıkanmış ardından % 95'lik alkol ile kısa süre 15 saniye muamele edilerek distile su ile yıkanmıştır. Yıkanan lamın üzerine safranin dökülerek 30 saniye beklenip distile su ile yıkanarak kurutulmuştur. Boyanan preparatlar mikroskopta immersiyon yağı lam üzerine damlatılarak 100x büyütmede incelenmiştir [67].



Şekil 3.1. *Salmonella* spp. ve *S. aureus* mikroskop görüntüsü [68]

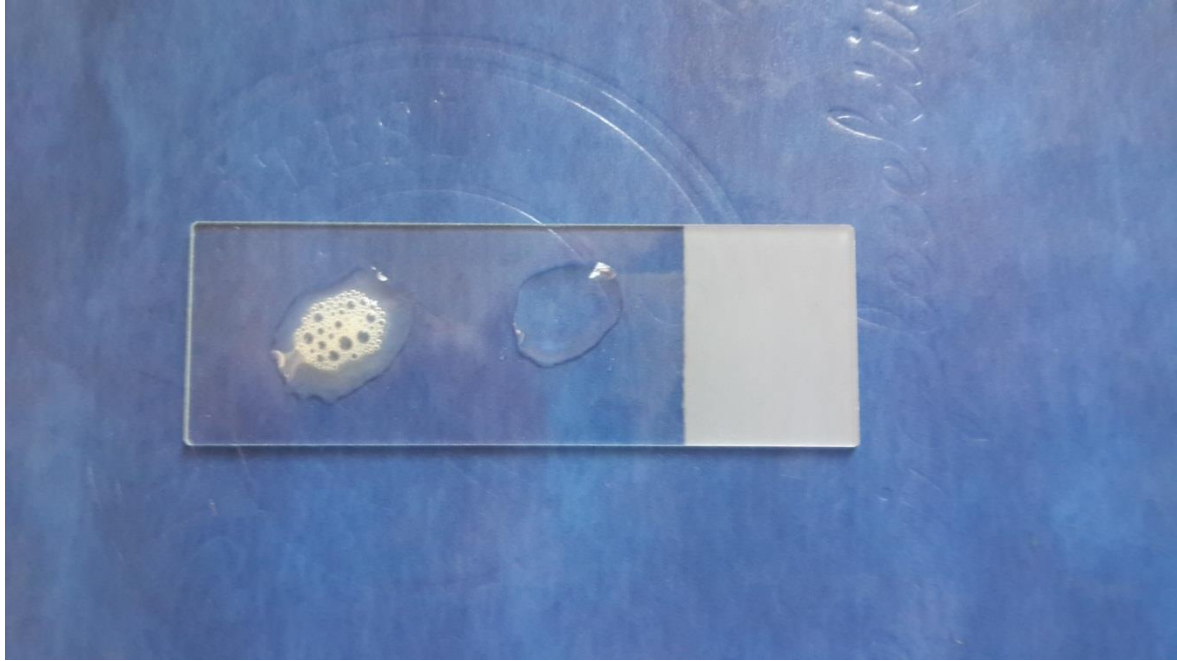
3.6.2. Katalaz testi

Aerobik ve fakültatif anaerobik mikroorganizmaların sahip olduğu katalaz enzimi, ortamdaki hidrojen peroksidi su ve oksijene ayrıştırır. Sıvı veya katı besiyerinde geliştirilen bakterilerden bir öze dolusu mikroorganizma alınıp üzerine H_2O_2 ilave edildiğinde, serbest

oksijenin gaz kabarcıkları şeklinde gözlenmesi, hidrojen peroksidin ayrışmasını dolayısıyla katalaz enziminin varlığını gösterir.

Testin yapılışı; lam üzerine izole edilen taze kültürden bir öze dolusu alınarak, üzerine %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) damlatılarak karıştırılmış ve gaz kabarcıklarının olup olmadığı gözlemlenmiştir. Lam üzerinde gaz kabarcıklarının oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir. Katalaz pozitif olan gram negatif basiller ve gram pozitif koklar çalışmaya esas teşkil edecek izolatlar seçilmiştir.

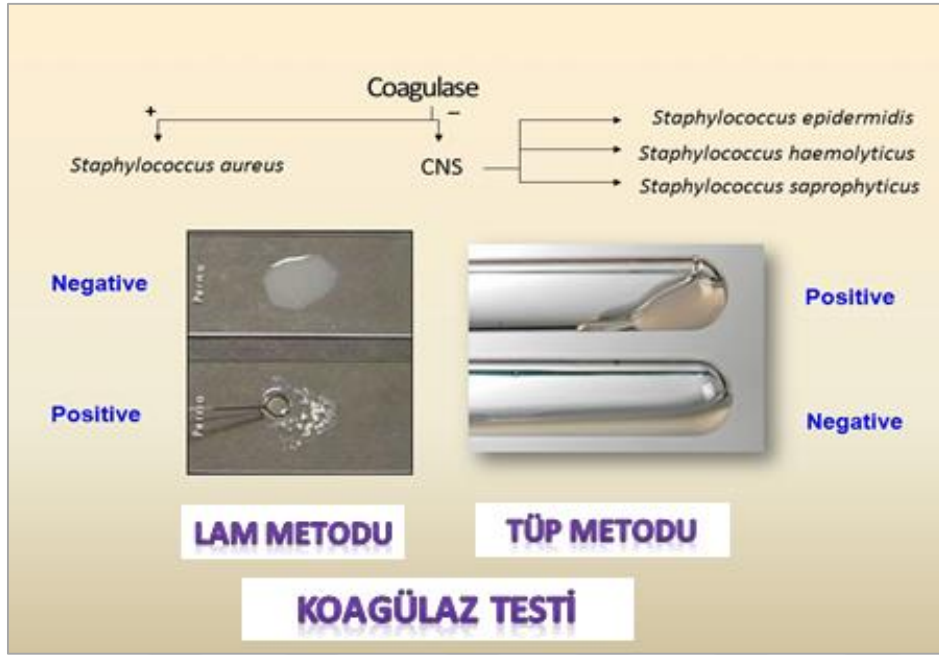
Salmonella spp. ve *S.aureus* katalaz pozitifdir.



Şekil 3.2. Katalaz testi lamda görünümü [Serdar Coşkun 2019]

3.6.3. Koagülaz testi

Heparinli steril taze insan veya tavşan plazması koagülasyon tüplerine konulmuştur. Taze kültürden alınan saf izolat örneği plazmalı tüpe aktarılmıştır. 37 °C'de 3-4 saat inkübasyona bırakılmıştır. Jöle kıvamında pıhtılı görüntü oluşan tüpler koagülaz pozitif olarak değerlendirilmiştir. Inkübasyon sonrası negatif olan tüpler kesin sonuç almak adına 6 saat daha inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 3.3. Koagülaz testi görüntüsü [70]

3.6.4. TSI (Triple Sugar Iron) testi

Triple Sugar Iron Agar, üç karbonhidrat (glikoz, laktoz ve sükroz) içerir. Bu karbonhidratlar fermente edildiğinde, oluşan asit üretimi fenol kırmızısı indikatörü ile saptanır. Oluşan renk değişimleri asit üretimi için sarı ve alkalinizasyon için kırmızıdır. Laktoz ve sükroz, glikozdan daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu için, uçta asit oluşumu bu şekerlere bağlı iken, glikozdan asit oluşumu tüpün yatık alanında az miktarda asidin hızlı oksidasyonu ile baskılanarak yalnızca glikoz fermente olduğunda nötral veya bazik pH reaksiyonuna yol açar. *Salmonella* 'larda tüpün dibinde H₂S üretimi belirgin bir özelliktir.

Triple Sugar Iron Agar (Merck 1.03915)

Kazain Peptone	15,0 g/L
Pepton (etten)	5,0 g/L
Et ekstraktı	3,0 g/L
Maya ekstraktı	3,0 g/L
Sodyum klorid	5,0 g/L
Laktoz	10,0 g/L
Sükroz	10,0 g/L

D (+) glukoz	1,0 g/L
Amonyum demir (III) sitrat	0,5 g/L
Sodyum trisülfat	0,5 g/L
Fenol kırmızısı	0,024 g/L
Agar	12,0 g/L

pH: 7, 4 $\pm$ 0,2

Bileşenlerden 65 g 1000 ml distile su içerisinde çözdürülmüştür. Agar eriyene kadar su banyosunda tutulmuştur ve daha sonra test tüplerine 5-7 ml miktarında dağıtılmıştır. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edilmiş ve sterilizasyon sonrası tüpler yatık vaziyette soğumaya bırakılmıştır.

Test edilecek izolat TSA besiyerindeki stok kültürden iğne öze ile yoğun miktarda alınıp, yatık agar yüzeyine sürme ekim yapılmış ve öze bu işlem sonunda besiyerinin dip kısmına batırılıp çıkarılmıştır. 37°C'de 24 saat inkübasyon sonucunda siyah renkli koloni gözlenmesi durumuna göre *Salmonella* spp. olup, olmadığına karar verilmiştir.



Şekil 3.4. *Salmonella* spp.'de TSI testi görünümü [71]

3.6.5. Sitrat testi

Stok kültürden bir öze dolusu koloni Simmon Sitrat Agar besiyeri olan tüplerdeki yatık yüzeye sürülerek ekim yapılmıştır. Yeşil renkli besiyerinin maviye dönmesi Sitrat pozitif (+) olarak değerlendirilmiştir.

Simmons Sitrat Agar (Oxoid CM 155)

Magnezyum sülfat	0,2 g/L
Amonyum dihidrojen fosfat	0,2 g/L
Sodyum amonyum fosfat	0,8 g/L
Sodyum sitrat	2,0 g/L
Sodyum klorid	5,0 g/L
Brom timol mavisi	0,08 g/L
Agar	15,0 g/L

pH'sı 6,6±0,2

Dehidre besiyeri, 22,3 g/L olacak şekilde distile su içinde ısıtılarak kaynar su banyosunda 5-10 dakika tutulmuş ve sürekli karıştırılarak tam olarak eritilmiştir. Besiyeri henüz sıvı halde iken, tüplere 7'şer ml olarak dağıtılıp, tüpler 121°C'da 15 dakika steril edilmiştir.

Otoklav çıkışında besiyeri henüz sıvı iken tüpler bir çubuğa yatırılarak (tüpün dibinde 2-2,5 cm yüksekliğinde bir besiyeri kalınlığı olacak şekilde) besiyerinin katılaşması beklenmiştir. Hazırlanmış besiyeri berrak ve yeşil renktedir. Besiyerinin renginin maviye dönmesi sitrat pozitif (+) olarak kabul edilmiştir.



Şekil 3.5. *Salmonella* spp.' de Sitrat testi görünümü [72]

3.6.6. Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight (MALDI TOF) ile bakterilerin tanımlanması

Çeşitli çiğ ve pişmiş gıdalardan izole ettiğimiz Gram pozitif ve Gram negatif bakterileri izolatları Nutrient Agar (NA) besiyerine tek koloni yöntemi ile ekim yapılmıştır. 18-24 saatlik taze kültürlerinden izolatlarının tür tayini Sağlık Bakanlığı' nın Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı'na ait Ulusal Mikrobiyoloji Laboratuvar' ında MALDI TOF kütle spektrometresi ile yapılmıştır.

3.6.7. İzolat'ların slime oluşturma özelliklerinin belirlenmesi

Gram negatif ve gram pozitif bakterilerin Nutrient Agar (NA) besiyerindeki 18-24 saatlik taze kültürlerinden alınıp slime yapma özellikleri Freeman ve arkadaşları (1990) tarafından bildirilen Congo red agar yöntemi kullanılarak araştırılmıştır [73].

Kongo Kırmızılı Agar

Sükroz	50 g/L
BHI broth	37 g/L

Kongo kırmızısı	0,8 g/L
Agar	10 g/L
Distile su	1000 ml

121°C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiş ve plaklara dağıtılmıştır. Bu besiyerine tek koloni düşecek şekilde yapılan ekimler 37°C’ de 24-48 saat inkübe edilmiş, koyu kırmızı-siyah koloni oluşturan izolatlar slime pozitif, pembe koloni oluşturanlar ise slime negatif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.6. Congo red agarda slime [74]

3.6.8. İzolat’ların biyofilm oluşturma özelliklerinin belirlenmesi

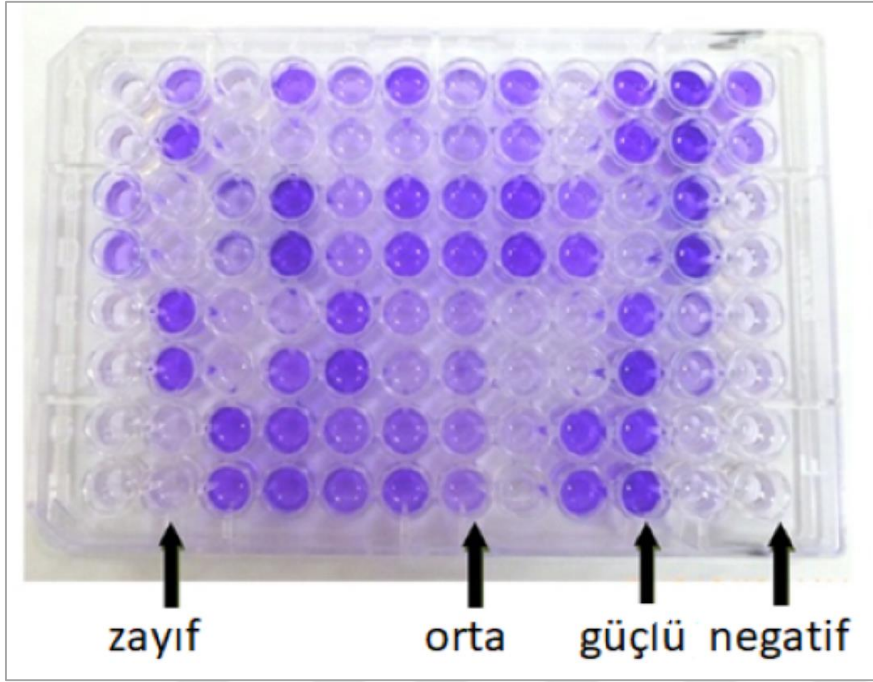
Kantitatif olarak biyofilm oluşumlarının belirlenmesinde, stafilokok izolatları stok kültürden alınarak aktiveleştirilmek üzere Tryptic Soy Broth (TSB) ye aktarıldıktan sonra 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda %2 oranında glukoz içeren TSB ile 1/100 seyreltildikten sonra steril düz tabanlı mikropın her bir kuyucuğuna 200µl konularak 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Negatif kontrol sadece sıvı besiyeri ile doldurulmuştur.

