



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**DANA, TAVUK, HİNDİ VE ÖRDEK ETLERİNDE METİSİLİNE
DUYARLI ve DİRENÇLİ *Staphylococcus aureus*
PREVALANSININ ARAŞTIRILMASI**

Adle Ronayi BOZAN BAYRAK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BESİN/GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Hüsnü Şahan GÜRAN

DİYARBAKIR-2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**DANA, TAVUK, HİNDİ VE ÖRDEK ETLERİNDE METİSİLİNE
DUYARLI ve DİRENÇLİ *Staphylococcus aureus*
PREVALANSININ ARAŞTIRILMASI**

Adle Ronayi BOZAN BAYRAK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BESİN/GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Hüsnü Şahan GÜRAN

DİYARBAKIR-2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Adle Ronayi BOZAN BAYRAK'ın hazırladığı “**Dana, Tavuk, Hindi ve Ördek Etlerinde Metisiline Duyarlı ve Dirençli *Staphylococcus aureus* Prevalansının Araştırılması**” başlıklı tez, Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 04/07/2019

Danışman Doç. Dr. Hüsnü Şahan GÜRAN

Jüri Üyeleri

Jüri Başkanı Prof. Dr. Gülsüm ÖKSÜZTEPE

Üye Prof. Dr. Aydın VURAL

Üye Doç. Dr. Hüsnü Şahan GÜRAN

Üye

Üye

İmza

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/.../20.. tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN

Dicle Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

04/07/2019

Adle Ronayi BOZAN BAYRAK

A blue ink signature of Adle Ronayi Bozan Bayrak.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan değerli danışman hocam sayın Doç. Dr. Hüsnü Şahan GÜRAN'a sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca yardım, bilgi ve tecrübeleri ile bana sürekli destek olan Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı öğretim üyesi ve çalışanlarına teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca maddi manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan başta eşim Muharrem BAYRAK ve aileme sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (DÜBAP) tarafından VETERİNER.18.005 numaralı proje ile desteklenmiştir. Tez çalışmama katkı sağlayan Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

BEYAN	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
TEŞEKKÜR	II
İÇİNDEKİLER	III
KISALTMALAR DİZİNİ	VI
TABLolar DİZİNİ.....	VII
RESİMLER DİZİNİ.....	VIII
1. ÖZET	1
1.1. TÜRKÇE ÖZET	1
1.2. ABSTRACT	3
2. GİRİŞ ve AMAÇ	5
3. GENEL BİLGİLER	6
3.1. <i>Staphylococcus</i> 'ların Sınıflandırılması	6
3.2. <i>Staphylococcus aureus</i> 'un Genel Özellikleri	6
3.3. Morfolojik Özellikleri.....	7
3.4. Biyokimyasal Özellikleri	7
3.5. <i>Staphylococcus aureus</i> 'un Virülens Faktörleri	8
3.5.1. Kapsül.....	8
3.5.2. Slime tabaka.....	8
3.5.3. Hücre duvarı	9
3.5.3.1. Peptidoglikan tabaka	9
3.5.3.2. Teikoik asit	9
3.5.3.3. Protein A (SpA)	9
3.5.4. <i>Staphylococcus aureus</i> enzimleri.....	10
3.5.4.1. Koagülaz enzimi	10
3.5.4.2. Katalaz enzimi	10
3.5.4.3. Lipaz enzimi	10
3.5.4.4. Hyalüronidaz enzimi	11

3.5.4.5. Deoksiribonükleaz enzimi	11
3.5.4.6. Termonükleaz enzimi	11
3.5.5. <i>Staphylococcus aureus</i> toksinleri	11
3.5.5.1. Sitolitik toksinler	12
3.5.5.2. Eksfoliyatif toksin	13
3.5.5.3. <i>Staphylococcal</i> enterotoksinler	14
3.6. Metisiline Duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA) ve Gıda Kaynaklı Zehirlenmeler.....	14
3.7. Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA).....	15
4. GEREÇ ve YÖNTEM	18
4.1. Gereç	18
4.2. Yöntem	18
4.2.1. Analizler	19
4.2.1.1. Metisiline duyarlı <i>S. aureus</i> tespiti (MSSA).....	19
4.2.1.2. Metisiline Dirençli <i>S. aureus</i> tespiti (MRSA)	20
4.2.1.2.1. Yöntem A ile MRSA tespiti	21
4.2.1.2.2. Yöntem B ile MRSA tespiti	22
4.2.1.3. İzolatların tanımlanması	22
4.2.1.3.1. Koagülaz deneyi	25
4.2.1.4. <i>Staphylococcus aureus</i> izolatlarında metisilin direncinin belirlenmesi... ..	25
4.2.1.5. <i>Staphylococcus aureus</i> izolatlarında <i>nuc</i> ve <i>mecA</i> genlerinin PCR ile belirlenmesi	25
4.2.1.5.1. DNA ekstraksiyonu.....	25
4.2.1.5.2. PCR aşaması.....	26
4.2.1.6. İstatiksel analiz.....	28
5. BULGULAR.....	29
5.1. Metisiline Duyarlı <i>S. aureus</i> 'un Kültür Yöntemi ile Tanımlanması.....	29
5.2. Metisiline Dirençli <i>S. aureus</i> 'un Kültür Yöntemi ile Tanımlanması.....	29
5.3. MSSA ve MRSA İzolatlarında <i>nuc</i> ve <i>mecA</i> Gen Varlığı	30
6. TARTIŞMA	33
7. SONUÇ ve ÖNERİLER	38

8. KAYNAKÇALAR	39
9. ÖZGEÇMİŞ.....	51
10. ORJİNALLİK RAPORU	53



KISALTMALAR DİZİNİ

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

ATCC: American Type Culture Collection

aw: Su Aktivitesi

EFSA: European Food Safety Authority

HACCP: Hazard Analysis and Critical Control Points

kb: Kilo Baz

kDA: Kilo Dalton

kob: Koloni oluşturan birim

MRSA: Methicilin Resistant *S. aureus*- Metisiline dirençli *S. aureus*

MSSA: Methicilin Sensitive *S. aureus*- Metisiline duyarlı *S. aureus*

PBP: Penicillin Binding Protein

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PVL: Panton-Valentine Lökosidin

SE: Staphylococcal Enterotoksin

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Çalışmada kullanılan örneklerin et türüne ve toplanma şekline göre dağılımı.	19
Tablo 2: Et örneklerinde MSSA ve MRSA analiz akış diyagramı	27
Tablo 3: <i>S. aureus</i> izolatlarında <i>nuc</i> ve <i>mecA</i> gen varlığının belirlenmesinde kullanılan primerlerin dizilimi.....	28
Tablo 4: Et örneklerinden izole edilen MSSA ve MRSA şüpheli izolatlarda <i>nuc</i> ve <i>mecA</i> genlerinin dağılımı	32

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No

Resim 1: <i>S. aureus</i> şüpheli kolonilerin BPA besiyerindeki görünümü	20
Resim 2: ORSIM agar besiyerinde gelişen MRSA şüpheli kolonilerin görünümü (Yöntem A)	21
Resim 3: ORSIM agar besiyerinde gelişen MRSA şüpheli kolonilerin görünümü (Yöntem B)	22
Resim 4: <i>S. aureus</i> şüpheli izolatların Gram boyama sonrası mikroskop altında görünümü	23
Resim 5: <i>S. aureus</i> şüpheli izolatların katalaz testi ile doğrulanması.....	24
Resim 6: Lateks aglütinasyon testi ile <i>S. aureus</i> şüpheli izolatların doğrulanması	24

1. ÖZET

Dana, Tavuk, Hindi ve Ördek Etlerinde Metisiline Duyarlı ve Dirençli *Staphylococcus aureus* Prevalansının Araştırılması

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Adle Ronayi BOZAN BAYRAK

Danışmanı: Doç. Dr. Hüsnü Şahan GÜRAN

Anabilim Dalı: Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi

1.1. TÜRKÇE ÖZET

Amaç: Bu tez çalışmasında dana kıyma, tavuk, hindi ve ördek etlerinde metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) ve metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada 100 tavuk eti, 100 hindi eti, 25 donmuş ördek karkas ve 100 dana kıyma olmak üzere toplam 325 et örneği Diyarbakır ilindeki süpermarket ve kasaplardan toplandı. Her bir örnek %6,5 NaCl içeren Müeller Hinton Broth'da 37 °C'de 24 saat inkübe edildi (birincil zenginleştirme). İnkübasyon sonrası zenginleştirme sıvısından bir öze dolusu alınarak MSSA tespiti için Baird Parker agara (BPA), MRSA tespiti için Oxacillin Resistant Staphylococci Isolation Medium agara (ORSIM) geçildi (Yöntem A, MRSA tespiti için). Birincil zenginleştirme sıvısından 1 mL alınıp 3,5mg/L sefoksitin ve 50mg/L aztreonam içeren Tryptone Soya Broth tüplerine transfer edildi (selektif zenginleştirme). İnkübasyon sonrası selektif zenginleştirme sıvısından bir öze dolusu alınarak ORSIM agara (Yöntem B, MRSA tespiti için) geçildi. MSSA ve MRSA şüpheli koloniler Gram boyama, katalaz, koagülaz testi ve Vitek II bakteriyel identifikasyon sisteminde doğrulandı. MSSA ve MRSA izolatlarında *nuc* ve *mecA* gen varlığı PCR ile, sefoksitin duyarlılığı ise EUCAST tarafından önerildiği şekilde disk difüzyon yöntemi ile gerçekleştirildi.

Bulgular: Et türlerine göre oranları değişmekle beraber analiz edilen 325 örneğin 186 (%57,2)'sının MSSA ile kontamine olduğu belirlendi. 186 örnekten elde edilen 219 *S. aureus* izolatının 108(%33,2)'inin koagülaz pozitif *S. aureus* (KPS) olduğu saptandı. KPS prevalansının dana kıyma ile kanatlı etleri (tavuk, hindi ve ördek) arasındaki farklılığın istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlendi ($P<0,05$). Yöntem A ile elde edilen 118 izolatın *S. aureus* olmadığı ancak *mecA* geni taşıdığı; Yöntem B ile elde edilen 73 izolatın 4 (%5,4)'ünün *nuc* ve *mecA* genlerini taşıdığı ve sefoksitine karşı dirençli (MRSA) olduğu ancak geriye kalan 69 izolatın *S. aureus* olmadığı ama *mecA* geni taşıdığı belirlendi.

Sonuç: Bu tez çalışması hayvansal orijinli gıdaların KPS veya MRSA gibi halk sağlığı ve gıda güvenliği açısından önemli *S. aureus* türleri ile kontamine olabileceğini göstermektedir. Çiftlikten sofraya gıda güvenliği kapsamında uluslararası gıda güvenliği sistemlerinin etkin bir şekilde uygulanması bu patojenden kaynaklanabilecek halk sağlığı risklerin önlenmesinde etkili olacaktır.

Anahtar sözcükler: *Staphylococcus aureus*, metisilin direnci, dana eti, kanatlı eti, prevalans.

Investigation of Prevalence of Methicillin Sensitive and Resistant *Staphylococcus aureus* in Beef, Chicken, Turkey and Duck Meats

Student's Surname and Name: Adle Ronayi BOZAN BAYRAK

Adviser of Thesis: Associate Professor Husnu Sahan GURAN

Department: Food Hygiene and Technology

1.2. ABSTRACT

Aim: The aim of this study was to determine the presence of methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in ground beef, chicken, turkey and duck meats.