Biyofilm oluşumundaki fenotipik ifadenin in vitro koşullarda değişmeye oldukça müsait olmasından dolayı hataları minimize etmek ve bilgilerin güvenirliğinin sağlamak için her bir izolat en az 3 defa tekrarlanıp, buna ek olarak her bir test de iki kez yapılmıştır.

İnkübasyon sonucu mikropalakın her bir gözündeki sıvı atık konteynırına boşaltılıp her bir kuyucuk üç kez 200μl'lik steril tamponlanmış fosfat tuzu (PBS) ile nazikçe yıkanmıştır. Yıkama işlemi için mikropipet kullanılmıştır. Yıkama sonrasında mikropalaklar kurutulmak amacıyla ters çevrilmiştir.

Kurutma işleminden sonra her bir kuyucuğa %2'lik kristal viyole solüsyonundan 200μl dağıtılarak 45 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası kuyucuklar tekrar steril tamponlanmış fosfat tuzu (PBS) ile nazikçe üç kez yıkanmıştır. Yıkama sonrasında mikropalaklar kurutulmak amacıyla ters çevrilmiştir.

Mikropalaklar oda sıcaklığında kurutulduktan sonra hücelere bağlanan boya geri çözdürülmek üzere her kuyucuğa 200μl etanol asetik asit (95:5) ilave edilmiştir. Mikropalakların hava ile temasını önlemek için kapakları kapatılıp oda sıcaklığında en az 10 dakika alkalamaksızın bekletilmiştir. Etanol asetik asit hem tavan hem de duvara yapışan bakterilerin direkt ölçülmesinde olanak sağlamıştır.



Şekil 3.7. Mikroplate biyofilm aktivite fenotipik değerlendirmesi [75]

Kristal viyole ile boyanan kuyucuklardaki boya etanol asetik asit ile çözdürüldükten sonra her bir kuyucuktaki Optik yoğunluk (OD) 570 nm’de ELISA okuyucuda ölçülmüştür.

Elde edilen optik dansite (OD) değerlerinin ortalaması alınarak mikroorganizmaların biyofilm formasyon aktiviteleri belirlenmiştir. Biyofilm oluşumları Chusri ve arkadaşları (2012) tarafından bildirilen ve Çizelge 3.1’de gösterilen negatif kontrol absorbans değerine dayalı ölçeğe göre değerlendirilmiştir [76].

Çizelge 3.1. Biyofilm aktivitelerinin değerlendirme ölçeği

OD değeri	Adezyon	Biyofilm derecesi
OD kontrol > OD MB	Nonadhere (Yapışma olmayan)	0
OD kontrol < OD MB < 2 OD kontrol	Zayıf Adhere (Zayıf yapışma)	I
2 OD kontrol < OD MB < 4 OD kontrol	Orta Derecede Adhere (Orta derece yapışma)	II
4 OD kontrol < OD MB	Güçlü Adhere (Güçlü yapışma)	III

OD: Optik Dansite, OD

MB: Mikroorganizma Biyofilminin Optik Dansitesi

Adhere: Biyofilm oluşturma düzeyi.

3.6.9. İzolat'ların hemoliz özelliklerinin belirlenmesi

Gram pozitif ve Gram negatif bakteri izolatlarının Nutrient Agar (NA) besiyerindeki 18-24 saatlik taze kültürlerinden alınıp hemoliz oluşturma özellikleri ortaya çıkarmak için belirlenen kolonilerden alınarak, Koyun Kanlı Agar (Sheep Blood Agar)'a tek koloni yöntemi ile ekim yapılmıştır.

37°C'de 24-48 saat inkübasyon sonunda oluşan koloniler etrafında zon oluşumunun gözlenmesi ile hemoliz pozitif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.8. *S. aureus*' un koyun kanlı agarda hemoliz oluşturmaları [77]

3.6.10. İzolat'ların antibiyotik duyarlılık testi

Gram pozitif bakterilerin antibiyotik dirençliliğini belirlemek amacıyla; gentamisin (GN10 mcg), tetrasiklin (TE 30 mcg), eritromisin (E 15 mcg), kloramfenikol (C 30 mcg), ampisilin (AM 10 mcg), vankomisin (VA 30 mcg), antibiyotik diskleri kullanılmıştır.

Gram negatif ve pozitif izolatlarının antibiyotiklere karşı duyarlılıkları (National Committee for Clinical Laboratory Standadarts 1990) kurallarına uygun olarak, Bauer-Kirby disk difüzyon metoduna göre yapılmıştır. Bu amaçla standart antibiyotik disklerle duyarlılığı belirlenecek bakteri kültüründen 3-5 koloni alınarak Müeller Hinton Broth tüplerine ekimi yapılmıştır. Tüpler 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyonu takiben kültürün bulanıklılığı McFarland 0,5 standart bulanıklığına göre ayarlanmıştır. Bulanıklığı ayarlanan kültürlerden steril eküvyon yardımıyla Mueller Hinton Agar besiyerinin tüm yüzeyine ekim yapılmıştır.

Standart antibiyotik diskler birbirine 3-4 cm, petri kenarına 1 cm uzaklıkta 120×120 mm’lik petri plaklarına pens yardımı ile yerleştirilerek besiyeri ile teması sağlanmıştır. İnkübasyondan sonra disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülmüştür.

Gram negatif bakterileri izolatlarının antibiyotik dirençliliğinin belirlenmesi Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemine göre yapılmıştır.

Bu amaçla, antibiyotik olarak ampisilin (AM 10 mcg), kanamisin (K 30 mcg), streptomisin (S 10 mcg), kloramfenikol (C 30 mcg), siproflakson (CIP 5 mcg), tetrasiklin (TE 30 mcg) antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Elde edilen zon çapları Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından önerilen zon tablosu ile karşılaştırılarak, Gram negatif ve pozitif bakteri izolatlarının antibiyotiklere karşı duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olarak değerlendirilmesi yapılmıştır [78].

3.6.11. Antibiyotik duyarlılık testinde kullanılan besiyerleri

Mueller Hinton Agar (LabM 39)

Meat infusion	6 g/L
Casein hydrolysate	17,5 g/L
Starch	1,5 g/L
Agar	10 g/L

35g tartılarak 1000 ml distile suyla karıştırılıp pH7,4 + 0,2 ayarlanıp 121 °C’de 15 dakika otoklavlanmıştır.

Mc Farland bulanıklık tüpü

0,5 Mc Farland standardına uygun bulanıklık tüpü hazırlamak için:

0,048 M BaCl₂ (%1,173gr BaCl₂H₂O) 0,5 ml

+ 0,18M H₂SO₄/H₂O (%1 v/v) 99,5 ml

0,5 Mc Farland = 108 cfu/ml

Baryum klorür ve sülfirik asit kullanılarak hazırlanan bu solüsyon deney tüplerine 5'er ml ilave edilerek oda sıcaklığında, karanlıkta saklanmıştır.



4. BULGULAR

Eylül 2018 – Mayıs 2019 tarihleri arasında, Ankara'nın çeşitli market, sokak satıcıları ve pazarlarında satışa sunulan 25 çiğ süt, 25 peynir, 20 tavuk döner, 36 çiğ tavuk (ciğer, taşlık, yürek, deri) olmak üzere toplam 106 gıda örneği materyal olarak kullanılmıştır. (Çizelge 4.1). 10 *S. aureus*, 14 *M. caseolyticus*, 7 *Salmonella* spp., 9 *H. alvei* olmak üzere toplam 40 bakteri izolatu elde edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.1. Araştırmada materyal olarak kullanılan gıda örneklerinin dağılımı

Materyal	Çalışılan örnek sayısı
Çiğ Süt	25
Peynir	25
Tavuk Döner	20
Çiğ Tavuk	36
TOPLAM	106

Çiğ süt, peynir, tavuk döner ve çiğ tavuk örneklerinden izole edilen ve tanımlaması yapılan *Staphylococcus aureus*, *M. caseolyticus*, *Salmonella* spp. ve *H. alvei* izolatlarının çalışılan örnek sayısı ve izolasyon sayısı Çizelge 4.2 ' de görülmektedir.

Çizelge 4.2. Gıda örneklerinden izole edilen bakterilerin, izole edildikleri materyallere göre dağılımları

Gıda örnek adı	Çalışılan örnek sayısı	<i>S. aureus</i>		<i>M. caseolyticus</i>		<i>Salmonella</i> spp.		<i>H. alvei</i>	
		İzolat sayısı	%	İzolat sayısı	%	İzolat sayısı	%	İzolat sayısı	%
Çiğ Süt	25	10	40	-	-	-	-	-	-
Peynir	25	-	-	14	56	-	-	-	-
Tavuk Döner	20	-	-	-	-	-	-	-	-
Çiğ Tavuk	36	-	-	-	-	7	19.44	9	25
TOPLAM	106	10	40	14	56	7	19.44	9	25

Çizelge 4.2'e göre; çalışılan 25 çiğ süt örneğinden 10 (%40) *Staphylococcus aureus* izolatu, 25 peynir örneğinden 14 (%56) *M. caseolyticus* izolatu elde edilmiştir. 20 tavuk döner örneğinden ve 36 çiğ tavuk örneğinden herhangi bakteri izolatu üretilmemiştir. 36 çiğ

tavuk örneğinden 7 (%19.44) *Salmonella* spp., 9 (%25) *H. alvei* izolatu elde edilmiştir. 25 çiğ süt, 25 peynir, 20 tavuk döner örneğinden bakteri izolatu üretilememiştir.

Çizelge 4.3. Çiğ tavuk örneklerinden izole edilen 7 *Salmonella* spp. izolatının numune türlerine göre dağılımı

Çiğ tavuk	Deri		Taşlık		Yürek		Ciğer	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Salmonella</i> spp	1	14.2	4	57.1	2	28.5	3	42.8

n:izolat sayısı

Çizelge 4.3'e göre; Çiğ tavuk örneklerinden elde edilen 7 *Salmonella* spp. izolatının 1'i (%14.2) deri, 4'ü (%57.1) taşlık, 2'i (% 28.5) yürek ve 3'ü (%42.8) ciğerden elde edilmiştir. En çok izolat elde edilen gıda örneği 4 örnek (% 57.1) ile taşlık olmuştur.

Çizelge 4.4. Çiğ tavuk örneklerinden izole edilen 9 *H. alvei* izolatının numune türlerine göre dağılımı

Çiğ tavuk	Deri		Taşlık		Yürek		Ciğer	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>H.alvei</i>	2	22.2	7	77.7	-	-	-	-

n:izolat sayısı

Çizelge 4.4'e göre; Çiğ tavuk örneklerinden elde edilen 9 *H. alvei* izolatının 2'i (%22.2) deri, 7'si (%77.7) taşlık, elde edilmiştir. En çok izolat elde edilen gıda örneği 7 örnek (% 57.1) ile taşlık olmuştur. Ciğer ve yürekten *H. alvei* izolatu elde edilememiştir. Çiğ tavuk örneklerinden en çok (taşlık örneğinden) *Salmonella* spp. ve *H. alvei* elde edilmiştir.

Çeşitli çiğ ve pişmiş gıdalardan izole ettiğimiz Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin izolatlarının tür tayini Sağlık Bakanlığı'nın Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı'na ait Ulusal Mikrobiyoloji Laboratuvar'ında MALDI TOF kütle spektrometresi ile yapılmıştır. Sonuçlarımız Çizelge 4.5' de gösterildiği gibidir.

Çizelge 4.5. MALDI TOF kütle spektrometresi ile Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin tür tayini

No	İzolat no	Tür tayini
1	A1	<i>S. aureus</i>
2	A2	<i>S. aureus</i>
3	A3	<i>S. aureus</i>
4	A4	<i>S. aureus</i>
5	A5	<i>S. aureus</i>
6	A6	<i>M. caseolyticus</i>
7	A7	<i>M. caseolyticus</i>
8	A8	<i>S. aureus</i>
9	A9	<i>S. aureus</i>
10	A10	<i>M. caseolyticus</i>
11	A11	<i>M. caseolyticus</i>
12	A12	<i>M. caseolyticus</i>
13	B1	<i>M. caseolyticus</i>
14	B2	<i>M. caseolyticus</i>
15	B3	<i>M. caseolyticus</i>
16	B4	<i>M. caseolyticus</i>
17	B5	<i>M. caseolyticus</i>
18	B6	<i>S. aureus</i>
19	B7	<i>S. aureus</i>
20	B8	<i>S. aureus</i>
21	B9	<i>M. caseolyticus</i>
22	B10	<i>M. caseolyticus</i>
23	B11	<i>M. caseolyticus</i>
24	B12	<i>M. caseolyticus</i>
25	C1	<i>Salmonella</i> spp.
26	C2	<i>Salmonella</i> spp.
27	C3	<i>H.alvei</i>
28	C4	<i>H.alvei</i>
29	C5	<i>H.alvei</i>
30	C6	<i>H.alvei</i>
31	C7	<i>H.alvei</i>
32	C8	<i>Salmonella</i> spp.
33	C9	<i>H.alvei</i>
34	C10	<i>Salmonella</i> spp.
35	C11	<i>Salmonella</i> spp.
36	C12	<i>Salmonella</i> spp.
37	D1	<i>H.alvei</i>
38	D2	<i>Salmonella</i> spp.
39	D3	<i>H.alvei</i>
40	D4	<i>H.alvei</i>

Çizelge 4.5'e göre Çeşitli çiğ ve pişmiş gıdalardan izole ettiğimiz Gram pozitif bakterilerin izolatlarının 10' u *S. aureus* 14' ü *M. caseolyticus* olarak tespit edilmiştir. Çeşitli çiğ ve pişmiş gıdalardan izole ettiğimiz Gram negatif bakteri izolatlarının 7' si *Salmonella* spp. 9' u *H. alvei* olarak tespit edilmiştir. Toplam 106 gıda örneğinin (çiğ tavuk, tavuk döner, çiğ süt, peynir) 40' ından Gram negatif ve Gram pozitif bakteri izole edilmiştir.

Çizelge 4.6. Gıda örneklerinden izole edilen bakterilerin, Congo Red Agar’a göre slime sonuçları

Gıda örnek adı	İzolat sayısı	<i>S. aureus</i>		<i>M. caseolyticus</i>		<i>Salmonella spp.</i>		<i>H. alvei</i>	
		Slime pozitif	Slime negatif	Slime pozitif	Slime negatif	Slime pozitif	Slime negatif	Slime pozitif	Slime negatif
Çiğ Süt	10	10	-	-	-	-	-	-	-
Peynir	14	-	-	14	-	-	-	-	-
Çiğ Tavuk	16	-	-	-	-	7	-	9	-
TOPLAM	40	10	-	14	-	7	-	9	-

Çizelge 4.6’ ya göre, gıda örneklerinden izole edilen toplam 10 *Staphylococcus aureus* izolat’ının slime aktivite sonuçları (çiğ süt örneklerinden izole edilen) tamamı, slime pozitif olarak tespit edilmiştir. Gıda örneklerinden izole edilen 14 *Macroccoccus caseolyticus* izolat’larının (peynir örneklerinden izole edilen) 14’ü slime pozitif olarak tespit edilmiştir. 16 çiğ tavuk örneğinden elde edilen *Salmonella spp.* ve *Hafnia alvei* izolat’larının tamamında slime pozitif olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızda biyofilm formasyon aktiviteleri kristal violet ile boyanan kuyucuklardaki boya %33’ lük glasiyel asetik asit ile çözdürüldükten sonra her bir kuyucuktaki optik yoğunluk 570 nm de mikropate okuyuda ölçülmüştür. Sonuçlar Luria Bertani Broth’ daki negatif kontrollerin ortalamasına göre değerlendirilmiştir. Her bir aralık negatif kontrolün sırasıyla bir, iki ve dört katı olacak şekilde belirlenmiştir.

Çizelge 4.7. Luria Bertani Broth daki biyofilm ölçümü sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılan optik değerler

Luria Bertani Broth			
24*			
...	<	(-)	< 0.086
0.086	<	(+)	< 0.172
0.172	<	(++)	< 0.688
0.688	<	(+++)	< ...

(-): negatif

(+): zayıf,

(++):orta,

(+++):kuvvetli

24*: inkübasyon süresi

Çizelge 4.8. Gıda örneklerinden izole edilen toplam 24 Gram pozitif bakterinin biyofilm aktivite ölçüm sonuçları

No	İzolat no	Biyofilm aktivitesi
1	S6 <i>S. aureus</i>	+++
2	S7 <i>S. aureus</i>	+++
3	S9 <i>S. aureus</i>	++
4	S10 <i>S. aureus</i>	+++
5	S11 <i>S. aureus</i>	+++
6	S13 <i>S. aureus</i>	++
7	S15 <i>S. aureus</i>	++
8	S16 <i>S. aureus</i>	+++
9	S17 <i>S. aureus</i>	+++
10	S26 <i>S. aureus</i>	+++
11	P27 <i>M. caseolyticus</i>	+++
12	P76 <i>M. caseolyticus</i>	-
13	P79 <i>M. caseolyticus</i>	-
14	P82 <i>M. caseolyticus</i>	-
15	P83 <i>M. caseolyticus</i>	+++
16	P86 <i>M. caseolyticus</i>	+++
17	P91 <i>M. caseolyticus</i>	+++
18	P92 <i>M. caseolyticus</i>	+++
19	P93 <i>M. caseolyticus</i>	++
20	P97 <i>M. caseolyticus</i>	++
21	P98 <i>M. caseolyticus</i>	-
22	P99 <i>M. caseolyticus</i>	++
23	P100 <i>M. caseolyticus</i>	+++
24	P102 <i>M. caseolyticus</i>	++

Çizelge 4.8 ‘e göre çeşitli gıda örneklerinden izole edilen 24 adet Gram pozitif bakterinin 13’ü (%54.1) kuvvetli, 7’si (%29.1) orta kuvvetli biyofilm pozitif bulunmuştur. İzolatlardan 4 ‘ü (%16.6) biyofilm negatif olarak bulunmuştur.

Sütten izole edilen 10 *S. aureus* izolatının 7’si (%70) kuvvetli, 3’ü (%30) orta kuvvetli pozitif biyofilm bulunmuştur. Sütten izole edilen *S. aureus* izolatlarında negatif biyofilm örneğini tespit edilememiştir. Peynirden izole edilen 14 *M. caseolyticus* 6’ s ı (%42.8) kuvvetli, 4’ü (%28.5) orta kuvvetli biyofilm pozitif bulunmuştur. Peynirden izole edilen *M. caseolyticus* izolatlarının 4’ü (%28.5) negatif biyofilm olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.9. Gıda örneklerinden izole edilen toplam 16 Gram negatif bakterinin biyofilm aktivite ölçüm sonuçları

No	İzolat no	Biyofilm aktivitesi
1	Y37 <i>Salmonella</i> spp.	+++
2	Y44 <i>Salmonella</i> spp.	++
3	Y45 <i>Salmonella</i> spp.	++
4	Y47 <i>Salmonella</i> spp.	++
5	Y48 <i>Salmonella</i> spp.	+++
6	T50 <i>Salmonella</i> spp.	+++
7	T51 <i>Salmonella</i> spp.	++
8	T61 <i>H.alvei</i>	+++
9	T65 <i>H.alvei</i>	++
10	T70 <i>H.alvei</i>	+++
11	T75 <i>H.alvei</i>	++
12	D1 <i>H.alvei</i>	+++
13	C2 <i>H.alvei</i>	++
14	C3 <i>H.alvei</i>	+++
15	C4 <i>H.alvei</i>	+++
16	Y5 <i>H.alvei</i>	+++

Çizelge 4.9.'a göre çeşitli gıda örneklerinden izole edilen toplam 16 Gram negatif bakterinin 9'u (%56.25) kuvvetli, 7'si (%43.75) orta kuvvetli biyofilm pozitif bulunmuştur. Negatif biyofilm tespit edilememiştir. Kuvvetli pozitif biyofilm yüzdesi Gram pozitif bakterilerden (*S. aureus* ve *M. caseolyticus*) kuvvetli pozitif yüzdesinden daha yüksek bulunmuştur. Orta kuvvetli pozitif biyofilm yüzdesi Gram pozitif bakterilerden (*S. aureus* ve *M. caseolyticus*) orta kuvvetli pozitif biyofilm yüzdesinden daha yüksek bulunmuştur. Gram pozitif bakterilerden (*S. aureus* ve *M. caseolyticus*) 4 tane biyofilm negatif izolat bulunmuştur. Gram negatif bakterilerde ise (*Salmonella* spp. ve *H. alvei*) negatif biyofilm izolatu tespit edilememiştir.

Çizelge 4.10. Gıda örneklerinden izole edilen bakterilerin, Koyun Kanlı Agar’a göre hemoliz sonuçları

Gıda örnek adı	İzolat sayısı	<i>S. aureus</i>		<i>M. caseolyticus</i>		<i>Salmonella spp.</i>		<i>H. alvei</i>	
		hemoliz pozitif	hemoliz negatif	hemoliz pozitif	hemoliz negatif	hemoliz pozitif	hemoliz negatif	hemoliz pozitif	hemoliz negatif
Çiğ Süt	10	10	-	-	-	-	-	-	-
Peynir	14	-	-	7	-	-	-	-	-
Çiğ Tavuk	16	-	-	-	-	7	-	9	-
TOPLAM	40	10	-	7	-	7	-	9	-

Staphylococcus aureus, *Macroccus caseolyticus*, *Salmonella spp.* ve *Hafnia alvei* izolat’larının Nutrient Agar (NA) besiyerindeki 18-24 saatlik taze kültürlerinden alınıp hemoliz oluşturma özellikleri ortaya çıkarmak için belirlenen kolonilerden alınarak, Koyun Kanlı Agar (Sheep Blood Agar)’a tek koloni yöntemi ile ekim yapılmıştır.

37°C’de 24-48 saat inkübasyon sonunda oluşan koloniler etrafında zon oluşumunun gözlenmesi ile hemoliz pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.10’a göre, Gram negatif bakterilerde (*Salmonella spp.* ve *Hafnia alvei*) izolat’larının tamamında hemoliz tespit edilmiştir. Gram pozitif bakterilerden (*S. aureus* ve *Macroccus caseolyticus*) izolat’larının tamamında hemoliz tespit edilmiştir.

Çizelge 4.11. Gıda örneklerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antibiyotik dirençlilik oranları

Antibiyotik Adı	Duyarlı		Orta Duyarlı		Dirençli	
	n	%	n	%	n	%
Ampisilin (AM)	5	50	3	30	2	20
Eritromisin (E)	7	60	-	-	3	30
Gentamisin (GN)	10	100	-	-	-	-
Tetrasiklin (TE)	7	70	-	-	3	30
Vankomisin (VA)	5	50	5	50	-	-
Kloramfenikol (C)	10	100	-	-	-	-

n:İzolat sayısı

Çizelge 4.11’e göre; Gıda örneklerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antibiyotik dirençlilik oranlarında bütün izolatların

kloramfenikol ve gentamisine duyarlı olduğu tespit edilmiştir. En çok dirençlilik (%30) ile tetrasiklin ve eritromisin olarak gözlenmiştir. Vankomisin (%50) ile *S. aureus*’ a en çok orta duyarlılık gösteren antibiyotik olmuştur.

Çizelge 4.12. Gıda örneklerinden izole edilen *M. caseolyticus* izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antibiyotik dirençlilik oranları

Antibiyotik Adı	Duyarlı		Orta Duyarlı		Dirençli	
	n	%	n	%	n	%
Ampisilin (AM)	5	35.7	5	35.7	4	28.5
Eritromisin (E)	6	42.8	-	-	8	57.1
Gentamisin (GN)	14	100	-	-	-	-
Tetrasiklin (TE)	10	71.4	-	-	4	28.5
Vankomisin (VA)	9	64.2	5	35.7	-	-
Kloramfenikol (C)	14	100	-	-	-	-

n: İzolat sayısı

Çizelge 4.12’ye göre; Gıda örneklerinden izole edilen *M. caseolyticus* izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antibiyotik dirençlilik oranlarında bütün izolatların kloramfenikol ve gentamisine duyarlı olduğu tespit edilmiştir. En çok dirençlilik (%57.1) ile eritromisin olarak gözlenmiştir. Vankomisin ve ampisilin (%35.7) ile *M. caseolyticus*’ a en çok orta duyarlılık gösteren antibiyotik olmuştur.

Çizelge 4.13. Gıda örneklerinden izole edilen *Salmonella* spp. izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antibiyotik dirençlilik oranları

Antibiyotik Adı	Duyarlı		Dirençli	
	n	%	n	%
Ampisilin (AM)	3	42.8	4	57.1
Kanamisin (K)	7	100	-	-
Tetrasiklin (TE)	5	71.4	2	28.5
Kloramfenikol (C)	7	100	-	-
Siprofloksasin (CIP)	7	100	-	-
Streptomisin (S)	7	100	-	-

n: İzolat sayısı

Çizelge 4.13 ‘e göre; Gıda örneklerinden izole edilen *Salmonella* spp. izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antibiyotik dirençlilik oranlarında bütün izolatların streptomisin, siprofloksasin, kanamisin ve kloramfenikole duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

En çok dirençlilik (%57.1) ile ampisilin olarak gözlenmiştir. Hiçbir antibiyotik orta duyarlılık göstermemiştir.

Çizelge 4.14. Gıda örneklerinden izole edilen *H. alvei* izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antibiyotik dirençlilik oranları

Antibiyotik Adı	Duyarlı		Dirençli	
	n	%	n	%
Ampisilin (AM)	5	55.5	4	45.5
Kanamisin (K)	9	100	-	-
Tetrasiklin (TE)	7	77.7	2	22.2
Kloramfenikol (C)	9	100	-	-
Siprofloksasin (CIP)	9	100	-	-
Streptomisin (S)	9	100	-	-

n: İzolat sayısı

Çizelge 4.14 'e göre; Gıda örneklerinden izole edilen *H. alvei* izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antibiyotik dirençlilik oranlarında bütün izolatların streptomisin, siprofloksasin, kanamisin ve kloramfenikole duyarlı olduğu tespit edilmiştir. En çok dirençlilik (%45.5) ile ampisilin olarak gözlenmiştir. Hiçbir antibiyotik orta duyarlılık göstermemiştir.



5. TARTIŞMA

Gıdaların *S.aureus* ile kontaminasyonu kötü hijyen koşullarının veya çapraz kontaminasyonun bir göstergesidir. Koagülaz negatif stafilokok (KNS)' ler uzun zamandır kommensal veya kontaminant olarak değerlendirilmelerine karşın insanlarda patojenik etkilerinin olduğu, çeşitli enfeksiyonlara sebep olduğu bildirilmektedir. Koagülaz negatif stafilokok KNS'lerin aynı zamanda hayvanlarda da hastalık oluşturduğu, enfekte inek ve keçi meme bezlerinden izole edilebildiği vurgulanmaktadır. Ayrıca subklinik mastitis vakalarında ikinci derece patojen olarak kabul edilebilmektedir ve akut mastitise sebep olmaktadır. Gıda kaynaklı olarak süt ve et ürünlerinde Stafilokoklar bulunabilmekte ve çeşitli intoksikasyonlara neden olabilmektedir [79,80].