Material and Methods: A total of 325 samples including 100 chicken meats, 100 turkey meats, 25 frozen duck carcasses and 100 ground beef meats were collected from supermarkets and butchers in Diyarbakir city. Each sample was introduced into enrichment broth containing Mueller Hinton Broth + 6,5% NaCl and then the suspension was incubated for 24 hours at 37 °C (primary enrichment). After the incubation one loopful of the enriched suspension was streaked onto Baird Parker agar for MSSA detection, and Oxacillin Resistant Staphylococci Isolation Medium agar (ORSIM) for MRSA detection (Method A for MRSA). One ml of the primary enrichment broth was put into a selective enrichment broth containing Tryptone Soy broth tubes with 3.5mg/L cefoxitin and 50mg/L aztreonam. After overnight incubation, the selective enrichment broth was subcultured on ORSIM agar for MRSA detection (Method B for MRSA). Presumptive MSSA and MRSA colonies were confirmed with a catalase, coagulase, latex agglutination test and Vitek II bacterial identification system. The presence of *nuc* and *mecA* genes in the MSSA and MRSA isolates was detected by using PCR. Susceptibility to cefoxitin was determined by using disk diffusion according to the EUCAST.

Results: 186 (57,2%) of the 325 samples analyzed were contaminated with MSSA. It was determined that 108 (33,2%) of the 219 *S. aureus* isolates obtained from the 186 samples were coagulase positive *S. aureus* (CPS). Prevalence of CPS was found to

be statistically significant difference between ground beef meats and poultry meats (chicken, turkey, duck) ($P < 0,05$). None of 118 suspicious isolates determined by Method A was *S. aureus* but all the isolates carried *mecA* gene; 4 (5,4%) of 73 suspicious isolates determined by Method B carried both *nuc* and *mecA* gene and resistant to ceftiofur (MRSA) while the remaining 69 isolates were not *S. aureus* but carried *mecA* gene.

Conclusion: This study results showed that foods of animal origin could be contaminated with CPS and MRSA that are important in terms of public health and food safety. The effective implementation of international food safety systems such as HACCP and ISO 22000 will be effective in the prevention of the public health risks that could originate from this pathogen.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, methicillin resistance, beef meat, poultry meat, prevalence.

2. GİRİŞ ve AMAÇ

Hızla globalleşen günümüz dünyasında 1961 yılında dünyada kişi başı et tüketimi 23,1 kg iken 2011 yılı itibariyle yaklaşık iki katına çıkarak 42,2 kg ulaşmıştır (1). Birleşmiş Milletler tarafından yayınlanan bir raporda 2017 yılı itibari ile 7,6 milyar olarak tahmin edilen dünya nüfusunun 2050 yılında 9,8 milyar ulaşacağı öngörülmektedir (2). Bu da insan beslenmesinde önemli bir protein kaynağı olan et ihtiyacının global düzeyde nüfus artışına paralel bir şekilde artacağını göstermektedir. Geçmişte kırmızı et (sığır) tüketiminin ön planda olduğu dünyada son 20 yılda kanatlı eti başta olmak üzere domuz eti üretimi ve tüketim oranlarında önemli artışların olduğunu göstermektedir (1). İnsanoğlunun direk veya indirek (hayvansal kaynaklı gıdalar aracılığıyla) bir şekilde hayvanlarla ve çevre ile etkileşim halinde olması mikrobiyal risklere maruz kalmasını kaçınılmaz hale getirmektedir. Son yıllarda hastane, toplum veya hayvansal kaynaklı *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) izolatlarındaki antibiyotiklere karşı çoklu direnç gelişimindeki hızlı artış bu bakterinin daha yakından takip edilmesini zorunlu hale getirmiştir. Hem konak spesifik hem de insan ve hayvanlarda enfeksiyöz birçok hastalıktan sorumlu olan *S. aureus* aynı zamanda dünyada en çok gıda tüketimi ile ilişkili salgınlara neden olan patojenler arasında gösterilmektedir (3, 4).

Bu tez çalışmasında hayvansal orijinli farklı et türlerinde Metisiline duyarlı (MSSA) ve Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA)'ların varlığı araştırılarak bu tür etlerin halk sağlığı ve gıda güvenliği açısından ne düzeyde risk oluşturduğunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. *Staphylococcus*'ların Sınıflandırılması

Yunanca “üzüm salkımı” anlamına gelen “*Staphylococcus*” ilk defa 1878 tarihinde Robert Koch tarafından tanımlanmış olup 1880 yılında laboratuvar koşullarında sıvı besiyerinde üretilmiştir (5, 6). Önceleri *Micrococcus* türü bakteriler olarak kabul edilen *Staphylococcus*'lar hücre duvarı yapısı, sitokrom ve yağ asiti profilleri, alifatik hidrokarbonlar ve menakuinon içerikleri gibi hücre komponentlerinin farklı olduğu tespit edilmesiyle *Micrococcus*'lardan ayrı bir tür olduğu kabul edilmiştir (7). 1974 yılına kadar koagülaz üretim yeteneğine göre *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus* türleri *Staphylococcus*'lar içinde sınıflandırılırken sonraki yıllarda gerçekleştirilen araştırmalar sonucunda *S. capitis*, *S. warneri*, *S. xylosus*, *S. intermedius*, *S. cohnii*, *S. sciuri*, *S. hycus* *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. simulans*, *S. carnosus*, *S. caprae*, *S. gallinarum*, *S. equorum*, *S. delphini*, *S. felis*, *S. caseolyticus*, *S. auricularis*, *S. lentus*, *S. saccharolyticus*, *S. arlettae*, *S. kloosii*, *S. chromogenes*, *S. lugdunensis* ve *S. schleiferi*, *S. lutrae*, *S. pseudintermedius*, *S. agnetis* gibi yeni türler eklenmiştir. Moleküler filogenetik araştırmaların da katkısı ile kabul edilen taksonomiye göre *Bacilli* sınıfının *Bacillales* takımı içerisinde *Bacillaceae*, *Listeriaceae*, *Paenibacillaceae*, *Planococcaceae* gibi familyalarla beraber bulunan *Staphylococcaceae* familyası içinde *Staphylococcus* cinsi içinde sınıflandırılmaktadır. Günümüzde bu cins içerisinde son ilavelerle beraber 9 tanesi koagülaz pozitif *Staphylococcus* (KPS), 38 tanesi ise koagülaz negatif *Staphylococcus* (KNS) olmak üzere toplam 47 tür ve 23 alt tür bulunmaktadır (8).

3.2. *Staphylococcus aureus*'un Genel Özellikleri

Staphylococcus'lar içerisinde bulunan *Staphylococcus aureus*, insanlarda ve hayvanlarda enfeksiyon oluşturmaktadır. Gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyonlara yol açma bakımından da en riskli türdür. *S. aureus* bu tür içerisinde virülensi ve antibiyotik direnci en fazla olanıdır. Birçok çevresel koşula, dezenfektan maddeye, yüksek tuz konsantrasyonuna dayanıklıdır. Bu özellikler sayesinde bakteri kolayca bulaşabilir ve enfeksiyon oluşturabilmektedir (9, 10).

Alkol ve iyot gibi antiseptiklere de duyarlıdırlar. *Staphylococcus*'lar 6,5 °C ile 47 °C gibi geniş bir sıcaklık aralığında gelişebilmekle beraber üreme için optimum 35-37 °C'lık bir sıcaklığı ihtiyaç duyarlar. pH 4 ile 10 arasında gelişebilmekle beraber optimum pH 6-7 değerlerinde gelişirler (11).

3.3. Morfolojik Özellikleri

S. aureus mikroskop altında yuvarlak küre şeklinde düzensiz üzüm salkımına benzeyen gruplar halinde görülmektedir. Gram pozitif, hareketsiz, sporsuz, genellikle kapsülsüz bir mikroorganizmadır. 0,5-1,5 µm boyutlarında bulunmaktadır (6). Katı besiyerlerinde düzgün kenarları olan yuvarlak görünümlü 1-3 mm çapına sahip S (smooth) tipinde koloniler meydana getirmektedirler (10). %5 kanlı agarda beta hemoliz oluştururlar ancak bazı *S. aureus* suşlarının hemoliz oluşturma yetenekleri bulunmaz.

3.4. Biyokimyasal Özellikleri

Staphylococcus'lar, özellikle glikoz olmak üzere birçok şekeri (laktoz, sükroz, maltoz, trehaloz gibi) fermente ederek laktik asit meydana getirirler. *S. aureus*'lar ise diğer *Staphylococcus*'lardan farklı olarak mannitolü aerobik ve anaerobik olarak fermente edebilme kabiliyetinde olup ancak gaz açığa çıkarmazlar (11). Koagülaz pozitif *Staphylococcus*'lar *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. pseudintermedius*, *S. lugdunensis*, *S. hyicus*, *S. delphini*, *S. lutrae*, *S. aureus* subs. *anaerobius*, *S. schleiferi* subs. *coagulans* türleri koagülaz enzimi aracılığıyla kan plazmasındaki fibrinojeni fibrine çevirerek koagülasyon oluşturmaktadırlar. Koagülaz enzimi *Staphylococcus*'lar için tür tayininde kullanılan önemli bir enzimdir (8). Patojen özellikte olan *S. aureus*'ların yapısında katalaz, lesitinaz ve termonükleaz enzimleri yer almaktadır. Katalaz enzimi *S. aureus* kolonilerine hidrojen peroksit (H₂O₂) ilavesiyle gaz kabarcıkları meydana getirmektedir. Besiyerine katılan yumurta sarısı telluriri lesitini parçalayarak kolonilerin etrafında opak görünümlü lesitinaz halkası oluşturur. Aynı şekilde DNaz enzimi besiyeri ortamına katıldığında DNA'yı parçalayarak HCl ilavesi sonucu elde edilen izolatlar opak bir görünüm almaktadır. Ayrıca katı besiyerine ilave edilen potasyum tellürüti tellüriuma indirgeyerek siyah renkli koloniler meydana getirmektedir (6). *S. aureus* %20'lik tuz

konsantrasyonlarında üreyebilmekle beraber %10'luk tuz konsantrasyonlarının üstündeki ortamlarda toksin oluşturmaz. *S. aureus* diğer mikroorganizmalarda olduğu gibi sıcaklık, pH, su aktivitesi (aw) ve oksidasyon redüksiyon potansiyeli gibi faktörlere bağlı olarak üreyip gelişebilmektedir (12). Osmotolerant özelliğe sahip olduğundan düşük su aktivitesi değerlerinde üreyebilen *S. aureus* 0,83 aw değerinde gelişim gösterebilmekte ancak bu değerlerde toksin oluşturmazlar (9, 13).

3.5. *Staphylococcus aureus*'un Virülens Faktörleri

S. aureus'un birçok virülens faktörü bulunmaktadır. Bu faktörlerin başlıca özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

3.5.1. Kapsül

Fagositoza karşı direnç gösteren izolatların bir kısmının, mikrobiyel yüzey bileşenlerini, fagositik hücreler tarafından tanınmasında etkin bir şekilde korumaktadır. *S. aureus* polisakkarit yapıya sahip bir kapsül oluşturmaktadır. Özellikle, invitro şartlarda mukoid koloni meydana getiren izolatların kapsüle sahip oldukları ifade edilmektedir. Kapsül bakterinin hücre duvarını en dıştan çepeçevre saran polisakkarit yapıdadır. Kapsüller polisakkarit 5 (CP5) ve kapsüller polisakkarit 8 (CP8) olmak üzere iki ana tipi bulunmaktadır. *S. aureus*'un CP5 ve CP8 yapılarını bulundurması, invivo koşullarda hayatta kalmasında ve virülensinde önemli olduğu belirtilmektedir (14).