Gündoğan ve arkadaşlarının (2005) yaptıkları çalışmada 150 örnek çiğ dana / kuzu eti örneği (kıyma ve topak) ve tavuk parçaları (sakatat, karkas) örneğinden 80 *S. aureus* izole etmişlerdir. [81].

Kırkan ve arkadaşlarının (2005) Türkiye de yaptıkları çalışmada toplam 300 mastitisli süt örneğini incelemişler, 85 (% 28) *S. aureus*, 60 (% 20) Koagülaz negatif stafilokok (KNS) elde etmişlerdir [82].

Normanno ve arkadaşlarının (2007) yılında Avrupa' da yaptıkları bir araştırmada 437 çiğ süt örneğinin 168 (%31)'inde, *S. aureus* bulunduğunu tespit etmişlerdir. İtalya'da hazır tüketime sunulan süt ve süt ürünlerinde *S. aureus* 'un varlığının araştırıldığı bir diğer araştırmada ise İtalyan geleneksel peynirlerde % 25 *S. aureus*, yumuşak tip peynirlerde ise % 18.9 oranında *S. aureus* bulduklarını bildirmişlerdir [83].

Türkiyede yapılan başka bir çalışmada Güven ve arkadaşlarının (2010) İç Anadolu Bölgesi'ndenki çeşitli illerden temin edilen çiğ süt ve peynirden sırasıyla % 33.3, % 27.9 oranlarında *S. aureus* izole etmişlerdir [84].

Jaowapa ve arkadaşlarının (1994), Tayland'da yaptıkları çalışmada Bangkok'tan topladıkları çiğ tavuk eti, sakatat (karaciğer, kalp, taşlık) ve pişmiş tavuk ürünlerinde (köfte ve sosis) *Salmonella* spp. varlığını araştırmışlardır. Dokuz açık pazardan, dokuz süpermarketten ve dört kümes işleme tesisinden toplam 1135 örnek toplayıp

incelemişlerdir. 705 tavuk eti örneğinden 467 (%66), 221 sakatat örneğinden 190 (%86), 209 pişmiş üründen 21 (%10) *Salmonella* spp. izolasyonu gerçekleştirmişlerdir [85].

Raufu ve arkadaşlarının (2009), yaptıkları çalışmada Nijerya'nın kırsal alanlarında tavuklarda ve diğer kanatlı et ürünlerinde *Salmonella* spp. yaygınlığını belirlemişler ve elde edilen izolatların antibiyotik duyarlılıklarını tespit etmişlerdir. 525 farklı tavuktan 865 örnek toplamıştır ve bu örnekler, karkas tavuk örneklerinin böbrek, akciğer, çekum, bağırsak, karaciğer, kalp, taşlık ve kloak bezlerinden toplanmıştır. Örneklerden toplam 130 *Salmonella* spp. izole edilmiştir. 60 taşlık örneğinden, 76 kalp örneğinden ve 75 karaciğer örneğinden *Salmonella* spp. izolasyonu gerçekleşmemiştir [86].

Molla ve arkadaşlarının (2003) Etiyopya'da Debre Zeit ve Addisababa'da bulunan kümes işleme tesisleri ve perakende satış yapan marketlerden topladıkları çiğ tavuk eti ve sakatatlarda (kalp, taşlık ve karaciğer) *Salmonella* spp. bulunma sıklığını ve dağılımını araştırmışlardır. Kasım 2001- Nisan 2002 yılları arasında toplam 378 örnek toplanmıştır. İncelenen 378 örnekten 80 (%21,1) *Salmonella* spp. izolatu elde etmişlerdir [87].

Favier ve arkadaşlarının (2013), Arjantin'in San Luis şehrinde 2005-2011 yılları arasında perakende olarak satışa sunulan hayvansal kökenli gıdalarla yapılan çalışmada *Salmonella* spp. varlığı araştırılmıştır. 427 gıda örneği analiz edilmiş olup bunlardan 27'sinde (%6,32) *Salmonella* spp. izolatu tespit edilmiştir [88].

Blaiotta ve arkadaşları (2004) yılında Güney İtalya'da Basilicata şehrinde üretilen geleneksel olarak fermente edilen iki sosis tipinde (salsiccia ve soppressata lucana) koagülaz negatif stafilokok (KNS) ve *M. caseolyticus* tespit etmişlerdir [89].

Resende ve arkadaşlarının (2018) Brezilya'da yaptıkları çalışmada, 7 farklı markadan aldıkları 35 yerel Minas peyniri örneğinden 208 Gram pozitif bakteri izolatu elde etmiştir. Bunların 140'ı *Enterococcus*, 30'u *Staphylococcus*, 38'i ise *Macroccoccus caseolyticus* olarak tespit edilmiştir [90].

MacFadyen ve arkadaşları (2016) yılında İngiltere ve Galler süt çiftliklerinden toplu tank sütü örneklerinden 33 metisiline dirençli *M. caseolyticus* varlığını tespit etmişlerdir. Makrokoklar, veterinerlik patojenleri olarak yakından ilişkilidir fakat patojenik

stafilokoklara geçebilecek potansiyel metisiline direnç belirleyici olarak giderek daha fazla önem taşımaktadır [91].

Bu çalışmada metisiline dirençli *M. caseolyticus* izolatlarını İngiltere ve Galler süt sığırlarından izole edilmiştir. 33 izolatın tümü sefoksitin disk difüzyonu, E test ve Vitek 2 oksasilin testi ile metisiline dirençli olarak doğrulanmıştır [91].

Dugat ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptıkları çalışmada tuz yüzdesi azaltılmış diyet yumuşak Fransız peynirlerinden *H. alvei* izole etmişlerdir. Diyet yumuşak Fransız peynirlerinde tuz yüzdesinin azaltılmasının bazı patojen bakteri üremesini sağlayacağını tespit etmişlerdir [92].

Grabowski ve arkadaşları 2017 yılında yaptıkları bir çalışmada balda bulunan mikroorganizmaların patojenik potansiyelini değerlendirmişlerdir. Balın çok çeşitli bakteri türleri ve özellikle gıda zincirine erken bir aşamada giren (örneğin polen yoluyla) mantarlar içerebileceğini tespit etmişlerdir. Balda *Staphylococcus* spp., *Citrobacter* spp., *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Trichoderma* spp., *Chaetomium* spp. türlerini tespit etmişlerdir. Bu mikroorganizmaların büyük bir çoğunluğu insanlar için fırsatçı enfeksiyonlar olarak kabul edilmiştir ancak bu mikroorganizmaların bal yoluyla doğrudan enfeksiyonları literatürde tespit edilmemiştir [93].

Bizim yaptığımız çalışmada Ankara bölgesinden toplanan çiğ süt örneklerinde *S. aureus* %9, peynir örneklerinde ise *M. caseolyticus* %13 olarak tespit edilmiştir. Araştırmamızdaki çiğ süt örneklerinden izole edilen *S. aureus*'un bulunma oranları diğer araştırmacıların verilerine benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda 106 örneğin 10'u (%9)' u *S. aureus*, 7'si (%6.6)'sı *Salmonella* spp. olarak tespit edilmiştir. Yapılan çeşitli çalışmalarda *S. aureus* ve *Salmonella* spp. görülme sıklığı bizim sonuçlarımıza paralellik göstermektedir. Toplam 106 gıda örneğinden (çiğ süt, peynir, tavuk döner ve çiğ tavuk örneğinden), 14 *Macroccus caseolyticus*, 10 *Staphylococcus aureus*, 9 *Hafnia alvei* ve 7 *Salmonella* spp. izolatı elde edilmiştir.

Yazdani ve arkadaşlarının (2006) yılında İran'da yaptıkları çalışmada *S.aureus*' un biyofilm oluşturma kapasitesini ve bunların arasında icaA geninin varlığını değerlendirmiştir. Yara enfeksiyonlarından 50 *S.aureus* izole etmiştir. İzolatların % 54'ü

slime üretmiş, % 52'si biyofilm oluşturduğu bulunmuştur. Biyofilm üretiminin enfeksiyon için bir risk faktörü oluşturduğu ve biyofilm oluşumun antimikrobiyal direncin artmasına neden olabileceği tespit edilmiştir [94].

Yerli ve arkadaşları (2014) yılında yaptıkları çalışmada Fermente sucuklarından izole edilen 10 *Macroccoccus caseolyticus* izolatlarının biyofilm oluşturma özellikleri biyofilm oluşumu ile ilişkili genlerinin (*icaA*, *icaD* ve *bap*) yanında adezyon genlerinin de (*fnbB*, *fib*, *clfA*, *clfB*, *cna*, *eno*, *ebpS*, *bbp* ve *fnbA*) varlığı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile araştırılmıştır. Çalışma sonucunda *M. caseolyticus* izolatlarının tamamında (*eno* geni) tespit edilmiştir [95].

Biyofilm üreten bakterilerin antibiyotiklere karşı azalmış olan hassasiyetlerinin nedeninin tam olarak bilinmemesine rağmen, biyofilmin antimikrobiyal ajanlara karşı bir difüzyon bariyeri oluşturduğunu ve düşük üreme hızı ve bu hücrelerin atipik fenotipine bağlı olarak, bakterilerin değişen fizyolojisinin antibiyotik direncini arttırdığını ileri sürmektedirler [96].

Çiftçi ve arkadaşları 2008 yılındaki yaptıkları çalışmada, sığır mastitis kaynaklı 59 *S. aureus*' un biyofilm oluşturma yeteneklerini fenotipik ve genotipik olarak çalışmışlar. 59 *S. aureus* izolatının 15' inde (*ica A* ve *ica D*), 16' sında (*ica A*) 28' inde (*ica D*) genini tespit etmişlerdir. Biyofilm aktivitesi fenotipik olarak araştırıldığında, 22' sinde biyofilm pozitif olarak tespit etmişlerdir. *İca A* ve *ica D* geni tespit ettikleri 15 *S. aureus*' un 8' inde biyofilm aktivitesini pozitif olarak bulmuşlardır [97].

Yara enfeksiyonları, stafilokok enfeksiyonlarının sık görülen bir komplikasyonudur. *S.aureus*' un virülans faktörlerinden biri de konakçı yüzeyleri üzerine biyofilm oluşturmaları ve yüzeye (tutunması) yapışmasıdır. Biyofilm, birçok hücre katmanı etrafındaki bir slime matrisi olan bir eksopolisakarittir ve ekspresyona aracılık eder [98].

2012 yılında Polonya' da Szweda ve arkadaşları sığır mastitis kaynaklı 132 *S. aureus* ' un biyofilm oluşturma yeteneklerini fenotipik ve genotipik olarak çalışmışlardır. İzolatların çoğunda, 132 *S. aureus* ' un 76' sında biyofilm oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Test edilen izolatların %100' ün de hem *ica A* hem de *ica D* genini tespit edilmiştir [99].

S. aureus, bulaşıcı mastitten sorumlu en yaygın patojenlerden biridir. *S. aureus* 'un in vivo olarak biyofilm oluşturma kabiliyetinin mastitisteki patogenezi etkileyen ana virülans faktörü olduğu düşünülmektedir.

Vasudevan ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptıkları çalışmada in vitro slime üretimi, biyofilm oluşumu ve *S. aureus* izolatlarında ica gen lokusu ve icaA, icaD genlerinin varlığını incelemişlerdir. Test edilen 35 *S. aureus* izolatının 32'sinde, Kongo kırmızısı agar üzerinde slime meydana gelirken, izolatların sadece 24 tanesinin in vitro biyofilm ürettiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte, bütün izolatın 35, ica lokusu, icaA ve icaD genlerine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada, *S. aureus*' un mastitis izolatları arasındaki ica genlerinin yüksek prevalansını göstermektedir. İca lokusunun varlığının her zaman in vitro slime ve biyofilm oluşumu ile ilişkili olmadığını tespit etmişlerdir [100].

Brezilya'da 2014 yılında Castelani ve arkadaşlarının *S. aureus*' un mastitisli ineklerde biyofilm oluşumu ve virülans genler bakımından araştırmışlardır. Bu bağlamda, Kongo kırmızısı agarda biyofilm oluşumunu, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile icaA ve icaD genlerinin varlığını ve *S.aureus* izolatlarının antimikrobiyal direncini araştırmışlardır [101].

Mastitisli inekler ve ineklerin salgılarından PCR ile yapılan araştırmada, icaA ve icaD genlerini, sırasıyla, izolatların % 98 ve % 100'ün de saptanmıştır. Bununla birlikte, tüm izolatların sadece % 55.5'i Kongo kırmızı agarda biyofilm pozitif bulunmuştur. İneklerin, biyofilm oluşturabilen, antibiyotiklere karşı dirençli izolatları taşıyabilecekleri ve bu durumun halk sağlığı ve hayvan sağlığı için tehdit oluşturabileceklerini bulmuşlardır [101].

Büyüktaraççı ve arkadaşlarının 2015 yılında Aydın ili çevresinde bulunan süt işletmelerinde 100 çiğ inek sütünden *S. aureus* varlığı araştırılmıştır. 100 inek sütünden 77'sinde üreme olurken 23' sinde üreme olmamıştır. 77 örneğin tamamı *S. aureus* olarak tespit edilmiştir. 77 izolatın 13'ünde (%16.8) biyofilm negatif olarak tespit edilirken, 64 izolat da (%83.1) biyofilm pozitif olarak tespit etmişlerdir [102].

Kaya ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 2016 yılında gıda endüstrisinin elde edilen numunelerden izole edilen *S. aureus* izolatlarından biyofilm aktiviteleri araştırılmıştır. Gıda numunelerinden izole edilen toplam 42 *S. aureus* izolatı tespit edilmiştir. *S. aureus*

izolatlarının biyofilm aktivitesi konvansiyonel mikrotitrasyon plak yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar biyofilm aktivitesine göre güçlü, orta, zayıf ve negatif olarak kategorize edilmiştir. *S. aureus* izolatlarından 39'u güçlü, 1 izolat orta ve 1 izolat zayıf biyofilm aktivitesi göstermiştir. 1 izolat ise biyofilm negatif olarak belirlenmiştir [103].

2017 yılında Branko ve arkadaşlarının *S. aureus*' u sığır mastitis izolatlarında biyofilm oluşumu için öneme sahip olan icaA ve icaD yönünden varlığını araştırmışlardır. *S. aureus*' u izole etmek ve tanımlamak için, Sırbistan Cumhuriyeti'nin farklı bölgelerinde yer alan 401 inekten 1555 süt örneği toplanmıştır. Geleneksel mikrobiyolojik yöntemler kullanılarak 100 izolat, koagülaz pozitif stafilokok bulunmuştur. Biyokimyasal tanımlamanın ardından, 44 *S. aureus* izolatlarının tür onayı, MALDI-TOF Kütle Spektrometresi ve (16s PCR) tekniği kullanılarak yapılmıştır [104].

İncelenen tüm *S. aureus* izolatları arasında % 25 de hem icaA genini hem de icaD genlerini barındırdığını tespit etmişlerdir. Sadece icaD geninin varlığı, icaD pozitif izolatların toplamının % 40.9' unda doğrulanmıştır. *S. aureus* izolatlarının kalan % 34.1'i her iki genin varlığı için negatif bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçları inek yetiştiriciliği alanında, Sırbistan Cumhuriyetinin farklı bölgelerindeki potansiyel biyofilm üretme yeteğine sahip olan bakterilerin varlığını göstermiştir [104].

Bizim çalışmamızda ise çeşitli gıda örneklerinden izole ettiğimiz Gram pozitif ve Gram negatif izolatlarının sırasıyla biyofilm aktivitesi (%54.1) kuvvetli biyofilm ve (%56.25) kuvvetli biyofilm tespit edilmiştir. Sonuçlar bizim sonuçlarımızla paralellik göstermektedir.

Yıldırım ve arkadaşlarının (2008) yılında yaptıkları çalışmada çeşitli kaynaklardan izole edilen 90 koagülaz negatif stafilokok izolatının 76' sının slime pozitif, 14' ünün ise slime negatif olarak belirlemişlerdir. Slime pozitif izolatların, slime negatif izolatlara göre oksasiline karşı daha dirençli olduğu belirlenmiştir. Slime pozitif ve negatif izolatların penisilin, eritromisin, trimetoprim sülfametoksazol ve tetrasikline direnç gösterme oranı birbirine yakın bulunmuş olup anlamlı farklılıklar görülmemiştir. İstatistiksel sonuçlara göre; stafilokok izolatlarının en çok teikoplanin ve vankomisine duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Tüm stafilokok izolatlarının en çok direnç gösterdiği antibiyotikler; oksasilin, penisilin ve eritromisin olarak saptanmıştır. Güçlü slime üretiminin antibakteriyel

maddenin mikroorganizmaya olan difüzyonunu engelleyen bir bariyer olduğu gözlenmiştir [105].

Boussard ve arkadaşlarının (1993) yaptıkları çalışmada, slime negatif izolatların test edilen bütün antibiyotiklere karşı duyarlı olduğu saptanırken, slime pozitif izolatların en az yedi antibiyotiğe slime negatif olanlardan daha dirençli oldukları görülmüştür [106].

Souli ve arkadaşlarının (1998) yaptıkları çalışmada Koagülaz negatif stafilokok (KNS) ların ürettiği slimenin glikopeptid antibiyotiklerin etkinliklerini azalttığı, rifampisin, klindamisin ve makrolidlerin aktivitesinde değişiklik yaratmadığını bulmuşlardır [107].

Ersoy ve arkadaşlarının 2002 yılında yaptıkları çalışmada; çeşitli örneklerden izole ettikleri 45 *S. aureus* izolatının 11 (% 24,4)' inde, 60 *S. epidermidis* izolatının 25 (41,7)' inde, 6 *S. haemolyticus* izolatının 2 (% 33,3)' sinde, 12 *S. hominis* izolatının 2 (%16,7)'sinde, 8 *S. simulans* izolatının 2 (% 25)' inde, slime üretimini pozitif olarak tespit etmişlerdir [108].

S. auricularis, *S. warnerri*, *S. wapitis* ve *S. saprophyticus* izolatlarında slime üretimini negatif tespit etmiş olup, slime üretimini en yüksek % 41,7' lik oranla *S.epidermidis* izolatlarında tespit etmişlerdir [108].

Slime üreten Koagülaz negatif stafilokok (KNS)' lerde, gentamisin ve rifampisin hariç, çalışılan diğer antibiyotiklere karşı, daha yüksek direnç oranları saptanmıştır. Antibiyotikler tek tek ele alındığında, slime üreten KNS' lerde siprofloksasin ve ofloksasine karşı olan direnç oranları, slime üretmeyen KNS' lere karşılaştırıldığında istatistiksel olarak yüksek derecede anlamlı bulunmuştur. Diğer antibiyotiklere karşı olan direnç, slime üreten grupta yüksek olarak tespit edilsede fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Slime üreten ve üretmeyen KNS' lerin çoklu antibiyotik dirençleri karşılaştırıldığında, slime üreten grupta % 90 oranında bulunan çoklu antibiyotik direnci slime üretmeyen grupta % 67,6 olarak bulunmuştur [109].

Arabacı ve arkadaşlarının (2008) yaptıkları çalışmada burun kültüründen elde edilen 94 stafilokok kökenli örneğin 84' ü *S. aureus* olarak adlandırılmış, 10' u Koagülaz negatif stafilokok (KNS) olarak adlandırılmıştır. Burun kültüründen elde edilen 94 örneğin slime (sümüksü yapı oluşturması) sırasıyla *S. aureus*'da (%40,4), KNS' lerde (%40) olarak

saptanmıştır. Slime oluşturma özelliği metisilin hassas *S. aureus*' larda (%24,4) tespit edilirken, metisilin dirençli grupta (% 51,4) olarak bulunmuştur. Metisilin dirençli grupta slime oluşturma özelliği daha yüksek oranda bulunmuştur [110].

Bizim çalışmamızda gıda örneklerinden izole edilen *Staphylococcus aureus*, *Macroccoccus caseolyticus*, *Salmonella* spp. ve *Hafnia alvei* izolatlarının tamamı, slime pozitif olarak tespit edilmiştir. Dünya ve ülkemizdeki sonuçlara benzerlik göstermektedir.

Gıdaların kontaminasyonu, enfekte besi hayvanlarından, gıda üretim zincirine, işleme, depolama ve satış aşamalarında doğru sanitasyonun yapılmaması sebebiyle gerçekleşebilmektedir. Gıdalardan *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Enterococcus* ve *Macroccoccus* gibi Gram pozitif bakteriler sıklıkla izole edilmektedir. Bu bakterilerin birçok türünün patojen olmaması, kontaminasyonun çok ciddiye alınmamasına sebep olmaktadır. Fakat gerek gıda enfeksiyon ve intoksikasyonlarına gerekse antimikrobiyal direncin yayılımına yol açmaları sebebiyle çiftlik hayvanlarından, sofralara uzanan gıda zincirinde Gram pozitif bakterilerin kontrolü ciddi önem göstermektedir [111].

Antimikrobiyal maddelerin (antibiyotik, antiseptik ve dezenfektan) besi hayvanlarında kullanılması, et, süt ve ürünlerinin tüketilmesi yoluyla, dirençli bakterilerin insan gastrointestinal sistemine girmesine ve direnç genlerini bağırsaktaki patojenik ve patojenik olmayan bakterilere aktarmasına sebep olmaktadır.

Ta ve arkadaşlarının (2014) Vietnam'da satışa sunulan kullanıma hazır gıda örneklerinden izole ettikleri *Salmonella* spp. izolatlarına antibiyogram testi uygulamışlardır. Toplam 457 izolatın serotiplendirilmesi ve antibiyotik testleri yapılmıştır. Uygulanan antibiyotiklere karşı en çok direnç gösteren tetrasiklin (%59,1), ampisilin (%41,6) olmuştur [112].

Lu ve arkadaşlarının (2014), Doğu Çin'de 6 broiler çiftliğinden toplam 310 *Salmonella* spp. izolatu elde etmişlerdir. 310 *Salmonella* spp. izolatında 2 serotip belirlemişler; 177'si *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis*, 133'ü de *Salmonella enterica* serovar *Indiana* olarak belirlemişlerdir [113].

Lin Yi adlı çiftlikten toplanan fekal örneklerden izole edilen toplam 5 *Salmonella Indiana* izolatının dirençliliğinin belirlenmesi için uygulanan sıvı mikrodilüsyon yöntemi sonucu dirençlilikleri;

Ampisiline %100, kloramfenikole %100, tetrasikline %100, kanamisine %60, 114 *Salmonella Enteridis* türünün dirençliliği; ampisiline %78,1, kloramfenikole %5,3, tetrasikline %73,7, kanamisine %9,6'dır.

Zou Ping çiftliğinden toplanan örneklerden izole edilen 28 *Salmonella Indiana* izolatının dirençliliğinin belirlenmesi için uygulanan sıvı mikrodilüsyon yöntemi sonucu dirençlilikler;

Ampisiline %96,4, kloramfenikole %75, tetrasikline %89,3, kanamisine %82,1; 23 *Salmonella Enteridis* türünün dirençliliği; ampisiline %69,6, kloramfenikole %4,3, kanamisine %4,3, tetrasikline %52,2 'dir.

Yan Tai çiftliğinden toplanan örneklerden izole edilen 100 *Salmonella Indiana* izolatının dirençliliğinin belirlenmesi için uygulanan sıvı mikrodilüsyon yöntemi sonucu dirençlilikler;

Ampisiline %98, kloramfenikole %87, tetrasikline %52,2, kanamisine % 94; 40 *Salmonella Enteridis* türünün dirençliliği; ampisiline % 62,5, kloramfenikole %0, tetrasikline %55, kanamisine %2,5'dir [109].

Rahimi ve arkadaşlarının (2012), İran'da yaptığı çalışmada parakende satışa sunulan tavuk, hindi ve devede et örneğinde (kalp, taşlık ve kalp) *Salmonella* spp. bulunma sıklığını ve antimikrobiyal direnci araştırmıştır. Haziran 2009-Şubat 2011 yılları arasında İsfahan ve Shahrekord şehirlerinden rastgele alınan toplam 300 numunenin: tavuk (n=150), hindi (n=105) ve devede (n=45) *Salmonella* spp. izolasyonu, serotiplendirmesi ve antibiyotik duyarlılıklarını belirlemiştir. Tavuk örneklerinden; 50 karaciğer örneğinden toplam (%18), 50 kalp örneğinden toplam (%6), 50 taşlık örneğinden (%4) *Salmonella* spp. izolasyonu gerçekleştirmiştir [114].

Mainali ve arkadaşlarının (2014), Kanada'nın Alberta eyaletinde yaptıkları çalışmada örnek olarak topladıkları broyler cinsi tavuk örneklerinden *Salmonella* spp. izolasyonu

yapmışlar ve izole ettikleri *Salmonella*'ların antibiyotik dirençlilik profillerini değerlendirmişlerdir. Çalışmada 15 farklı antibiyotik kullanılmıştır. 272 *Salmonella* spp. izolatu test edilmiş ve %64'ü 1 veya 1 den daha çok antibiyotiğe karşı direnç göstermiştir. %10'u 3 ya da 3 den daha fazla antibiyotiğe karşı çoklu direnç göstermiş, %1,8'i ise 5 ya da 5 den daha çok antibiyotiğe karşı çoklu direnç göstermiştir. En fazla direnç tetrasikline (%54,8), streptomisine (%24,2), sülfisoksazole (%8,4) olmuştur [115].

Tajbakhsh ve arkadaşlarının (2012), İran'ın Shahrekord şehrinden topladıkları 350 çiğ inek sütündeki *Salmonella* spp. prevalansını ve izolasyon sonucunda elde edilen *Salmonella* spp. türlerinin antibiyotik dirençliliğini incelemişlerdir. 350 çiğ inek sütü örneğinden 14 (%4) *Salmonella* spp. izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Disk difüzyon yöntemiyle yaptıkları antibiyotik direnç testleri sonucunda; nalidiksik aside %78,57, sefalotine %21,42, streptomisine %21,42, ampisiline %42,58, neomisine %21,42, kloramfenikole %21,42, tetrasikline %42,58 olarak bulunmuştur [116].

H. alvei patojenitesi düşük bir mikroorganizmadır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde bu mikroorganizmanın etken olduğu mortalite ile seyreden bir enfeksiyon tespit edilmemiştir. Dünya' nın değişik yerlerinden gastroenterit vakaları bildirilmiştir.

Baçoğlu ve arkadaşlarının ülkemizde yaptıkları bir çalışmada Libya'dan yurdumuza gelen erkek hastada *H. alvei* ' nin neden olduğu akut gastroenterit vakasının tedavisi, siprofloksasin 500 mg günde 2 kez 7 gün süreyle kullanılmasıyla başarılı bir şekilde sonuçlanmıştır [117].

Reina ve arkadaşların 1993 yılında İspanya 'da yaptığı çalışmada yaşları 2,3,5 ve 6 olan akut gastroenterit şikayeti ile hastaneye gelen çocuk vakalarının gaita kültürlerinde *H. alvei* üretildiğini tespit edilmiştir [118].

Ghenghesh ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptıkları çalışmada Libya'daki akut gastroenteritli vakalarda etken olan mikroorganizmalar incelediklerinde, Rotavirüs 1. sırada yer alırken, *Salmonella* spp. ve *Cryptosporidium* spp. en sık rastlanan diğer patojenler olarak gösterilmiştir. Fakat *H. alvei* ile ilgili bir kayıt tespit edilememiştir [119].

Abbott ve arkadaşlarının 1994 yılında yaptıkları çalışmada Finlandiya'ya dönen turistler üzerinde yapılan bir araştırmada, 300'den fazla asemptomatik hastanın gaita kültürlerinde *H. alvei* negatifken, diyareli hastaların % 5'inin gaita kültürlerinde *H. alvei* tespit edilmiştir [120].