3.5.2. Slime tabaka

Birçok *Staphylococcus* türü gibi *S. aureus* bakterisi de yabancı cisimlere, plastik ve metal yüzeylere, biyomedikal ekipmanlara yapışarak kolonize olmasında önemli bir yeri olan bağışıklık sistemi üzerinde farklı etkilere sahip bir slime tabakası (biyofilm tabakası) üretmektedir (15). Bu biyofilm tabakası; D-galaktoz, D-mannoz, D-ksiloz, D-galakturonik asit, D-galaktozamin ve D-glukuronik asit gibi mono ve polisakkaritler, protein ile küçük peptitlerden meydana gelmektedir (16). Biyofilm tabakası, hücresel fagositozu, degranülasyonu önleme özelliğine sahiptir. Biyofilm tabakası, aynı şekilde antimikrobiyal direnç mekanizmasında da rol oynamaktadır. *S. aureus*'un biyofilm üretebilen suşlarının neden olduğu enfeksiyonların tedavilere

güçlükle cevap verdiği ve bu tabaka sayesinde böyle suşların yüzey gerilimini değiştiren ajanlara, proteazlara ve yüksek sıcaklığa karşı direnç göstermesinde etkili olduğu belirtilmektedir (17).

3.5.3. Hücre duvarı

3.5.3.1. Peptidoglikan tabaka

Staphylococcus'ların hücre duvarındaki asıl bileşen hücre duvarının yarısı ağırlığında bulunan N-asetil muramik asit ve N-asetil glukozaminin glikan zincir tabakalarının çapraz bağlanması sonucu oluşan peptidoglikan tabakasıdır. Bakterinin lizozime dirençli olmasındaki esas neden çapraz bağlanma şekli olduğu ifade edilmektedir. Peptidoglikan tabaka bakteriye şekil vermenin yanında bakterinin esnek olmasını da sağlamaktadır (18).

3.5.3.2. Teikoik asit

Hücre duvarında yer alan peptidoglikan tabakasından sonraki önemli bileşen teikoik asittir. Teikoik asit yapısındaki f sfatlar mukozalardaki spesifik reseptörlere bağlanmada rol oynar (antijenik  zellik). Teikoik asit, mikroorganizmanın esnekliğine de katkı sunarak dış etkenlere karşı dayanıklı olmasını ve sert bir özellik göstermesini sağlar (19).

3.5.3.3. Protein A (SpA)

Hücre duvarı yapısında bulunan *Staphylococcal* protein A (SpA) *S. aureus*'da bulunan bir protein komponentidir. Bu yüzey proteini 42 kDa ağırlığındadır. Hücre duvarının %7-8'ini oluşturmaktadır (20). *S. aureus* tarafından serbest olarak salınan ya da bakterinin yüzeyinde bulunan SpA molekülleri, konakçı tarafından salgılanan IgG antikorlarının Fc bölgelerine bağlanarak opsonofagositozisi bloklamaktadır. Böylelikle fagositoz kapasitesinin düşmesine neden olarak normal fagositozdan bakteriyi korumaktadır (21).

3.5.4. *Staphylococcus aureus* enzimleri

S. aureus suşlarının büyük bir kısmı, hem enzim hem de toksin özelliklerini birlikte bulunduran dokuların yıkımında ve lezyonların oluşmasında rol oynayan birçok ekstrasellüler madde üretmektedir (22).

3.5.4.1. Koagülaz enzimi

Koagülasyon pıhtı içinde yer kaplayan bakterileri yakalamak ve hareketsiz bırakmak için patojenlere karşı, konakçı tarafından geliştirilmiş kalıtsal bir savunma sistemi olup koagülaz plazmanın pıhtılaşmasına yol açan bir enzimdir (23). *Staphylococcus* cinsi içinde koagülaz pozitif olarak *S. aureus*, *S. delphini*, *S. lutrae*, *S. pseudintermedius*, *S. intermedius*, *S. lugdunensis* ve *S. aureus subs. anaerobius*, *S. schleiferi subsp. coagulans*, *S. hyicus* türleri yer alır (8, 23). Koagülaz varlığının belirlenmesi *S. aureus*'un identifikasyonunda önemlidir. Moleküler düzeyde tanımlanan ve konfirme edilen izolatlarda yapılan çalışmalarda tüp içerisinde tavşan plazması ve mikroorganizama süspansiyonunun karıştırılıp inkübe edilmesi şeklinde uygulanan tüp koagülaz testi sonucunun özgüllüğünün %98,1 ve duyarlılığının %98,7 olduğu bildirilmiştir (24).

3.5.4.2. Katalaz enzimi

S. aureus'un konakçı immun sisteminden kurtulup hayatta kalması için sahip olduğu birçok mekanizmadan birisi olan katalaz enzimi bakteriyi hidrojen peroksit (H_2O_2)'in nötralizasyon etkisinden korumaktadır. Katalaz enzimi sayesinde *S. aureus* H_2O_2 'yi oksijen ve moleküler suya ayrıştırarak fagositlerin sahip olduğu toksik özellikteki oksijen radikallerinden kurtulup yaşamasında önemli bir rol oynar (25). Aerobik bakteriler tarafından üretilen katalaz enzimi *Staphylococcus* türlerinin *Streptococcus*'lardan ayırımında yaygın kullanılan testlerden biridir.

3.5.4.3. Lipaz enzimi

Lipaz enzimi, trigliseritleri oluşturan gliserol ve yağ asitleri arasındaki ester bağlarını katalize ederek *S. aureus*'un lipolitik aktivite sonunda insan plazmasında linoleik asit benzeri bir kısım yağ asitlerinin ortaya çıkmasında büyük rol

oynamaktadır (26). Lipaz inhibitörleri *S. aureus* bakterisinin biyofilm oluşumunu azalttığı ifade edilmektedir (27).

3.5.4.4. Hyalüronidaz enzimi

Hyalüronidaz enzimi, molekül ağırlığı yüksek olan bir polimer olup N-asetil glukozaminin tekrar eden disakkarit birimleri ve D-glukuronik asitten oluşur. Hyalüronik asit deri yüzeyi, iskelet yapısı, göbek kordonu, akciğer, kalp kapakçıkları ve beyin gibi doku ve organlarda bulunur. Konakçı için birçok fonksiyona sahip olan hyalüronik asit dokularda yer alan suyun osmotik basıncını düzenler, hücrenin artmasına yardımcı olur ve immün sistemini düzenlemesinde görev yapar (28). Hyalüronidaz enzimi *S. aureus*'ların %90'dan fazlası tarafından üretilmektedir. *S. aureus*'un dokulara yayılımını kolaylaştıran bir enzimdir (29).

3.5.4.5. Deoksiribonükleaz enzimi

Deoksiribonükleaz enzimi; mikrokokkal nükleaz, deoksiribonükleaz veya DNaz gibi birden fazla isimle anılmaktadır (30). *S. aureus* izolatları, salgıladıkları DNaz enzimi sayesinde ortamda bulunan DNA'ları parçalamaktadır. DNaz bulunan besiyerine *S. aureus* ekimi yapıp bir gece inkübasyona bırakıldıktan sonra örneğe 1 N hidroklorik asit (HCl) dökülüp ortam asitleştirildiğinde, üreyen kolonilerin etrafında opak bir zon oluşturmaktadır (31). Termotabil DNaz testinin sensitivitesi yaklaşık %90 ve spesifitesinin %96 olduğu ifade edilmektedir (32).

3.5.4.6. Termonükleaz enzimi

S. aureus'un, termotabil bir nükleaz enzimi salgıladığı ilk defa Cunningham ve arkadaşları tarafından 1956 yılında tespit edilmiştir (33). *S. aureus*'lar da bulunan bu enzim DNA ile RNA'yı parçalayabilme özelliğine sahiptir (7). Termonükleaz testi ile kanlı besiyerlerinde *S. aureus*'un doğrudan tespitinde önemli olup ekonomik ve uygulama olarak da basit bir test özelliğindedir.

3.5.5. *Staphylococcus aureus* toksinleri

S. aureus tarafından gıdalarda, konakçı hücre ya da dokularında üretilen toksinlerin büyük çoğunluğu biyolojik membranlara zarar vererek hücre ölümüne

sebepler olurlar. Bunun yanında toksinler, konakçı savunma sisteminin *S. aureus*'u tanımasını engelleyerek hücre ve dokularda hasara yol açarlar (34). Toksinler; sitolitik toksinler, ekfoliyatif toksinler, toksik şok sendrom toksini ve Staphylococcal enterotoksinler olmak üzere dört gruba ayrılmaktadır.

3.5.5.1. Sitolitik toksinler

Sitoplazmik membran *S. aureus* tarafından üretilen çeşitli toksinlerle beraber birçok bakteri toksininin hedefindedir. Bu toksinler membranda gözenek oluşturma özelliğinde olup hayati metabolitlerin hücre dışına çıkmasına neden olurlar. Bu sebeple bu toksinler sitolitik olarak adlandırılmaktadır. *S. aureus*'lar farklı özellikteki sitolitik etkili toksinleri üretebilirler. Eritrositleri parçalayanlara hemolizin, lökositleri parçalayan toksinlere de lökotoksin olarak adlandırılırlar (35).

- α - (alfa) hemolizin:

α -hemolizin, yaygın olarak α -toksin olarak isimlendirilmektedir. Hücresel spesifitesi geniş aralıkta olduğundan dolayı doku ölümüne sebep olmaktadır. Aynı şekilde ölümcül enfeksiyonlarda yara oluşumunun nedenleri arasında gösterilmektedir. α -hemolizin *S. aureus* tarafından oligomerize olan ve suda çözünen bir monomer olarak salgılanmaktadır. Bu toksin 293 aminoasitten oluşmaktadır ve 33 kDa ağırlığındadır. Bu toksin konakçı hücre membranında porlar oluşturmaktadır. Bu sebeple kalsiyum (Ca), potasyum (K), adenosintrifosfat (ATP) gibi hayatsal fonksiyonlara sahip molekülleri hücre dışına çıkartarak hücrenin ölümüne zemin hazırlamaktadır (36).

- β - (beta) hemolizin:

β -hemolizin konak hücre membran lipiti olan sfingomiyelini hidrolize eden nötr bir sfingomiyelinazdır. Hemolitik etkinlik için enzimatik aktivasyon göstermesi gerekmektedir (37).

- δ - (delta) hemolizin:

Hidrofilik ve hidrofobik yüzeylere sahip olan δ - hemolizinler küçük amfipatik peptit özelliğindedirler. Hemolitik aktivasyonu farklı şekillerde olur; i: hücre

yüzeyine bağlanıp kümeleşerek membranda porlar açmak ii: hücre yüzeyine bağlanarak membranın kavisli yapısını bozup stabilitesini inaktive etmek iii) yüksek konsantrasyona ulaştığı zaman hücre membranında deterjan gibi etki ederek membranı çözdürmektedir (37).

- γ - (gama) hemolizin ve iki bileşenli lökositinler:

Özellikle nötrofiller için toksik olan PantoneValentine lökositin (PVL) lökositin S-PV (LukS-PV) ile lökositin F-PV (LukF-PV)'den oluşmaktadır. LukED, LukGH, LukAB olarak isimlendirilen toksinler de bu iki bileşenli yapıyı göstermektedirler (38). Bu lökotoxinler ile konakçı hücre yüzeyi arasındaki aktiveteler fagositoz gibi süreçlerde, bağışıklık sistemi hücreleri ile *S. aureus*'lar direk temasa geçtiklerinde gelişir. Bu tür lökotoxinleri üreten suşlar belirgin şekilde diğerlerine göre fagositoza daha dirençlidirler (39). PVL toksini hemolitik özellikte olmayıp, sadece insan ve tavşan lökositlerini hedef alır. Metisiline dirençli (MRSA) suşların yanı sıra metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA)'larda PVL toksini bulunabilmektedir. Bu izolatlarda PVL'lerle birlikte, α -hemolizin, β -hemolizin, LukED, proteaz A ve proteaz B virülens faktörlerinin üretiminden sorumlu genlerin de yüksek oranlarda tespit edildiği bildirilmektedir (40).