Ghenghesh ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptıkları çalışmada Bangladeş'te 3 gün devam eden sulu diyare anamnezi olan 9 aylık bir çocuğun gaitasından *H. alvei* izole edilmiştir. Yapılan deneysel çalışmada bu izolat, 12 yetişkin tavşanın 9'unda diyareye neden olmuş ve bağırsak epiteline olan etkisi elektron mikroskopisi ile tespit edilmiştir [121].

Janda ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptıkları çalışmada 76 *H.alvei* izolatının 69'unun antibiyotik direnç profilleri araştırılmıştır. Bu çalışmada ortaya çıkan sonuçlara göre *H.alvei* karbapenemler, monobaktamlar, kloramfenikol, kinolonlar, aminoglikozidler ve antifolatlara (trimetoprim-sulfametoksazolvs.) duyarlı; penisilin, oksasilin ve amoksisilin/klavulanik asite dirençli bulunmuştur. Tetrasiklin ve sefalosporinlere duyarlılık ise değişken olarak tespit edilmiştir [122].

Ge ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 2010-2011 yılları arasında Amerika Birleşik Devlet'inin 8 farklı eyaletinden toplanan perakende satışı yapılan 3520 et örneğinden 1032 (%29,8) *S.aureus* izole edilmiştir. Çalışmalarında izole ettikleri 1032 *S.aureus* izolatının %0,6'sında gentamisin, %12,6'sında eritromisin %54,1'inde tetrasiklin, %69,8 penisilin direnci belirlemişlerdir [123].

Tuncer ve arkadaşları (2014) yılında yaptıkları çalışmada çeşitli üreticiler tarafından starter kültür kullanılmadan üretilen fermente 20 sucuk örneklerinden izole edilen koagülaz negatif stafilokok (KNS) izolatlarının antibiyotik direnç profilleri belirlenmiştir. 16S rDNA sekans analizi ile 61 adet muhtemel KNS tür düzeyinde 21 adet *S.saprophyticus*, 16 adet *S. epidermidis*, 10 adet *Macroccoccus caseolyticus*, 4 adet *S. xylosus*, 3 adet *S. sciuri*, 2 adet *S. hominis*, 2 adet *S. warneri*, 1 adet *S. cohnii*, 1 adet *S. pasteurii* ve 1 adet *S. vitulinus* olarak izole edilmiştir. KNS ve *M. caseolyticus* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları 14 adet antibiyotiğe karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak test edilmiştir [124].

Disk difüzyon test sonuçları antibiyotiklere karşı KNS izolatlarının *M. caseolyticus* 'dan daha dirençli olduğunu göstermiştir. KNS izolatlarının tamamının kloramfenikol (30 µg),

linezolid (30 µg) ve sulfametoksozol/trimethoprim (25 µg) antibiyotiklerine duyarlı olduğu, ayrıca *M. caseolyticus* izolatlarının tamamının bu antibiyotikler ile birlikte gentamisin (10 µg), kanamisin (30 µg), ofloksasin (5 µg) ve sefalotine (30 µg) de duyarlı oldukları belirlenmiştir [124].

Ogbolu ve arkadaşlarının (2018) yaptıkları çalışmada Nijerya'da 16'sı *S.aureus* 9'u Koagülaz negatif stafilokok (KNS) olmak üzere 25 *Staphylococcus* ve 25 *Enterococcus* izolatıyla disk difüzyonla yaptığı çalışmada, *Staphylococcus*'ların 11'inde tetrasiklin, 11'inde eritromisin 17'sinde gentamisin direnci belirlenmiştir. *Enterococcus*'ların ise 18'i tetrasikline karşı dirençli bulunmuş eritromisine dirençli izolat bulunmamıştır. Gentamisin antibiyotiği disk difüzyon testi için 'uygulanamaz' olarak belirtilmiştir [125].

Hindistan'da 2009 yılında Kumar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, *S.aureus* izolatları Dehradun ve Delhi'nin iki kentinde, sebze dükkanları, hastaneler, medikal mağazalar, atıştırmalık köşeleri ve lokantalardaki kağıt paralar rastgele toplanmıştır. Numuneler, çeşitli biyokimyasal analizlerle *S. aureus* için taranmıştır [126].

S. aureus 'un virülans genleri PCR ile amplifiye edilmiş, disk difüzyon yöntemi ile antibiyotiklere karşı duyarlılıkları belirlenmiştir. Hindistan'ın çeşitli bölgelerdeki kağıt paralardan izole edilen 82 *S. aureus*'a 4 virülans genin (cna, icaA, Hlg, sdrE) varlığına bakılmıştır. 16 izolatta (cna), 19 izolatta (icaA), 21 izolatta (Hlg) ve 18 izolatta (sdrE) tespit edilmiştir. Sadece 8 izolatin, dört virülans gene sahip olduğu tespit edilmiştir. Antimikrobiyal duyarlılık testleri, tüm test edilmiş virülans genlerine sahip olan izolatların daha dirençli olduğunu göstermiştir. Bu çalışma, kağıt paranın dirençli bakteriyel patojenlerin yayılması için bir taşıyıcı görevi görebileceğini açıkça ortaya koymaktadır [126].

Dünya'da ve ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda *S. aureus*' un, antibiyotiklere karşı dirençli izolatlarının varlığını çiğ ve pişmiş gıdalarda tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir.

Mona ve arkadaşlarının 2018 yılında perakende satışı yapılan çeşitli et ürünlerinin (100 örnekle) yapılan çalışmalarında (tavuk eti, kıyma, sosis, sucuk, köfte), 12 *S. aureus* ve 4 *S.*

typhimurium, 2 *Salmonella lagos* 3 *Salmonella anatum*, 1 *Salmonella kentucky* izole etmişlerdir [127].

Gündoğan ve arkadaşlarının (2005) yaptıkları çalışmada 80 *S. aureus* 'un metisiline ve diğer antibiyotiklere karşı direnci Kirby-Bauer disk difüzyon testi ile belirlenmiştir. *S. aureus* için toplam metisilin direnç oranı % 67.5 olarak bulunmuştur. *S. aureus* izolatlarının % 87.5' i bacitracin'e dirençli bulunmuştur. *S. aureus* için yüksek bir penisilin G direnci prevalansı saptanmıştır (% 53,8). İzolatların çok azı eritromisine (% 7.5) dirençli bulunmuştur. Bütün izolatlar vankomisin, sulbaktam-ampisilin, siprofloksasin ve sefaperazon-sulbaktam'a duyarlı bulunmuştur [81].

Çıtak ve arkadaşlarının (2007) yaptıkları çalışmada 105 çiğ tavuk örneğinden 195 *Staphylococcus* izole etmişlerdir. Bunların 92'si *S.aureus*, 103'ü Koagülaz negatif stafilokok (KNS) olarak belirlenmiştir. *S.aureus* izolatlarının %36,9'u eritromisine, %26,2'si penisiline, %40,2'si tetrasikline, %31.5'u siprofloksasine, %2,2'si kloramfenikole, Koagülaz negatif stafilokok (KNS) izolatlarının %41,7'u eritromisine, %5'i penisiline, %29,1'i tetrasikline, %21.3'u siprofloksasine, %9,7'si kloramfenikole karşı dirençli olarak belirlenmiştir [128].

Çiftçi ve arkadaşları 2008 yılında yaptıkları çalışmada büyükbaş (sığır, inek) mastitis kaynaklı 59 *S. aureus* ' un biyokimyasal testlerle fenotipik olarak tanımlanmış ve aynı zamanda genotipik olarak tripleksPCR targetting 16srRNA (*staphylococcus* genus-specific), nuc (*S. aureus* species-specific) ve mecA (metisilin direncinin bir determinantı) izole etmişlerdir. Bu çalışmada belirlenen 59 *S.aureus* izolatının tümünde metisilin direnci saptanmıştır. 13'ünde (% 22)'de *S. aureus* izolatların oksasilin disk difüzyon yönteminde metisiline dirençli olduğu, tripleks PCR'da ise sadece 4' ünde (% 6.7) MRSA olduğu bulunmuştur [97].

Benzer şekilde, bazı araştırmacılar, metisilin direncini saptamak için disk difüzyon yöntemleri ve PCR arasındaki tutarsız sonuçları rapor etmişlerdir.

Ge ve arkadaşlarının (2011) yaptıkları çalışmada izole ettikleri 1032 *S.aureus* izolatının %0,6' sında gentamisin, %12,6' sında eritromisin %54,1' inde tetrasiklin, %69,8 penisilin direnci belirlemişlerdir [129].

Piessens ve arkadaşlarının (2012) Belçika’da yaptıkları çalışmada, 7 farklı inek çiftliğinden toplanan inek sütleri ve çevresel örneklerden izole edilen 366 Koagülaz negatif stafilokok (KNS) izolatıyla yapılan çalışmada tür tanımlamaları yapılmış, antibiyotik dirençleri ve çeşitli direnç genleri araştırılmıştır. Toplamda 22 farklı tür KNS izolatı elde edilmiştir. Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizm (AFLP) parmak izi analizlerine göre 82 izolatın olduğu bir altgrup oluşturulmuş ve bunların fenotipik ve genotipik duyarlılıkları test edilmiştir. Test edilen tüm izolatlar sefalotin ve gentamisine duyarlı, sadece 1 izolat enrofloksasine orta dirençli olarak belirlenmiştir [130].

Dünya’da ve ülkemizin değişik bölgelerinde yapılan çeşitli çalışmalarda *S. aureus* ve *Salmonella* spp. bulunma sıklığı, antibiyogram direnç profili, biyofilm ve slime faktörleri benzerlik göstermektedir.

6. SONUÇ

Çalışmamızda çiğ ve pişmiş gıdalardan izole ettiğimiz Gram negatif bakterilerden olan *Salmonella* spp. oranı %6, *Hafnia alvei* %8 olarak tespit edilmiştir. Gram pozitif bakterilerde ise *S. aureus* oranı %9 *M. caseolyticus* %13 olarak tespit edilmiştir. Dünya’ da ve ülkemizde yapılan birçok araştırmada çiğ ve pişmiş gıdalardan izole edilen gıda patojenlerinden olan *Salmonella* spp. ve *S. aureus* değişken oranlarda olduğu tespit edilmiştir. Yaptığımız tüm analizler göz önüne alındığında elde edilen sonuçlarla literatür sonuçları arasında hem benzerlikler hem de farklılıklar gözlemlenmiştir. Farklılıkların sebebi çalışılan örnek sayısının benzer olmaması, örneklerin toplanma ve işlenmesindeki farklılıklar olabilir.

Yayınlanmış diğer çalışmalar değerlendirildiğinde *H.alvei*’nin yeni bir enteropatojenik bir mikroorganizma olarak dikkate alınması gerektiği düşünülebilir. Çok sayıda klinik vakanın kayıt altına alınması, gıda patojeni olarak insanlardan izole edilmesi ve çalışmalar yapılması *H.alvei*’nin hakkında daha geniş bilgi edinmemizi sağlayacağını düşünmekteyiz.

Mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı olan direnç profilleri farklılık gösterebildiğinden, olası gıda zehirlenmeleri ve hastalıkların tedavisinde antibiyotik kullanımı daha bilinçli bir şekilde kullanımı hedeflenmiştir. Yaşlılar, tedavi gören hastalar ve immün sistemi zayıf olanlar için gıda patojenleri çok büyük bir risk grubu olduğundan özellikle bu kişilerin sağlıkları için selektif ve bilinçli bir tedavinin daha faydalı olacağı düşünülmektedir. Bu sebepler doğrultusunda tedavi sürecinde mikroorganizmaların duyarlı olduğu antibiyotiklerin kullanılması gerektiği düşünmekteyiz.

Ülkemizde tüketim potansiyeli yüksek olan çiğ süt, peynir, çiğ tavuk ve tavuk dönerin *S. aureus* ve *Salmonella* spp. ile kontamine olması durumunda, gıda zehirlenmeleri bakımından risk faktörü olabileceği belirlenmiştir.

Mikroorganizmaların slime ve biyofilm üretme kapasiteleri, gıdalarda bozulmalara yol açarak ekonomik kayıplara neden olabilir. Sonuçlarımızın bir kısmı gıda patojeni yönünden halk sağlığı için uygun bulunmamıştır. Bu nedenle özellikle çiğ süt ve peynir ürünlerinin üretiminden tüketiciye ulaşana kadar geçen tüm aşamalarda gerekli hijyen ve sanitasyon kurallarına uyulması gerekmektedir. Muhafaza koşullarının hijyen kurallarına uygun şekilde iyileştirilmesi gerektiği düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

1. Sağlam, D. and Şeker, E. (2016). Food-borne Bacterial Pathogens. *Kocatepe Veterinary Journal*, 9(2), 105-113.
2. Schleifer, K. H. and Kilpper-Balz, R. (1982). *Micrococcus candidus* ATCC 14852'nin *Staphylococcus epidermidis* ve *Micrococcus caseolyticus* ATCC 13548 ve *Micrococcus* varyantları ATCC 29750'nin yeni bir tür olan *Staphylococcus caseolyticus* türü olarak tanımlanması, *Journal System Bacteriology*, 32(1), 15-20.
3. Janda, J. L., Abbott, S. and Bystrom, W. S. (2005). Hafnia cinsi: 16S rRNA gen dizilimi ve fenotipik yöntemlere dayanan iki farklı hibridizasyon grubunun tanımlanması, *Journal Clinical Microbiology*, 43, 3320-3323.
4. Donlan, R. M. (2002). Biofilms: Microbial life on Surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, 8(9), 881.
5. Karabay, O., Altindis, M., Koroglu, M., Karatuna, O., Aydemir, Ö. A. and Erdem, A. F. (2016). The carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* threat is growing: NDM-1 epidemic at a training hospital in Turkey. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 15(1), 6.
6. Alçay, A. (2019). İstanbul'da Satılan Pişmiş Tavuk Dönerlerin Mikrobiyolojik Kalitesinin Araştırılması, *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 49(2), 74-85.
7. Gundoğan, N. ve Avcı, E. (2014). Occurrence and antibiotic resistance of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in raw milk and dairy products in Turkey, *International Journal of Dairy Technology*, 67(4), 562-569.
8. Kılıç Kanak, E. ve Öztürk Yılmaz, S. (2018). Sakarya'da geleneksel olarak üretilen bazı yöresel peynirlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin MALDI-TOF MS Yöntemi ile tanımlanması ve antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi. *Sakarya University Journal of Science*, 22(3), 1055-1062.
9. Özkaya, F. and Cömert, M. (2008). Gıda Zehirlenmelerinde Etken Faktörler, *Türk Hijyen ve Deneyisel Biyoloji Dergisi*, 65(3), 149-158.
10. Henry, R. (2013). *Staphylococcus*. *Emerging Infectious Diseases*, 19(9), 1553-1560.
11. Güçlü, B. (2019). *Tuzlanmış küçükbaş hayvan derilerinden elde edilen ıslımlı halofil bakterilerin esteraz ve lipaz aktivitelerinin tespit edilmesi*, Yüksek Lisans Tezi. Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
12. Jawetz, E., Melnick, J., and Adelberg, E. (1980). *Tıbbi Mikrobiyoloji*, Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 289-292.
13. Koneman, M. D., Aillen, S. D., Schreckenberger, P. C., Janda, W. M., and Winn, W. C. (1992). *Diagnostic Microbiology*, Joshua Ballinger Lippincott Company, 423-466.
14. Bilgehan, H. (1994). *Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları*, Bornova: Baris Yayınları, 188-211.