3.5.5.2. Eksfoliyatif toksin

Eksfoliyatif toksinler (ETs) en çok etkiyi yenidoğan ve bebekler üzerinde göstermektedir. Bu toksinler deri katmanlarının kaybolmasına ve *Staphylococcal* haşlanmış deri sendromu (staphylococcal scalded skin sendrom SSSS)'na neden olur. SSSS'de, canlının toksine karşı verdiği immun yanıtı bağli olarak deri lezyonları oluşmaktadır. SSSS'de erken belirtiler şunlardır; ateş, kırgınlık, yorgunluk, uyuşukluk ve iştah kaybıdır. Bu semptomları döküntüler, patlamaya elverişli, büyük, içi sıvı dolu kabarcıklar izlemektedir (41).

-Toksik Şok Sendrom Toksini (TSST-1):

S. aureus'un en iyi bilinen süperantijenlerinden biri olan toksik şok sendromu toksini (TSST-1) 22-kDa moleköl ağırlığındadır. Tekli polipeptid zincir yapısında bir protein özelliği göstermektedir. IL-1, IL-2, TNF- α ve diğer sitokinlerin salınımını uyarak toksik şok sendromuna (TSS) neden olmaktadır (42). TSST-1 kromozomal

olarak tstH geni tarafından kodlanır ve proteolitik enzimler ile muamalesiyle bir saat kaynatma sonucunda bile aktivitesini belirgin derecede koruduğu bildirilmektedir. TSST-1 kusmaya neden olmaması özelliği ile diğer entertoksinlerden ayrılmaktadır.

3.5.5.3. Staphylococcal enterotoksinler

Staphylococcal enterotoksinler (SE), 26-29 kDa molekül ağırlığına sahiptir. Tek zincirli globuler polipeptidlerden oluşmaktadır. İzoelektrik noktaları 7 ila 8,6 aralığında değişmektedir (43).

Serolojik olarak beş temel Staphylococcal enterotoksin tipi SEA, SEB, SEC, SED, SEE tanımlanmış olup bunun yanında farklı özellikteki 14 farklı toksin tipinin olduğu belirtilmektedir (44). Enterotoksijenik *S. aureus*'ların, gıdalarda toksin oluşturabilmeleri için uygun sıcaklık, nem, su aktivitesi, pH, redoks potansiyeli gibi şartları kullanarak 10^6 kob/g-ml düzeyine kadar çoğalabilmeleri gerekmektedir. Toksinler genellikle tuzlu ve sulu çözeltilerde iyi çözünmektedir (45). Gıda maddelerinde oluşan Staphylococcal enterotoksinlerin inaktivasyonunda ısı işlemler yetersiz kalabilmekte ve böyle gıdaların vücuda alınmasını takiben 1 ila 4 saat sonra semptomlar görülmeye başlar. Sindirim sisteminde bulunan kusma merkezleri SE'ler tarafından uyarılarak karın ağrısı, mide bulantısı ve kusma krampları görülmektedir. Kusmuk içeriğinde ya da gaitada mide ve bağırsak kanamasına işaret eden kan kalıntıları görülebilmektedir. Hastalarda şiddetli baş ağrısının yanında vücut ısısı düşmekte ve buna üşüme belirtileri eşlik eder (9).

3.6. Metisiline Duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) ve Gıda Kaynaklı Zehirlenmeler

Staphylococcus cinsi bakteriler doğada (hava, su, toprak) yaygın olarak bulunmak birlikte *S. aureus*'un en önemli rezervuarı insanlar, memeli hayvanlar ve kuşların deri yüzeyleri ile nazofarengial mukozalardır (46). Aynı zamanda gastrointestinal kanal, rektum ve perineum bölgesinde, insan ve hayvan dışkılarında, apseli yaralarda yoğun olarak bulunurlar (47). *S. aureus*'un, insanlarda ana ekolojik yaşam alanı burundur. *S. aureus*'lar çevre koşullarına oldukça dirençli bakteriler olup gıdaları yaşam ve besin kaynağı olarak kullanırlar.

Hayvansal orijinli gıdalar sağlıklı hayvanlardan elde edildiklerinde esas itibariyle güvenli olarak kabul edilir. Ancak kesimden sofraya kadar olan aşamalarda farklı özellik ve türdeki mikroorganizmalar ile kontamine olmaları sonucu insanlarda gıda kaynaklı enfeksiyon veya zehirlenmelere neden olurlar (46). *S. aureus* etkeni gıdalara enfekte hayvanlardan, personelden, alet-ekipman veya muhafaza sırasında bulaşabilmektedir. Özellikle gıdaların muhafazası sırasında kemirici hayvanlar ile haşereler bulaşmada önemli vektörler arasında kabul edilir (48). *S. aureus*'un nazal taşıyıcılık oranının genel popülasyonda %10 ile %40 arasında olması bu bakterinin gıdalara bulaşmasında en önemli kaynaklardan birinin de insan olduğunu göstermektedir (47, 49). *S. aureus* açısından riskli gıdalar arasında kırmızı et ve ürünleri, kanatlı eti ve ürünler ile süt ve süt ürünleri yer alır.

S. aureus tarafından üretilen ısıya dayanıklı Staphylococcal enterotoksinlerden kaynaklanan gıda zehirlenmeleri, her yıl ABD'de 240 000'in üzerinde hastalık vakasına neden olmaktadır. Söz konusu vakaların Avrupa'da her yıl 150 000'in üzerinde olduğu bildirilmektedir (50). Türkiye'de Staphylococcal enterotoksinlerden kaynaklı vaka sayısının tam olarak ne olduğu ile ilgili bir bilgiye ulaşılamamakla beraber ancak *S. aureus* varlığının araştırıldığı çalışmalarda hayvansal kaynaklı gıdaların değişen oranlarda bu bakteri ile kontamine olduğunu göstermektedir. Gündoğan ve Ataol (2012)'nin Ankara'da marketlerden temin ettikleri 30 kıyma/tavuk eti örneğinden %20, Güran ve Kahya (2015) Diyarbakır'da market ve kasaplardan topladıkları 250 dana ve kuzu kıyma örneğinde %31,2 oranında *S. aureus* tespit ettiklerini bildirmişlerdir (51, 52).

3.7. Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Tarım, hayvancılık ve tıp gibi alanlarda antibiyotiklerin bilinçsiz kullanılmasının sonucunda antibiyotik direnci günümüz dünyasında önemli ve ciddi bir halk sağlığı sorunu kabul edilmektedir. Antibiyotikler tedavinin yanı sıra gıda hammaddesi üretimi için yetiştirilen hayvanlarda canlı ağırlık artışı sağlamak için de kullanılmış olması böyle hayvanlardan elde edilen ürünlerin toplumda antibiyotik direncinin artışında önemli bir yere sahiptir (53). Diğer mikroorganizmalar gibi süre gelen yıllar içinde *S. aureus*'lar da birçok antibiyotiğe karşı direnç geliştirmiş ve gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike dönüşmüştür. 1940'lı yıllarda

penisilinin bulunması ile *Staphylococcus*'lar ile ilişkili enfeksiyonlarda hızla azalma görülmüş olmakla beraber 1941'li yıllardan itibaren *Staphylococcus*'ların penisiline karşı geliştirdiği direnç (%90'lara kadar) dışında vankomisin dahil klinik açıdan önemli birçok antibiyotiğe karşı direncin her geçen gün arttığı görülmektedir (54).

S. aureus'un penisiline karşı direnç göstermesi sonucu penisilaza dirençli bir yarısentetik beta-laktam olan metisilin antibiyotiği kullanılmaya başlanmıştır. İlk önce 'Celbenin' adıyla satışa sunulan metisilin 1959 yılında Londra'da bir hastanede kullanılmıştır. Bir yıl sonra aynı hastanede üç farklı hastadan metisiline dirençli suşların izole edildiği rapor edilmiştir (55). Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA)'lar 1960 yıllardan itibaren kısa süre içinde birçok ülkede ortaya çıkmıştır. Metisiline duyarlı *S. aureus*'larda beş adet penisilin bağlayan protein (PBP) olmakla beraber metisiline dirençli *S. aureus*'larda bunlara ilaveten yaklaşık 72 kDa ağırlığında olan "PBP2a" olarak adlandırılan farklı bir PBP vardır (56). Penisilin bağlayan protein (PBP2a)'ın azalmış afinitesinin 1981 yılında tespit edilmesiyle, metisiline direnç mekanizması anlaşılabilmiştir. PBP2a, diğer PBP'lerden farklı olarak beta-laktam yapısındaki antibiyotiklere karşı oldukça düşük afinite gösterir ve böylece beta-laktam grubu antibiyotiklerin varlığında yüksek afiniteli PBP'lerin fonksiyonunu görerek peptidoglikan sentezinin devam etmesine neden olur. PBP2a taşınabilir genetik eleman olan Staphylococcal kaset kromozom *mec* (SCCmec) üzerinde yer alan 2,1 kb büyüklüğündeki *mecA* geni tarafından kodlanır. MRSA izolatlarının beta-laktam grubu antibiyotikler dışında linkozamid, makrolid ve aminoglikozitler gibi diğer antibiyotiklere karşı çoklu direnç gösterebilmesinden dolayı önemli bir halk sağlığı problemi olarak kabul edilmektedir (54).

Epidemiyolojik özellik ve kaynaklarına göre MRSA suşları; hastane kaynaklı MRSA (HA-MRSA), toplum kaynaklı MRSA (CA-MRSA) ve çiftlik havanları kaynaklı MRSA (LA-MRSA) olmak üzere üç sınıf altında gruplandırılmaktadır (50). HA-MRSA'lar çoklu antibiyotik dirençleri nedeniyle 1960'lı yıllardan itibaren tedavi uygulamalarında büyük güçlüklerle neden olmaktadır. HA-MRSA'nın bulaş kaynakları arasında MRSA ile enfekte olmuş hastalar dışında sağlık personelleri ile hastanelerde kullanılmakta olan alet/ekipman ve cihazlar yer alır (57). 1990'lı yıllardan itibaren toplum içerisinde bir risk faktörü taşımayan sağlıklı, hastanede kalmamış ya da uzun süre tedavi görmemiş insanlarda MRSA ile ilişkili

enfeksiyonların sıklıkla ortaya çıkması sonucu oluşan enfeksiyon durumu CA-MRSA olarak ifade edilmiştir (58). Çiftlik hayvanları ile ilişkili MRSA suşları, ilk kez 2003 yılında domuzlarda saptanmıştır (50). Günümüzde MRSA etkeni sığır, domuz, at, kümes hayvanları, tavşan ve egzotik gibi birçok hayvan türünden izole edildiği bildirilmektedir (59). MRSA'nın kolonize olduğu veya bu patojen ile enfekte hayvanlar ile temas halinde olan hayvan sahipleri, veteriner hekimler, çiftlik ve kesimhane personeli bu patojen açısından risk altındadır (60). Birçok araştırma MRSA etkeninin ayrıca tüketici seviyesinde satışa sunulan hayvansal kaynaklı gıda maddelerinde de bulunabileceğini göstermektedir. Hollanda'da 2007-2008 yıllarında incelenen toplam 2 217 et ürününün 264 (%11,9) 'ünde MRSA'ya rastlanmıştır. Bu etkenin etlerdeki dağılımına bakıldığında; 395 bifteğin 42 (%10,6)'sinde, 257 dana etinin 39 (%15,2)'unda, 324 kuzu etinin 20 (%6,17)'sinde, 309 domuz etinin 33 (%10,4)'ünde, 520 tavuk etinin 83 (%16,0)'ünde, 116 hindi etinin 41 (%35,3)'inde, 118 kuş etinin 4 (%3,4)'ünde, 178 av hayvanı etinin 4 (%2,2)'ünde MRSA tespit edilmiştir (47). ABD'de yapılan bir çalışmada; 120 perakende et örneğinden 47 (%39,2)'sinin *S. aureus* bulundurduğu ve bunların 6 (%12,7)'sinin de MRSA ile kontamine olduğu tespit edilmiştir (61). Kanada'da yapılan bir çalışmada, 402 adet perakende 22 et örneğinin 31 (%7,7)'inde MRSA tespit edilmiştir (62).

S. aureus izolatlarında metisilin direnci fenotipik ve genotipik olmak üzere iki farklı yöntem ile belirlenmektedir (63). Fenotipik metisilin direncinin belirlenmesinde hızlı, güvenilir ve spesifitesi yüksek olan sefoksitin antibiyotiğinin (disk diffüzyon, mikrodilüsyon yöntemleri vb.) kullanılması önerilmektedir (64, 65). β -laktamlara karşı direnç düzeyinin genel olarak *mecA* geninin varlığı ile ilişkili olması metisilin direncinin gösterilmesinde önemlidir. Çoğunlukla PCR tabanlı yöntemler *mecA* genini tespit etmek için standart metotlar olarak kullanılmaktadır. Zaman zaman işlevsel olmayan veya eksprese edilmemiş bir *mecA* taşıyan duyarlı suşlar da tespit edilmektedir. Ancak genel olarak *mecA* varlığının ortaya konması yeterli olarak kabul edilmektedir (66).

4. GEREÇ ve YÖNTEM

4.1. Gereç

Bu çalışmada örneklem düzeni, çalışmanın amacına uygun tavuk (göğüs, kanat, kalçalı but ve baget), hindi (kapama, bonfile ve kuşbaşı), donmuş ördek (karkas) ve dana kıyma (vakumlu ve vakumsuz) olmak üzere dört farklı hayvansal orijinli et örneğinden oluşacak şekilde dizayn edildi. Örneklerin tamamı Diyarbakır ili sınırları içerisinde faaliyet göstermekte olan süpermarketlerden veya kasaplardan tüketici seviyesinde satışa sunulduğu şekliyle Tablo 1’de belirtildiği gibi toplandı. 100 adet tavuk eti [göğüs (n:25), kanat (n:25), kalçalı but (n:25), baget (n:25)], 100 adet hindi eti [kapama (n:40), bonfile (n:30), kuşbaşı (n:30)], 25 adet donmuş ördek karkas ve 100 adet dana kıyma [vakum ambalajlı (n:50), kasap (n:50)] olmak üzere toplam 325 örnek materyal olarak kullanıldı. Örnekler Eylül 2018 - Ocak 2019 tarihleri arasında toplandı. Tavuk örnekleri 6 farklı ulusal firmadan, hindi örnekleri 1 ulusal firmadan, donmuş ördek karkas (tam gövde) örnekleri 1 ulusal firmadan, vakum ambalajlı dana kıyma örnekleri 4 farklı ulusal firmadan, dana kıyma (vakumsuz) örnekleri ise lokal düzeyde faaliyet göstermekte olan 15 farklı kasaptan temin edildi. Orijinal ambalajında toplanan örneklerin üretim tarihi ve son kullanma tarihlerinin ilgili yasal mevzuat kapsamında belirlenen süreler içinde olmasına, kasaplardan toplanan kıyma örneklerinin ise temini sırasında elde edildikleri dana karkasların sağlık işareti ile damgalanmış olmasına dikkat edildi.

4.2. Yöntem

Her bir örneklem gününde yukarıda belirtilen kriterleri taşıyacak şekilde toplanan örnekler soğuk zincir altında Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı laboratuvarlarına getirilerek metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) ve metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA)’ların varlığının belirlenmesi amacıyla aynı gün analize alındı. Donmuş ördek karkasları ise FSIS (2013) tarafından belirtildiği şekilde buzdolabı sıcaklıklarında çözündürüldükten sonra analizleri gerçekleştirildi (67).

Tablo 1. Çalışmada kullanılan örneklerin et türüne ve toplanma şekline göre dağılımı

Örnek	Örnek tipi	Ambalaj Şekli	Satış Noktası	Taze/Donmuş	Örnek Sayısı
Tavuk	Göğüs	Orijinal ambalajında	Market	Taze	25
Tavuk	Baget	Orijinal ambalajında	Market	Taze	25
Tavuk	Kalçalı but	Orijinal ambalajında	Market	Taze	25
Tavuk	Kanat	Orijinal ambalajında	Market	Taze	25
Dana	Kıyma	Kasap	Kasap	Taze	50
Dana	Kıyma	Orijinal ambalajında (vakum paket)	Market	Taze	50
Hindi	Bonfile	Orijinal ambalajında	Market	Taze	30
Hindi	Kuşbaşı	Orijinal ambalajında	Market	Taze	30
Hindi	Kapama	Orijinal ambalajında	Market	Taze	40
Ördek	Karkas	Orijinal ambalajında	Market	Donmuş	25
Toplam					325

4.2.1. Analizler

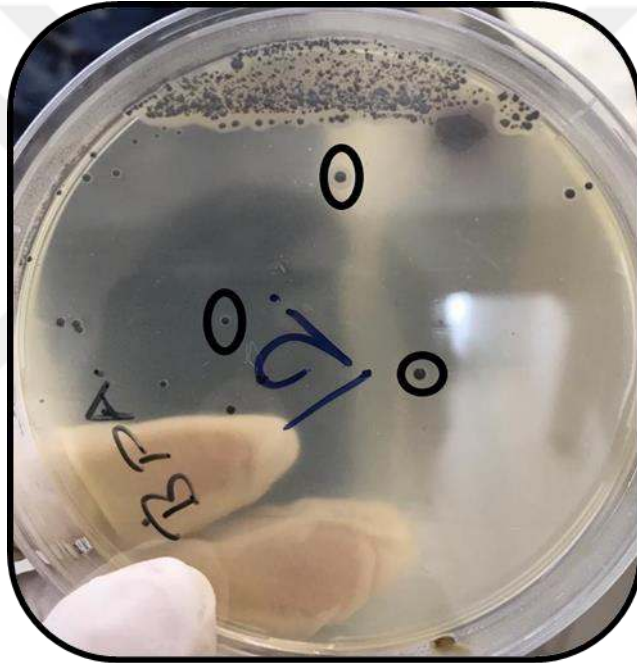
Bu çalışmanın materyalini oluşturan örneklerde Metisiline duyarlı *S. aureus* ve Metisiline dirençli *S. aureus* varlığı farklı mikrobiyolojik yöntemler kullanılarak tespit edildi (Tablo 2).

4.2.1.1. Metisiline duyarlı *S. aureus* tespiti (MSSA)

Aseptik koşullarda steril penset, bistürü veya spatül kullanılarak her bir tavuk, hindi ve kıyma eti örneğinden 25g alınarak steril numune poşetlerine bırakıldı. Daha sonra her bir steril numune poşetine %6,5 NaCl içeren 225ml Mueller Hinton broth (MHB, LABM) ilave edilerek stomacher (Easy Mix, Fransa)'de 1 dk. homojenize edildikten sonra 37 °C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı (ön zenginleştirme). İnkübasyon sonrası 25g örnek+225ml MHB (%6,5 NaCl içeren)'nin bulunduğu poşetten bir öze dolusu alınarak egg yolk emülsiyon ve potasyum tellurit bulunan Baird Parker Agar (BPA, LABM) besiyeri plaklarına sürme yöntemi ile geçildi ve 37 °C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Bunu takiben BPA besiyerinde üreyen gri-siyah renkte, parlak, konveks, lesitinaz halkası oluşturan koloniler *S. aureus* şüpheli olarak kabul edildi (Resim 1). Her bir plakta böyle üreyen kolonilerden 1-3 tane seçilerek bir öze yardımıyla saflaştırmak amacıyla BPA besiyerine pasajlandı ve 37 °C'de 48 saat inkübe edildi. Daha sonra her plaktan öze yardımı ile bir koloni alınarak Tryptone Soy agar (TSA, LABM) plaklarına geçilerek 37 °C'de 18-24 saat inkübe

edildi. Bunu takiben şüpheli izolatlarda fenotipik ve genotipik analizler gerçekleştirilinceye kadar yatık agar içinde (TSA) 4 °C’de muhafaza edildi.

Donmuş ördek karkaslarında MSSA tespiti FSIS (2013) tarafından önerildiği şekilde orijinal ambalajı içinde buzdolabı sıcaklıklarında çözündürüldükten sonra gerçekleştirildi (67). Aseptik koşullarda 5x5’lik steril levhalar kullanılarak toplam 25 cm²’lik göğüs derisi steril numune poşetlerine alındı ve %6,5 NaCl içeren 20ml MHB’den ilave edildi. Daha sonra stomacher (Easy Mix, Fransa)’de 1 dk. homojenize edildikten sonra 37 °C’de 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası MSSA tespitindeki tüm aşamalar yukarıda belirtildiği gibi gerçekleştirildi.



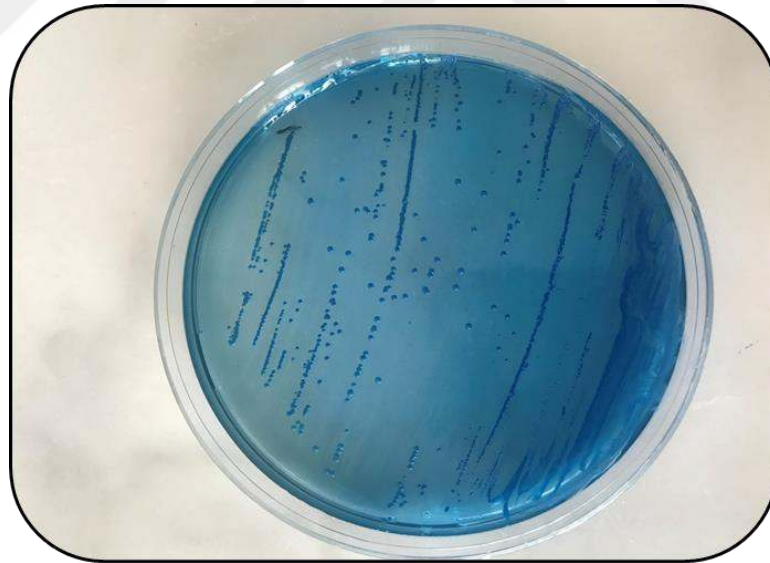
Resim 1. *S. aureus* şüpheli kolonilerin BPA besiyerindeki görünümü

4.2.1.2. Metisiline Dirençli *S. aureus* tespiti (MRSA)

Tavuk, hindi, ördek ve dana eti örneklerinde MRSA varlığı 37 °C’de 18-24 saat inkübe edilen örnek+%6,5 NaCl içeren 225ml MHB’nin bulunduğu ön zenginleştirme sıvıları kullanılarak A ve B olmak üzere iki farklı yöntem takip edilerek gerçekleştirildi.