15. Heperkan, D. (2016). *Temel Gıda Mikrobiyolojisi*, Ankara: Nobel Yayınları, 323-342.
16. Abulreesh, H. (2011). *Multidrug-resistant staphylococci in the environment. International Conference on Biotechnology and Environment Management*. 21, 179-184.
17. Evangelopoulou, G.D., Burriel, A. and Spyrou, V. (2010) A concise history of *Salmonella* spp. nomenclature, *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 61(4), 323-329.
18. The Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2011). National *Salmonella* Surveillance Overview. *US Department of Health and Human Services*, Atlanta.
19. Foley, S. L., Nayak, R., Hanning, I. B., Johnson, T. J., Han, J. and Ricke, S. C. (2011). Population Dynamics of *Salmonella* enterica serotypes in commercial egg and poultry production, *Application Environ Microbiology*, 77(13), 4273-4279.
20. Schleifer, K. H., Kilpper-Bälz, R., Fischer, U., Faller, A. and Endl, J. (1982). Identification of *Micrococcus candidus* ATCC 14852 as a strain of *Staphylococcus epidermidis* and of *Micrococcus caseolyticus* ATCC 13548 and *Micrococcus varians* ATCC 29750 as members of a new species, *Staphylococcus caseolyticus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 32(1), 15-20.
21. Kloos, W. E., Ballard, D. N., George, C. G., Webster, J. A., Hubner, R. J., Ludwig, W. and Schubert, K. (1998). Delimiting the genus *Staphylococcus* through description of *Macrococcus caseolyticus* gen. nov., comb. nov. and *Macrococcus equipercicus* sp. nov., *Macrococcus bovicus* sp. nov. and *Macrococcus carouselicus* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 48(3), 859-877.
22. Mannerova, S., Pantůček, R., Doškař, J., Švec, P., Snauwaert, C., Vancanneyt, M. and Sedláček, I. (2003). *Macrococcus brunensis* sp. nov., *Macrococcus hajekii* sp. nov. and *Macrococcus lamae* sp. nov., from the skin of llamas. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(5), 1647-1654.
23. Baba, T. (2009). *Macrococcus caseolyticus* suşu JCSCS5402 suşunun tam genom sekansı, insan-patojenik stafilokokların atalarının genomunu yansıtan, *Bakteriyoloji*, 191(4), 1180-1190.
24. Winn, Jr., Allen, S. and Janda, W. (2006). Koneman's Color Atlas and Textbook of, *Diagnostic Microbiology*, 6. Baskı, Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins.
25. Sakazaki, R. (1981). *Hafnia cinsi Yaşam, izolasyon ve bakterilerin tanımlanması üzerine bir el kitabı*, Berlin, Almanya: Springer-Verlag, 1181-1186.
26. Ewing, W. H. (1986). *Enterobacteriaceae'nin tanımlanması*, New York: Elsevier.
27. Reina, J., Heruas, J. and Borrell, N. (1993). Acute gastroenteritis caused by *Hafnia alvei* in children, *Clinical Infections Diseases*, 16(4), 443-450.

28. Ramos, A. and Damaso, D. (2000). Extraintestinal infection due to *Hafnia alvei*, *Eurupan Journal Clinical Microbiology Infections Disesas*, 19(9), 708-710.
29. Orozova, P., Sirakov, I., Chikova, V., Popova, R., Al-Harbi, A. H., Crumlish, M. and Austin, B. (2014). Recovery of *Hafnia alvei* from diseased brown trout, *Salmo trutta* L., and healthy noble crayfish, *Astacus astacus* (L.), in Bulgaria. *Journal of Fish Diseases*, 37(10), 891-898.
30. Fazal, A., Justman, E., Turett, G. and Telzak, E. (1997). Community-acquired *Hafnia alvei* infection, *Clinical Infections Diseases*, 24(3), 527-528.
31. Janda, J. L., Abbott, S. and Bystrom, W. S. (2005). *Hafnia* cinsi: 16S rRNA gen dizilimi ve fenotipik yöntemlere dayanan iki farklı hibridizasyon grubunun tanımlanması, *Journal Clinical Microbiology*, 43, 3320-3323.
32. Tel, Y., Bayraktar, M. and Keskin, O. (2012). Investigation of antibiotic resistance among *Staphylococcus aureus* strains of human and bovine origin, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 59(3), 191-196.
33. Worthing, K. A., Marcus, A., Abraham, S., Trott, D. J. and Norris, J. (2018). Qacgenesand biocidetolerance clinica veterinar methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius*. *Veterinary Microbiology*, 216, 153-158.
34. Coton, E., Desmonts, M. H., Leroy, S., Coton, M., Jamet, E., Christieans, S. and Talon, R. (2010). Biodiversity of coagulase-negative staphylococci in French cheeses, dry fermented sausages, processing environment sand clinica lsamples. *International Journal Of Food Microbiology*, 137(2-3), 221-229.
35. Özdemir, H., and Keyvan, E. (2016). Isolation and characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from beef, sheep and chicken meat. *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 63,333-338.
36. Chajęcka-Wierzchowska, W., Zadernowska, A., Nalepa, B., Sierpińska, M. and Łaniewska-Trokenheim, Ł. (2015). *Coagulase negative staphylococci* (CoNS) isolated from ready-to-eat food of animal origin resistance. *Food Microbiology*, 46, 222-226.
37. Podolak, R., Enache, E., Stone, W., Black, D. G. and Elliot, P. (2010). Source and risk factors for contamination, survial, persistence, and heat resistance of *Salmonella* in low-moisture foods, *Journal Food Microbiology*, 73(10), 1919-1936.
38. Van Veen, S. Q., Claas, E. C. J. and Kuijper, E. J. (2010). High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(3), 900-907.
39. İnternet:URL:http://en.wikipedia.org/wiki/Matrixassisted_laser_desorption/ionization/, Son Erişim Tarihi: 08.12.2019.
40. İnternet: URL: <https://www.klimud.org/public/uploads/dosya/1352727747.pdf>, Son Erişim Tarihi: 08.12.2019.

41. İnternet: URL: https://www.researchgate.net/figure/Principle-of-MALDI-TOF-MS-technology-This-drawing-describes-the-principle-of-the_fig4_259766659 Son Erişim Tarihi: 29.11.2019.
42. Coşkun, S. (2019). MALDI TOF kütle spektrometresi cihaz görüntüsü.
43. Demirtürk, N. Ve Demirdal, T. (2004). Antibiyotiklerde direnç sorunu, *Kocatepe Tıp Dergisi*, 5, 2.
44. Yüce, A. (2001). Antimikrobik İlaçlara Direnç Kazanma Mekanizmaları. *Klinik Dergisi*, 14(2), 41-46.
45. Bell, C. and Kyriakides, A. (2002). *Salmonella: A Practical Approach to the Organism and Its Control in Foods*. First Edition. London: Blackwell Science, 1-330.
46. Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, M. W. (1997). *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 5th edition, New York, 200-203.
47. İnternet: URL: <https://www.vibrant-itn.eu/tr/blog-post/enfeksiyonsuz-bir-hayat/> Son Erişim Tarihi: 29.11.2019.
48. Simeoni, D., Rizzotti, L., Cocconcelli, P., Gazzola, S., Dellaglio, F. and Torriani, S. (2008). Antibiotic resistance genes and identification of *staphylococci* collected from the production chain of swine meat commodities. *Food Microbiology*, 25(1), 196-201.
49. Majowicz, S. E., Musto, J., Scallan, E., Angulo, F. J., Kirk, M., O'Brien, S. J. and International Collaboration on Enteric Disease Burden of Illness Studies. (2010). The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. *Clinical Infectious Diseases*, 50(6), 882-889.
50. Mandrell, R.E., Gorski, L., and Brandl, M.T. (2006). Attachment of microorganisms to fresh produce. In *Microbiology of Fruits and Vegetables*, CRC Press, 33.
51. Flemming, H.C and Wingender, J. (2010). The biofilm matrix, *National Review Microbiology*, 8(9), 623-633.
52. Notermans, S., Dormans, J. and Mead, G. C. (1991). Contribution of surface attachment to the establishment of micro-organisms in food processing plants: A review. *Biofouling*, 5(1-2), 21-36.
53. Capita, R. and Alonso-Calleja, C. (2013). Antibiotic-resistant bacteria challenge for the food industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(1), 11-48.
54. Donlan, R. M. (2002). Biofilms: Microbial life on surfaces, *Emerging Infectious Diseases*, 8(9), 881.
55. Christensen, G. D., Barker, L. P., Mawhinney, T. P., Baddour, L. M. and Simpson, W. A. (1990). Identification of an antigenic marker of slime production for *Staphylococcus epidermidis*. *Infection and Immunity*, 58(9), 2906-2911.

56. İnternet:URL:<http://carscapmato.cf/bacterial-glycocalyx-capsule-slime-layer-page-2/>, Son Erişim Tarihi: 29.11.2019.
57. Davenport, D. S., Mssanari, R. M., Pfaller, M. A., Bale, M. J., Streed, S. A. and Hierholzer, W.J. (1986). Usefulness of a test for slime production as a marker for clinically significant infections with coagulase-negative staphylococci, *Journal of Infections Diseases*, 153(2), 332-339.
58. Kotilainen, P. (1990). Association of coagulase negative staphylococcal slime production and adherence with development and outcome of adult septicemias, *Journal of Clinical Microbiology*, 28(12), 2779-2785.
59. Lowy, F. D. (1998). *Staphylococcus aureus* infections, *National England Journal of Medicine*, 339(8), 520-532.
60. Murray, P. R., Rosenthal, K. S. and Tenover, P. A. (2005). *Medical Microbiology*, 4th. Philadelphia: Elsevier, 203-236.
61. Müştak, H. K. And Esenal, Ö. M. (2008). *Staphylococcus aureus* Ekzotoksinleri. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 2(1), 63-68.
62. Bilgehan, H. (2000). *Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları*, (10. Baskı). İzmir: Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, 239-266.
63. Türk Standartları Enstitüsü. (1998). *Et ve Et Mamülleri Numune Alma ve Analiz Numunelerinin Hazırlanması, Bölüm 1-Numune Alma*, TS 3135. Ankara: Türk Standartları Enstitüsü.
64. İnternet:URL: <https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/petride-besiyeri/baird-parker-agar>/Son Erişim Tarihi: 29.11.2019.
65. Türk Standartları Enstitüsü. (2002). *Çiğ süt Numune Alma ve Analiz Numunelerinin Hazırlanması, Bölüm 1-Numune Alma*, TS 1018. Ankara: Türk Standartları Enstitüsü.
66. İnternet:URL:https://de.wikipedia.org/wiki/:Salmonella_species/, Son Erişim Tarihi: 29.11.2019.
67. Selvaraj, R., Das, R., Ganguly, S., Ganguli, M., Dhanalakshmi, S. and Mukhopadhyay, S. K. (2010). Characterization and antibiogram of *Salmonella* spp. from poultry specimens. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, 2(9), 123-126.
68. İnternet: URL: <https://www.google.com/search=salmonella+gram+stain+s.aureus/>, Son Erişim Tarihi: 29.11.2019.
69. Coşkun, S. (2019). Katalaz lamda görünümünü.
70. İnternet: URL: <https://microbiologylaboratory.com/>, Son Erişim Tarihi: 29.11.2019.
71. İnternet: URL: <https://catalog.hardydiagnostics.com/>, Son Erişim Tarihi: 29.11.2019.
72. İnternet: URL: <https://catalog.hardydiagnostics.com/>, Son Erişim Tarihi: 29.11.2019.