4.2.1.2.1. Yöntem A ile MRSA tespiti

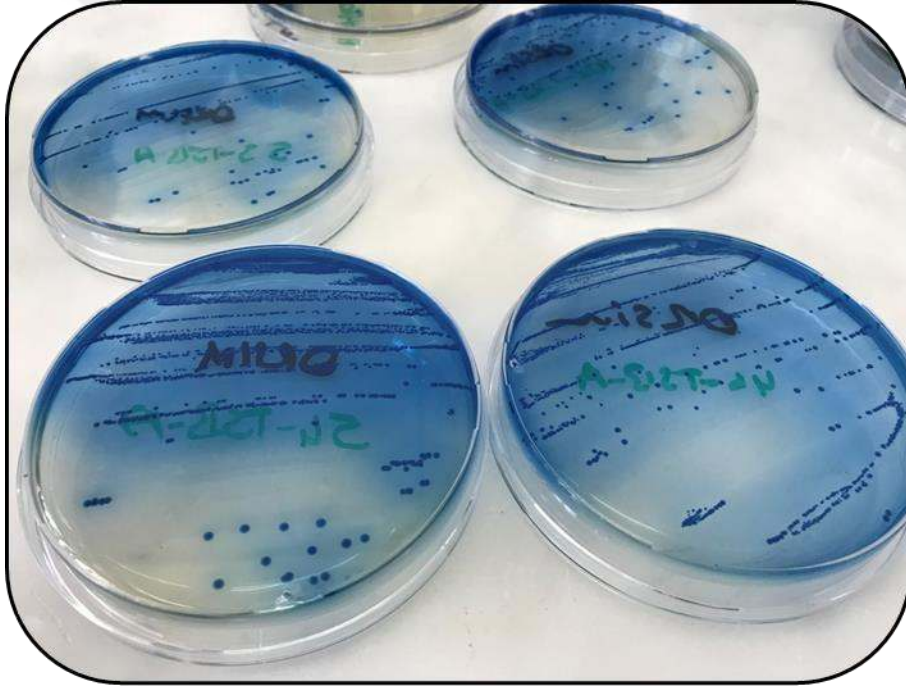
Bu yöntemde 37 °C’de 18-24 saat inkübe edilen 25g numune+%6,5 NaCl içeren 225ml MHB’nin bulunduğu numune poşetlerinden aseptik koşullarda bir öze dolusu alınarak 2 µg/ml oxacillin ile 50 units/ml polymyxin B içeren Oxacillin Resistant Staphylococci Isolation Medium Agar (ORSIM, LABM) besiyerinin bulunduğu plaklara sürme yöntemi ile ekim yapıldıktan sonra 37 °C’de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Üretici firma tarafından önerildiği şekilde inkübasyon sonrası üreyen mavi koloniler MRSA şüpheli olarak kabul edildi (Resim 2). Her bir plakta böyle üreyen 1-3 koloni seçilerek bir öze yardımıyla saflaştırmak amacıyla ORSIM agar besiyerine pasajlandı ve 37 °C’de 48 saat inkübe edildi. Daha sonra her bir plaktan öze yardımı ile bir koloni alınarak Tryptone Soy Agar (TSA, LABM) plaklarına geçilerek 37 °C’de 18-24 süre ile inkübe edildi. Şüpheli izolatların fenotipik ve genotipik doğrulanması ve metisiline direnç durumlarının belirlenmesi için analizler gerçekleştirilinceye kadar TSA yatık agar içinde 4 °C’de muhafaza edildi.



Resim 2. ORSIM agar besiyerinde gelişen MRSA şüpheli kolonilerin görünümü (Yöntem A)

4.2.1.2.2. Yöntem B ile MRSA tespiti

Her bir örneğe ait ön zenginleştirme sıvısından aseptik koşullarda steril pipet yardımıyla 1ml alınarak 3.5mg/L cefoxitin (Sigma) ve 50mg/L aztreonam (Sigma) içeren 9 ml Tryptone Soya Broth (TSB, LABM) tüplerine aktarıldı ve 37 °C’de 18-24 saat inkübe edildi (selektif zenginleştirme) (65). İnkübasyon sonrası her bir tüpten bir öze dolusu alınarak Oxacillin Resistant Staphylococci Isolation Medium Agar (ORSIM, LABM) besiyerinin bulunduğu plaklara sürme yöntemi ile ekim yapılarak 37 °C’de 24-48 saat inkübe edildi (Resim 3). Diğer aşamalar Yöntem A’da belirtildiği şekilde gerçekleştirilerek tamamlandı.

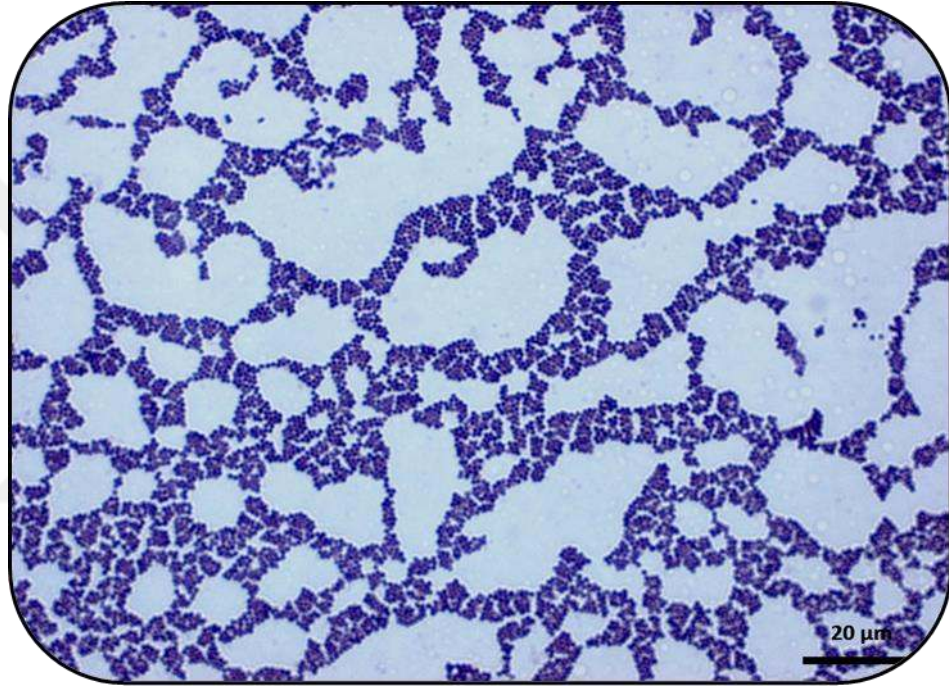


Resim 3. ORSIM agar besiyerinde gelişen MRSA şüpheli kolonilerin görünümü (Yöntem B)

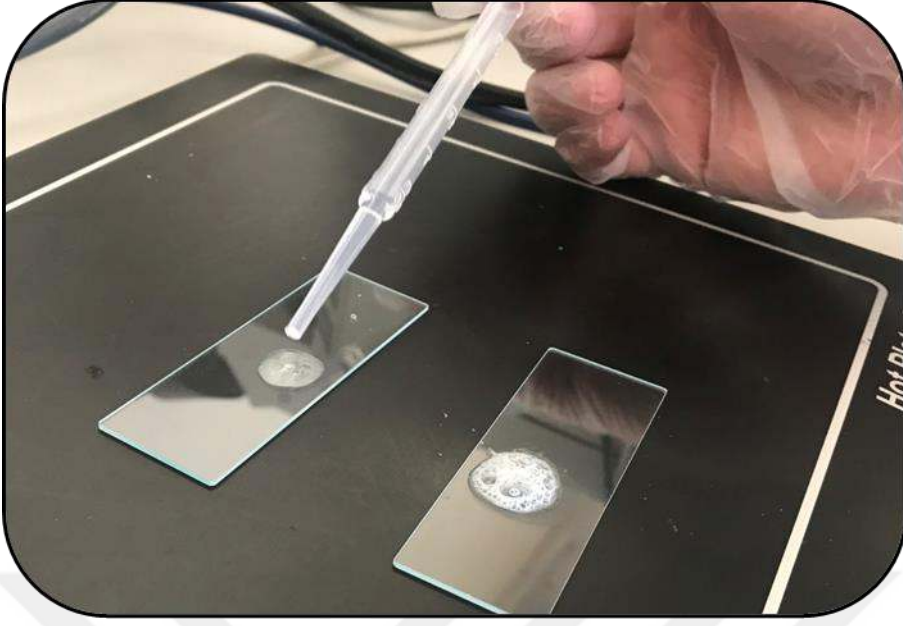
4.2.1.3. İzolatların tanımlanması

Gram boyama, katalaz ve lateks aglütinasyon testinde (microgenstaph, Microgen) pozitif sonuç veren izolatlar *S. aureus* olarak kabul edildi (Resim 4, 5, 6).

Daha sonra izolatlar Vitek II (BioMerieux, France) bakteriyel identifikasyon sistemi kullanılarak doğrulandı. Vitek II ile doğrulama için her bir izolat TSA agarda 37 °C sıcaklıkta 18-24 saat inkübe edildikten sonra bu besiyerinde üreyen birkaç koloni alınarak steril fizyolojik tuzlu su içeren tüplerde Densicheck plus (BioMerieux) cihazı kullanılarak Mcfarland konsantrasyonu ayarlandı. Mcfarland konsantrasyonu ayarlanan tüplerden Vitek Gram pozitif bakteri kartları kullanılarak üretici firmanın direktifleri doğrultusunda gerçekleştirildi (BioMerieux).



Resim 4. *S. aureus* şüpheli izolatların Gram boyama sonrası mikroskop altında görünümü



Resim 5. *S. aureus* şüpheli izolatların katalaz testi ile doğrulanması



Resim 6. Lateks aglütinasyon testi ile *S. aureus* şüpheli izolatların doğrulanması

4.2.1.3.1. Koagülaz deneyi

S. aureus olarak tanımlanan izolatlarda koagülaz enziminin (stafilokoagulase) varlığı tüpte koagülaz testi ile belirlendi. 0,3 ml EDTA'lı tavşan plazmasının (Bactident Coagulase, Merck) bulunduğu tüplere 0,1 ml Brain Heart Infusion Broth besiyerinde üretilen kültürden bırakılarak plazmada iyi bir şekilde karışması sağlandı ve 37 °C'lik su banyosuna koyularak 1, 2, 4, 8 ve 24. saatlerde pıhtı oluşumu kontrol edildi. Pıhtılaşma durumu tüpe hafifçe vurularak belirlendi. Pıhtı oluşumunun belirlendiği izolatlar koagülaz pozitif olarak değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak *S. aureus* ATCC 25923, negatif kontrol olarak *S. epidermidis* ATCC 12228 kullanıldı (11).

4.2.1.4. *Staphylococcus aureus* izolatlarında metisilin direncinin belirlenmesi

S. aureus olarak identifiye edilen izolatlarda metisilin direnci disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlendi. Herbir izolattan Müeller Hinton Agar (MHA, LABM) besiyerine ekim yapılarak elde edilen taze kültürden alınan koloniler Tryptone Soy Broth (TSB, LABM)'da süspanse edildi. Bakteri süspanasyonu, dansitometre (Densichek plus, Biomerieux) cihazı kullanılarak 0,5 McFarland bulanıklık standardına göre ayarlandıktan sonra inokulum steril eküvyon ile yüzeyi kurutulmuş MHA plaklarına üç yönde sürülerek eşit dağılacak şekilde yayıldı. Bunu takiben oda sıcaklığına getirilen 30 µg sefoksitin diski (Oxoid, England) besiyeri üzerine inoküle edilen kültürün üzerine konularak 35±1 °C'de 18±2 saat bekletildi (EUCAST, 2019). EUCAST tarafından önerilen direnç sınır değerlerine göre inhibisyon zon çapı < 22 milimetre olan izolatlar MRSA, ≥ 22 milimetre olan izolatlar ise MSSA olarak değerlendirildi (EUCAST, 2019). Pozitif kontrol olarak *S. aureus* ATCC 43300, negatif kontrol olarak *S. aureus* ATCC 29213 kullanıldı.

4.2.1.5. *Staphylococcus aureus* izolatlarında *nuc* ve *mecA* genlerinin PCR ile belirlenmesi

4.2.1.5.1. DNA ekstraksiyonu

S. aureus olarak belirlenen tüm izolatlarda DNA ekstraksiyonu kaynatma metodu ile gerçekleştirildi. Kısaca her bir izolat TSA besiyerine ekilerek 37 °C'de

18-24 saat inkübe edildi. Elde edilen taze kültürden birkaç koloni steril öze ile alınarak 200 µl steril su bulunan 1,5ml'lik DNase-RNase free eppendorf tüplerine aktarıldı. Vorteks ile iyice karıştırılan süspansiyon kuru blok ısıtıcılarında 95 °C'de 15 dakika bekletildi. Bu işlemi takiben eppendorf tüpleri kuru blok ısıtıcılarından alınarak birkaç saniye vortekslelendikten hemen sonra 13.500 rpm'de 1 dakika santrifüje edildi. Santrifüj sonrası elde edilen supernatant steril eppendorf tüplerine aktarılarak PCR işleminde hedef DNA olarak kullanılıncaya kadar -20 °C'de bekletildi.

4.2.1.5.2. PCR aşaması

Bu çalışmada *S. aureus* olarak belirlenen izolatlarda *nuc* ve *mecA* gen varlığı tek bir polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile araştırıldı. Bu amaçla *nuc* geni için 270 bp ve *mecA* geni için 533 bp'lik fragmentleri amplifiye eden primerler kullanıldı (Sentromer, Türkiye) (Tablo 3). Toplam 50 µl'lik hacimde hazırlanan PCR reaksiyon içeriği; 6µl 10 x PCR buffer, 9µl MgCl₂, 9µl dNTP karışımı, 1.0 U Taq DNA Polymerase enzimi, 1'er µl olacak şekilde 10 pmol'lük *nucF-nucR* ve *mecAF-mecAR* primerleri ile 5µl hedef DNA ve 17µl distile sudan oluştu. PCR karışımını içeren 0,2ml'lik DNase-RNase free PCR tüpleri PCR (ABI Veriti Thermal Cyclers, Singapore) cihazına yerleştirildi.

Tablo 2. Et örneklerinde MSSA ve MRSA analiz akış diyagramı

Hedef bakteri	Uygulanan işlem basamakları
Metisiline duyarlı <i>S. aureus</i> tespiti (MSSA)	Ön zenginleştirme: 25g örnek+%6,5 NaCl içeren 225ml Mueller Hinton Broth, 37 °C’de 18-24 saat inkübasyon Katı besiyerine ekim: Ön zenginleştirme sıvısından bir öze dolusu alınarak egg yolk emülsiyon ile potasyum tellurit ilave edilmiş BPA besiyerine ekim, 37 °C’de 24-48 saat inkübasyon <i>S. aureus</i> şüpheli koloniler: BPA besiyerinde üreme gösteren gri-siyah renkli, parlak, 1-3 mm çapında, lesitinaz halkası oluşturan 1-3 koloninin seçilmesi Şüpheli kolonilerin <i>S. aureus</i> olarak tanımlanması: Gram boyama, katalaz testi, latex slide aglütinasyon testi sonrası Vitek cihazında doğrulama. Tüpte koagülaz testi: <i>S. aureus</i> olarak belirlenen izolatların EDTA (Bactident Coagulase, Merck)’lı tavşan plazmasından koagülaz oluşturma durumunun belirlenmesi <i>S. aureus</i> olarak belirlenen izolatlarda metisilin duyarlılığı: EUCAST (2019) direnç sınır değerlerine göre sefoksitin(30ug) inhibisyon zon çapı ≥ 22 milimetre olan izolatlar PCR ile <i>nuc</i> ve <i>mecA</i> varlığının belirlenmesi
Metisiline dirençli <i>S. aureus</i> tespiti (MRSA, Yöntem A)	Katı besiyerine ekim: Ön zenginleştirme sıvısından bir öze dolusu alınarak 2 µg/ml oxacillin ile 50 units/ml polymyxin B içeren Oxacillin Resistant Staphylococci Isolation Medium Agar (ORSIM, LABM) besiyerine ekim, 37 °C’de 24-48 saat inkübasyon MRSA şüpheli koloniler: ORSIM agar besiyerinde mavi renkli üreme gösteren 1-3 koloninin seçilmesi Şüpheli kolonilerin <i>S. aureus</i> olarak tanımlanması: Gram boyama, katalaz testi, latex slide aglütinasyon testi sonrası Vitek cihazında doğrulama. <i>S. aureus</i> olarak belirlenen izolatlarda metisilin duyarlılığı: EUCAST (2019) direnç sınır değerlerine göre sefoksitin(30ug) inhibisyon zon çapı < 22 milimetre olan izolatlar MRSA, inhibisyon zon çapı ≥ 22 milimetre olan izolatlar MSSA. PCR ile <i>nuc</i> ve <i>mecA</i> varlığının belirlenmesi
Metisiline dirençli <i>S. aureus</i> tespiti (MRSA, Yöntem B)	Selektif zenginleştirme: Ön zenginleştirme sıvısından 1ml alınarak 3.5mg/L cefoxitin (Oxoid) ve 50mg/L aztreonam (Oxoid) içeren 9ml Tryptone Soya broth (TSB, LABM) tüplerine transfer etme ve 37°C’de 18-24 saat inkübasyon, Katı besiyerine ekim: Selektif zenginleştirme sıvısından bir öze dolusu alınarak 2 µg/ml oxacillin ile 50 units/ml polymyxin B içeren Oxacillin Resistant Staphylococci Isolation Medium Agar (ORSIM, LABM) besiyerine ekim, 37 °C’de 24-48 saat inkübasyon, <i>S. aureus</i> şüpheli koloniler: ORSIM agar besiyerinde mavi renkli üreme gösteren 1-3 koloninin seçilmesi Şüpheli kolonilerin <i>S. aureus</i> olarak tanımlanması: Gram boyama, katalaz testi, latex slide aglütinasyon testi sonrası Vitek cihazında doğrulama, <i>S. aureus</i> olarak belirlenen izolatlarda metisilin duyarlılığı: EUCAST (2019) direnç sınır değerlerine göre sefoksitin(30ug) inhibisyon zon çapı < 22 milimetre olan izolatlar MRSA, inhibisyon zon çapı ≥ 22 milimetre olan izolatlar MSSA, PCR ile <i>nuc</i> ve <i>mecA</i> varlığının belirlenmesi

PCR amplifikasyonu; 94°C’de 1 dakika ön denatürasyon aşamasını takiben, toplam 30 PCR siklusu 94°C’de 1 dakika denaturasyon yapıldı. 55°C’de 1 dakika hibridizasyon işlemi uygulandı. 72°C’de 1 dakika uzama ve 1 PCR siklusu uygulandı. 72°C’de 5 dakika son uzama olacak şekilde gerçekleştirildi (68).

Tablo 3. *S. aureus* izolatlarında *nuc* ve *mecA* gen varlığının belirlenmesinde kullanılan primerlerin dizilimi

Gen	Oligonucleotid sekansı (5'-3')	Uzunluk	Kaynak
<i>nuc-F</i>	GCG ATT GAT GGT GAT ACG GTT	270 bp	Brakstad ve ark. (1992) (69)
<i>nuc-R</i>	AGC CAA GCC TTG ACG AAC TAA AGC		
<i>mecA-F</i>	AAA ATC GAT GGT AAA GGT TGG C	533 bp	Murakami ve ark. (1991) (70)
<i>mecA-R</i>	AGT TCT GCA GTA CCG GAT TTG C		

PCR sonucunda elde edilen amplifikasyon ürünleri SafeView (ABM, Canada) DNA boyası içeren %1,5’luk agaroz jelde 100 voltluk akımda elektroforezde yürütüldü. Bunu müteakip oluşan bantlar 100 bp’lik DNA ladder (Thermo Fisher Scientific) ile 312 nm’lik dalga boyunda UV transilüminatörde (Spectroline, Model TC-312 E/F) görüntülenerek karşılaştırıldı. PCR aşamasının optimizasyonu ve gerçekleştirilmesinde MRSA 27R suşu pozitif kontrol olarak kullanıldı (69, 70).

4.2.1.6. İstatiksel analiz

Tavuk, hindi, ördek ve dana kıyma örnekleri ile MSSA, KPS ve MRSA varlığı arasındaki farklılıkların istatistiksel açıdan önemli olup olmadığı ki-kare (χ^2) testi ile araştırıldı. Tanıtıcı istatistik olarak frekans ve yüzde değerleri verilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS (version 24) paket programı kullanıldı.

5. BULGULAR

5.1. Metisiline Duyarlı *S. aureus*'un Kültür Yöntemi ile Tanımlanması

Bu çalışmada, orijinal ambalajı içinde satışa sunulan tavuk kalçalı but (n: 25), tavuk göğüs (n: 25), tavuk kanat (n: 25), tavuk baget (n: 25), hindi bonfile (n:30), hindi kuşbaşı (n:30), hindi kapama (n:40), vakumlu dana kıyma (50) ve donmuş ördek karkas (n: 25) ile kasaplardan toplanan dana kıyma (n:50) olmak üzere toplam 325 et örneğinde metot kısmında belirtildiği gibi analizleri gerçekleştirildi.

Analiz bulguları sonucunda 325 et örneğinin 186(%57,2)'sının *S. aureus* ile kontamine olduğu belirlendi. Tavuk (n:100), hindi (n:100), kıyma (n:100) ve ördek (n:25) örneklerindeki *S. aureus* varlığı sırasıyla %46, %53, %75 ve %48 olarak saptandı. Dana kıyma ile tavuk, hindi ve ördek etleri arasındaki *S. aureus* prevalansının istatistiksel açıdan önemli olduğu bulundu ($P<0,05$) (Tablo 4).

186 örnekten elde edilen 219 *S. aureus* izolatında gerçekleştirilen koagülaz testi sonucunda 108(%33,2)'inin koagülaz pozitif *S. aureus* (KPS) olduğu tespit edildi. Bu izolatların et türlerine göre dağılımına bakıldığında tavuk, hindi, ördek ve dana kıyma örneklerinin %24, %19, %12 ve %62'sinin KPS ile kontamine olduğu saptandı. Dana kıyma ile tavuk, hindi ve ördek etleri arasında KPS prevalansının istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlendi ($P<0,05$) (Tablo 4).

S. aureus olarak doğrulanan 219 izolatla metisiline direnç durumu 30µg sefoksitin diski kullanılarak saptandı. EUCAST tarafından belirlenen direnç sınır değerlerine göre izolatların tamamında (%100) inhibisyon zon çapının ≥ 22 mm olduğu ve bu kapsamda izolatların tamamının (%100) MSSA olduğu belirlendi (Tablo 4).

5.2. Metisiline Dirençli *S. aureus*'un Kültür Yöntemi ile Tanımlanması

Bu çalışmada Yöntem A'ya göre örneklerdeki MRSA varlığı; ön zenginleştirme sıvısından bir öze dolusu alınarak ORSIM agara ekim sonrası bu besiyerinde üreme gösteren mavi renkli kolonilerin *S. aureus* olarak tanımlanması ve EUCAST (2019) direnç sınır değerlerine göre sefoksitin (30ug) inhibisyon zon çapına göre metisilin

direncinin belirlenmesi şeklinde gerçekleştirildi. Yöntem A ile analiz edilen 100 tavuk örneğinin 24 (%24)'ünden, 100 kıyma örneğinin 45 (%45)'inden, 100 hindi örneğinin 16 (%16)'sından ve 25 ördek örneğinin 4 (%16)'ünden olmak üzere toplam 118 MRSA şüpheli izolat elde edildi. Gram boyama, katalaz, latex aglütinasyon ve Vitek analiz sonuçlarına göre 118 izolatın hiçbirinin *S. aureus* olmadığı belirlendi (Tablo 4).