73. Freeman, D. J., Falkiner, F. R. and Keane, C. T. (1989). New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*, 42(8), 872-874.
74. İnternet: Congo red. URL: https://www.researchgate.net/figure/Congo-red-agar-plate-test-Black-colonies-the-slime-producing-strains_fig3_228624422/, Son Erişim Tarihi: 29.11.2019.
75. İnternet: Biyofilm. URL: https://www.researchgate.net/figure/2-Microtiter-plate-method-showing-none-strong-moderate-and-weak-biofilm-producers_fig2_259115426/, Son Erişim Tarihi: 29.11.2019.
76. Chusri, S., Phatthalung, P. N. and Voravuthikunchai, S. P. (2012). Anti-biofilm activity of *Quercus infectoria* G. Olivier against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Letters in Applied Microbiology*, 54(6), 511-517.
77. İnternet: *S. aureus*'un koyun kanlı agarda hemoliz oluşturması. URL: www.bacterian.photo, Son Erişim Tarihi: 29.11.2019.
78. National Committee for Clinical Laboratory Standards. (1990). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test, *Approved Standard*, M2-A4.
79. Singh, R., Yadav, A. S., Tripathi, V. and Singh, R. P. (2013). Antimicrobial resistance profile of *Salmonella* present in poultry and poultry environment in north India. *Food Control*, 33(2), 545-548.
80. Zhao, C., Ge, B., De Villena, J., Sudler, R., Yeh, E., Zhao, S. and Meng, J. (2001). Prevalence of *Campylobacter spp.*, *Escherichia coli*, and *Salmonella* serovars in retail chicken, Turkey, pork, and beef from the Greater Washington, DC, area. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(12), 5431-5436.
81. Gundogan, N., Citak, S., Yucel, N. and Devren, A. (2005). A note on the incidence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and chicken samples. *Meat Science*, 69(4), 807-810.
82. Kirkan, Ş., Göksoy, E. Ö. and Kaya, O. (2005). Identification and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci from bovine mastitis in the Aydın region of Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29(3), 791-796.
83. Normanno, G., La Salandra, G., Dambrosio, A., Quaglia, N. C., Corrente, M., Parisi, A. and Celano, G. V. (2007). Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, 115(3), 290-296.
84. Guven, K., Mutlu, M. B., Gulbandilar, A. and Cakir, P. (2010). Occurrence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products consumed in Turkey. *Journal of Food Safety*, 30(1), 196-212.
85. Jaowapa, J., Chailai, K., Kriengsag, D. and Kriengsag, S. (1994). Occurrence of *Salmonella* in Raw Broilers and Their Products in Thailand. *Journal of Food Protection*, 57(9), 758-844.

86. Raufu, I., Hendrisken, R. S., Ameh, J. A., and Aarestrup, F. M. (2009). Occurrence and characterization of *Salmonella* Hiduddify from chicken and poultry meat in, *Iranian Journal of Public Health*, 22(3), 200-220.
87. Molla, B. and Mesfin, A. (2003). A survey of *Salmonella* contamination in chicken carcasses and giblets in Central Ethiopia. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 154(4), 267-270.
88. Favier, G. I., Estrada, C. S. M., Otero, V. L. and Escudero M. E. (2013). Prevalence, antimicrobial susceptibility, and molecular characterization by PCR and pulsed field gel electrophoresis (PFGE) of *Salmonella* spp. isolated from foods of animal origin in San Luis, Argentina. *Elsevier Food Control*, 29(1), 49-54.
89. Blaiotta, G., Pennacchia, C., Villani, F., Ricciardi, A., Tofalo, R. and Parente, E. (2004). Diversity and Dynamics of Communities of *Coagulase-Negative Staphylococci* in Traditional Fermented Sausages. *Journal of Applied Microbiology*, 97(2), 271-284.
90. Resende, J. A., Fontes, C. O., Ferreira-Machado, A. B., Nascimento, T. C., Silva, V. L. and Diniz, C. G. (2018). Antimicrobial-Resistance Genetic Markers in Potentially Pathogenic Gram Positive Cocci Isolated from Brazilian Soft Cheese. *Journal of Food Science*, 83(2), 377-385.
91. MacFadyen, A. C., Fisher, E. A., Costa, B., Cullen, C. and Paterson, G. K. P. (2018). Genome analysis of methicillin resistance in *Micrococcus caseolyticus* from dairy cattle in England and Wales. *Microbiology Genom* 4, 1–8.
92. Dugat-Bony, E., Sarthou, A. S., Perello, M. C., de Revel, G., Bonnarme, P. and Helinck, S. (2016). The effect of reduced sodium chloride content on the microbiological and biochemical properties of a soft surface-ripened cheese. *Journal of Dairy Science*, 99(4), 2502-2511.
93. Grabowski, N. T. and Klein, G. (2017). Microbiology and foodborne pathogens in honey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(9), 1852-1862.
94. Yazdani, R. M., Oshaghi, A., Havayi, E., Pishva, R., Saleh, M. and Sadeghizadeh, H. (2006). Detection of *icaAD* Gene and Biofilm Formation in *S. aureus* Isolates from Wound Infections, *Iranian Journal of Public Health*, 35(2), 25-28.
95. Yerli, G. A. (2015). *Sucuktan İzole Edilen koagülaz negatif stafilokok ve M. caseolyticus Suşlarının Biyofilm Oluşturma Özelliklerinin ve Adezyon Faktörlerinin Araştırılması*, 9. Gıda Mühendisliği Kongresi, İzmir.
96. Souli, M., Giamarellou, H. (1998). Effects of slime produced by clinical isolates of coagulase-negative staphylococci on activities of various antimicrobial agents, *Antimicrob Agents Chemother*, 42(4), 939-941.
97. Ciftci, A., Findik, A., Onuk, E. and Savasan, S. (2009). Detection of methicillin resistance and slime factor production of *Staphylococcus aureus* in bovine mastitis. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40(2), 254–61.

98. Matsunaga, J., Kamata, S., Kakuchi, N. and Uchida, K. (1993). Characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from peracute, acute and chronic bovine mastiti, *Journal of Veterinary Medicine Science*, 55(2), 297-300.
99. Szweda, P., Schielmann, M., Milewski, S., Frankowska, A. and Jakubczak, A. (2012). Biofilm production and presence of ica and bap genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from cows with mastitis in eastern Poland. *Poland Journal of Microbiology*, 61(1), 65-69.
100. Vasudevan, P., Nair, M. K., Annamalai, T. and Venkitanarayanan, K. S. (2003). Phenotypic and genotypic characterization of bovine mastitis isolates of *Staphylococcus aureus* for biofilm formation. *Veterinary Microbiology*, 92(1-2), 179-185.
101. Castalani, L., Pilon, L. E., Martins, T., Pozzi, C. R. and Arcaro, J. R. P. (2015). Investigation of biofilm production and ica A and ica D genes in *Staphylococcus aureus* isolated from heifers and cows with mastitis. *Animal Science Journal*, 86(3), 340-344.
102. Büyüktarakçı, B. (2015). *Mastitisli Sütlerden İzole Edilen Stafilokokların Biyofilm Üretme Yeteneğinin Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
103. Kaya, F. (2016). *Süt işletmelerinde izole edilen Staphylococcus aureus suşlarında icaA ve icaD genleri ve biyofilm üretimi*, Yüksek Lisans Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
104. Suvajdzic, B., Vasilev, D., Karabasıl, N., Dimitrijevic, M., Dordevic, J. and Katic., V. (2017). Detection of icaA and icaD genes of *Staphylococcus aureus* isolated in cases of bovine mastitis in the republic of serbeia, *Acta Veterinaria-Belgrad*, 67(2), 168-177.
105. Yıldırım, N., Sezen, Y., Ardiç, N. ve İleri, Ç. (2008). Farklı Klinik Örneklerden İzole Edilen Koagülaz Negatif Stafilokokların Slime Faktör Üretimlerinin ve Bazı Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Araştırılması, *Turkish Journal Of Infection*, 22(4), 209-214.
106. Boussard, P., Pithsy, A. and Devleeschouwer, M. J. (1993). Relationship between slime production, antibiotic sensitivity and the phagetype of coagulase-negative staphylococci. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 18(4), 271-274.
107. Souli, M. and Giamarellou, H. (1998). Effects of slime produced by clinical isolates of coagulase-negative staphylococci on activities of various antimicrobial agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42(4), 939-941.
108. Ersoy, U. (2002). *Kan kültürlerinden izole edilen stafilokok kökenlerinin slime üretimi ve bunun antibiyotik direnci ile ilişkisi*. Uzmanlık Tezi, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul.
109. Bedidi-Madani, N., Greenland, T. and Richard, Y. (1998). Exoprotein and slime production by coagulase-negative staphylococci isolated from goats' milk. *Veterinary microbiology*, 59(2-3), 139-145.

110. Arabacı, F. ve Oldacay, M. (2008). Sağlık çalışanlarının burun kültürlerinden izole edilen stafilokoklarda metisilin direnci ve slime yapımı pozitifliği. *İnfeksiyon Dergisi*, 22(3), 165-168.
111. Aydın, A., Muratoglu, K., Sudagidan, M., Bostan, K., Okuklu, B. and Harsa, S. (2011). Prevalence and antibiotic resistance of foodborne *Staphylococcus aureus* isolates in Turkey. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(1), 63-69.
112. Ta, Y. T., Nguyen, T. T., To, P. B., Pham, D. X., Le, H. T. H., Thi, G. N. and Doyle, M. P. (2014). Quantification, serovars, and antibiotic resistance of *Salmonella* isolated from retail raw chicken meat in Vietnam. *Journal of Food Protection*, 77(1), 57-66.
113. Lu, Y., Zhao, H., Sun, J., Liu, Y., Zhou, X., Beier, R. C. and Hou, X. (2014). Characterization of multidrug-resistant *Salmonella* enterica serovars Indiana and Enteritidis from chickens in Eastern China. *PLoS One*, 9(5), e96050.
114. Rahimi, E. (2012). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. isolated from retail chicken, Turkey, and ostrichby-products in Iran. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 163(6), 271-275.
115. Mainali, C., McFall, M., King, R. and Irwin, R. (2014). Evaluation of antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* isolates from broiler chickens at slaughter in Alberta, Canada. *Journal of Food Protection*, 77(3), 485-492.
116. Tajbakhsh, F., Tajbakhsh, E., Momeni, M., Rahimi, E. and Sohrabi, R. (2012). Occurrence and antibiotic resistance of *Salmonella* spp Isolated from raw cow's milk from Shahahrekord, Iran. *International Journal of Microbiological Research*, 3(3), 242-245.
117. Başoğlu, M., Oray, D. (2013). Libyalı bir hastada *Hafnia alvei*'nin neden olduğu akut gastroenterit olgusu, *Türk Hijyen Deneyisel Biyoloji Dergisi*, 70(4), 201-204.
118. Reina, J., Hervas, J. and Borrell, N. (1993). Acute gastroenteritis caused by *Hafnia alvei* in children, *Clinical Infectious Diseases*, 16(3), 443-443.
119. Ghenghesh, K.S., Franka, E.A., Khaled, A., Tawil, K.A., Abeid, S., Ali, M.B. and Taher, A. (2008). Infectious acute diarrhea in Libyan children: causative agents, clinical features, treatment and prevention. *The Libyan Journal of Infections Diseases*, 2(1), 10-20.
120. Abbott, S. L. (2007). *Klebsiella, enterobacter, citrobacter, serratia* and other *Enterobacteriaceae*, Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Landry, M.L., Pfaller, M.A.: *Manual of Clinical Microbiology*, 9 th Edition Washington, American Society of Microbiology Press, 698-716.
121. Ghenghesh, K.S., Franka, E.A., Khaled, A., Tawil, K.A., Abeid, S., Ali, M.B. and Taher, A. (2008). Infectious acute diarrhea in Libyan children: causative agents, clinical features, treatment and prevention. *The Libyan Journal of Infections Diseases*, 2(1), 10-20.

122. Janda, J. M., Abbott, S. L. (2006). The genus *Hafnia*: from soup to nuts, *Clinical Microbiology Review*, 19(1), 12-18.
123. Ge, B., Mukherjee, S., Hsu, C. H., Davis, J. A., Tran, T. T. T., Yang, Q. and Womack, N. A. (2017). MRSA and multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in US retail meats, 2010–2011. *Food Microbiology*, 62, 289-297.
124. Tuncer, Y. and Geniş, B. (2014). *Isolation and Identification of Coagulase-Negative Cocci (CNC) from Turkish Dry Fermented Sausage (Sucuk) and Detection of Their Antibiotic Susceptibility*. 14th International Nutrition & Diagnostics Conference. Prague, Czech Republic, 70.
125. Ogbolu, D. O., Alli, O. A. T., Oluremi, A. S. and Onifade, C. O. (2018). Erythromycin Resistance Determinants in Clinical Gram Positive Cocci Isolated from Nigerian Patients. *Journal of Clinical & Diagnostic Research*, 12(10).
126. Kumar, J. D., Negi, Y. K., Gaur, A. and Khanna, D. (2009). Detection of virulence genes in *Staphylococcus aureus* isolated from paper currency. *International Journal of Infectious Diseases*, 13(6), e450-e455.
127. Mona, M., El-Azzouny, D., Azza, S., El- Demerdash, G., Seadawy, H. and Abou-Khadra, S. (2018). Antimicrobial Effect of Garlic (*Allium sativum*) and Thyme (*Zataria multiflora* Boiss) Extracts on Some Food Borne Pathogens and Their Effect on Virulence Gene Expression, *Cellular and Molecular Biology*, 64-10.
128. Çitak, S. and Duman, T. (2011). *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative Staphylococcus from raw chicken samples in Turkey: Prevalence and antimicrobial resistance. *Journal of Food Agriculture Environment*, 9(1), 156-158.
129. Ge, B., Mukherjee, S., Hsu, C. H., Davis, J. A., Tran, T. T. T., Yang, Q. and Womack, N. A. (2017). MRSA and multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in US retail meats, 2010–2011. *Food Microbiology*, 62, 289-297.
130. Piessens, V., Vlieghe, B., Verbist, G., Braem, A., Van Nuffel, L., De Vuyst, M., Heyndrickx, E. and Van, C. (2012). Characterization of coagulase-negative staphylococcus species from cows' milk and environment based on *bap*, *icaA*, and *mecA* genes and phenotypic susceptibility to antimicrobials and teat dips. *Journal of Dairy Science*, 95(12), 7027-7038.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : COŞKUN, Serdar
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 27.01.1989, Amasya
 Medeni hali : Evli
 e-mail : bio.serdarcoskun@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi / Biyoloji	Devam Ediyor
Lisans	Selçuk Üniversitesi / Biyoloji	2015
Lise	Mustafa Kemal Sağlık Meslek Lisesi	2006

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2014-halen	Etimesgut Devlet Hastanesi	Biyolog
2009-2014	Selçuk Üniversitesi	Laborant

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

- Coşkun, S., Kulahcı, M., Gundoğan, N. (2019). *5th International Eurasian Congress on Natural Nutrition, Healthy Life and Sports*, Determination of Some Physical and Chemical Properties of Pathogen Bacteria Isolated from Raw and Cooked Foods, Ankara.

Hobiler

Kitap okumak, Santranc, Masa Tenisi



GAZİ GELECEKTİR..