Yöntem B'ye göre örneklerdeki MRSA varlığı; ön zenginleştirme, selektif zenginleştirme (3.5mg/L cefoxitin (Oxoid) ve 50mg/L aztreonam içeren 9ml TSB tüplerinde), katı besiyerine ekim (ORSIM agar), mavi renkli üreyen kolonilerin *S. aureus* olarak tanımlanması ve bunu takiben EUCAST (2019) direnç sınır değerlerine göre sefoksitin (30ug) inhibisyon zon çapına göre metisilin direncinin belirlenmesi şeklinde gerçekleştirildi. Yöntem B ile analiz edilen 100 tavuk örneğinin 17(%17)'sinden, 100 kıyma örneğinin 42(%42)'sinden, 100 hindi örneğinin 12(%12)'sinden ve 25 ördek örneğinin 2(%8)'sinden olmak üzere toplam 73 MRSA şüpheli izolat elde edildi (Tablo 4). Bu izolatlarda gerçekleştirilen Gram boyama, katalaz, latex aglütinasyon ve Vitek analiz sonuçlarına göre 3 farklı kıyma örneğinden elde edilen 3 tane izolat ile 1 hindi kuşbaşı örneğinden elde edilen 1 tane izolatın *S. aureus* olduğu tespit edildi. Bu 4 izolatın metisilin direnci sefoksitin diskleri kullanılarak disk diffüzyon yöntemine göre doğrulandı. EUCAST tarafından önerilen direnç sınır değerlerine göre bu 4 izolatın tamamında (%100) sefoksitin (30ug) inhibisyon zon çapının < 22 mm olduğu bulundu.

5.3. MSSA ve MRSA İzolatlarında *nuc* ve *mecA* Gen Varlığı

Bu çalışmada sadece *nuc* geni taşıyan izolatlar *S. aureus*, hem *nuc* hem de *mecA* geni taşıyan izolatlar ise Metisiline dirençli *S. aureus* olarak kabul edildi. MSSA olarak tanımlanan 219 izolatın tamamının (%100) *nuc* geni taşıdığı ancak hiçbirinin *mecA* geni taşımadığı belirlendi. Yöntem A'ya göre analizleri gerçekleştirilen örneklerden izole edilen MRSA şüpheli 118 izolatın tamamında (%100) *mecA* geni tespit edilirken hiçbirinin *nuc* geni taşımadığı tespit edildi. Yöntem B'ye göre analizleri gerçekleştirilen örneklerden MRSA şüpheli olarak kabul edilen 73 izolatın 4(%5,4)'ünün hem *nuc* hem de *mecA* genlerini taşıdığı, geriye kalan 69(%94,5)

izolatın ise yalnız *mecA* geni taşıdığı ancak *nuc* geni taşımadığı belirlendi. Hem *nuc* hem de *mecA* genlerini bulunduran 4 MRSA izolatının 1 tanesinin hindi kuşbaşı, 2 tanesinin dana kıyma (kasap) ve 1 tanesinin vakumlu dana kıyma örneklerine ait olduğu saptandı (Tablo 4).



Tablo 4. Et örneklerinden izole edilen MSSA ve MRSA şüpheli izolatlarda *nuc* ve *mecA* genlerinin dağılımı (N:325)

Örnek türü	Örnek Sayısı (n)	MSSA					MRSA							
		PÖS (%)	İzolot Sayısı	KPS- PÖS(%)	<i>nuc</i>	<i>mecA</i>	Yöntem A				Yöntem B			
							PÖS(%)	İzolot Sayısı	<i>nuc</i>	<i>mecA</i>	PÖS (%)	İzolot Sayısı	<i>nuc</i>	<i>mecA</i>
Tavuk göğüs	25	17(68)	18	7	18	-	-	8	-	8	-	4	-	4
Tavuk bagnet	25	9(36)	10	4	10	-	-	7	-	7	-	5	-	5
Tavuk kalçalı but	25	12(48)	13	5	13	-	-	6	-	6	-	4	-	4
Tavuk kanat	25	8(32)	11	8	11	-	-	3	-	3	-	4	-	4
TAVUK	100	46(46)^{A*}	52	24(24)^{A*}				24		24		17		17
Hindi bonfile	30	19(63,3)	22	7	22	-	-	2	-	2	-	6	-	6
Hindi kuşbaşı	30	11(57,8)	14	4	14	-	-	6	-	6	1(3,3)	4	1	4
Hindi kapama	40	23(57,5)	24	8	24	-	-	8	-	8	-	2	-	2
HİNDİ	100	53(53)^{A*}	60	19(19)^{A*}				16		16		12	1	12
Ördek karkas (gövde)	25	12(48)	13	3	13	-	-	4	-	4	-	2	-	2
ÖRDEK	25	12(48)^{A*}	13	3(12)^{A*}				4		4		2		2
Dana Kıyma (vakumlu)	50	33(66)	44	18	44	-	-	39	-	39	1(2)	19	1	19
Dana Kıyma (kasap)	50	42(84)	50	44	51	-	-	35	-	35	2(4)	23	2	23
KIYMA	100	75(75)^{B*}	95	62(62)^{B*}				74		74		42	4	42
Toplam	325	186(57,2)	219	108(33,2)	219	-	-	118	-	118	4(1,2)	73	4	73

MSSA: Metisiline duyarlı *S. aureus*MRSA: Metisiline dirençli *S. aureus*

PÖS: Pozitif örnek sayısı

KPS-PÖS: Kogulaz pozitif *S. aureus* örnek sayısı

A,B*: Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen harfler istatistiksel açıdan birbirinden farklıdır (P<0,05).

6. TARTIŞMA

Hızla globalleşen günümüz dünyasında 1961 yılında dünyada kişi başı et tüketimi 23,1 kg iken 2011 yılı itibariyle yaklaşık iki katına çıkarak 42,2 kg'a ulaşmıştır (1). Birleşmiş Milletler tarafından yayınlanan bir raporda 2017 yılı itibari ile 7,6 milyar olarak tahmin edilen dünya nüfusunun 2050 yılında 9,8 milyara ulaşacağı öngörülmektedir (UNDP, 2015). Bu da insan beslenmesinde önemli bir protein kaynağı olan et ihtiyacının global düzeyde nüfus artışına paralel bir şekilde artacağını göstermektedir (2). Geçmişte kırmızı et (sığır) tüketiminin ön planda olduğu dünyada son 20 yılda kanatlı eti başta olmak üzere domuz eti üretimi ve tüketim oranlarında önemli artışların olduğu görülmektedir (1). İnsanoğlunun direk veya indirek (hayvansal kaynaklı gıdalar aracılığıyla) bir şekilde hayvanlarla ve çevre ile etkileşim halinde olması mikrobiyal risklere maruz kalmasını kaçınılmaz hale getirmektedir. Son yıllarda hastane, toplum veya hayvansal kaynaklı *S. aureus* izolatlarındaki antibiyotiklere karşı çoklu direnç gelişimindeki hızlı artış bu bakterinin daha yakından takip edilmesini zorunlu hale getirmiştir. Hem konak spesifik hem de insan ve hayvanlarda enfeksiyöz birçok hastalıktan sorumlu olan *S. aureus* aynı zamanda dünyada en çok gıda tüketimi ile ilişkili salgınlara neden olan patojenler arasında gösterilmektedir (3, 4).

Bu kapsamda bu çalışmada analiz edilen toplam 325 et örneğinin 186(%57,2)'sının *S. aureus* ile kontamine olduğu belirlendi. Çalışma bulgularımıza benzer şekilde Gündoğan ve ark. (2005) analiz ettikleri 60 tavuk karkas ve 60 dana kıyma örneğindeki *S. aureus* varlığını sırasıyla %43 ve %57 düzeyinde, Koluman ve ark. (2011) inceledikleri 50 tavuk, 50 hindi ve 50 sığır kıyma örneğindeki *S. aureus* varlığını %48, %42, %58 düzeyinde tespit ettiklerini bildirmişlerdir (71, 72). Ogata ve ark. (2012) 73 tavuk eti örneğinin %25'inden, 55 dana eti örneğinin %7'sinden ve 2 ördek eti örneğinin %100'ünden, Özdemir ve Keyvan (2016) 75 sığır et örneğinin %14,6'sında ve 75 tavuk et örneğinin %45,3'ünde *S. aureus* tespit etmiştir (73, 74). Bhargava ve ark. (2011) 156 sığır, 76 tavuk, 57 hindi örneğinin sırasıyla %20,5, %25, %24,5 ve numunelerin toplamında %22,5 (n:289)'inde *S. aureus* tespit ettiklerini bildirmiştir (75). Bu araştırmacıların bildirdikleri sonuçlar çalışma bulgularımızdan daha düşüktür. Gıda maddelerinin *S. aureus* ile kontaminasyonu

direk hammadden kaynaklı olabileceği gibi gıda çalışanlarından veya toprak, su, toz ve hava gibi çevresel kaynaklı nedenlerden olabilmektedir. Et örneklerinde *S. aureus* varlığının tespiti için kullanılan analiz yöntemlerinin de araştırma sonuçları arasında farklılıklar açısından önemli olduğu düşünülmektedir. Kitai ve ark. (2005) perakende olarak satışa sunulan 444 tavuk eti örneğinde *S. aureus* varlığını direk katı besiyerine (BPA) ekim ve zenginleştirme işlemi sonrası (%7 NaCl içeren Brain Heart Infusion Broth) katı besiyerine (BPA) ekim olmak üzere iki farklı yöntem ile araştırdıkları çalışmalarında direk yöntem ile örneklerin 180 (%40,5)'inden, zenginleştirme yöntemi ile ise örneklerin 292 (%65,1)'si gibi çok daha yüksek bir oranda *S. aureus* belirlediklerini bildirmiştir (76). Benzer şekilde bu çalışmada da *S. aureus* varlığı %6,5 NaCl içeren MHB besiyerinde zenginleştirme işlemi uygulandıktan sonra BPA katı besiyeri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada *S. aureus*'un belirlendiği 186 et örneğinden toplam 219 *S. aureus* izolatu elde edildi. Disk diffüzyon sonucu bu izolatların tamamının sefoksitin antibiyotigine duyarlı olduğu tespit edildi ve bu izolatlar MSSA olarak tanımlandı. Et türüne göre MSSA prevalansı %75 oranla en fazla dana kıyma etinde tespit edilirken bunu sırasıyla %53 ile hindi, %48 ile ördek ve %46 ile tavuk etlerinin takip ettiği saptandı ($P<0,05$). Sonuçlarımıza benzer şekilde Tang ve ark. (2017) analiz ettikleri toplam 145 tavuk, hindi ve domuz eti örneğinin %66'sının MSSA ile kontamine olduğunu bildirmiştir (77). Aynı çalışmada MSSA prevalansı en yüksek %75 ile tavuk etlerinde en düşük %35 ile hindi etlerinde olduğu bulunmuştur. Kwon ve ark. (2006) analiz ettikleri 930 et örneğinin 290 (%31,1)'inde MSSA tespit ettiklerini bildirmiştir (78). Thapaliya ve ark. (2017) 580 tavuk et örneğinin %25,5'inden, 870 dana et örneğinin %24,4 ve 52 hindi et örneğinin %22,9'undan MSSA tespit ettikleri araştırmalarında çalışmamızdan daha düşük düzeyde bulmuştur (79).

S. aureus, *S. intermedius* ve *S. hyicus* tarafından üretilen staphylocoagulase enzimi bu bakterilerinin patojenitelerinin belirlenmesinde indikatör olarak kullanılabilir. Özellikle koagulaz pozitif *S. aureus* (KPS)'lar gıda kaynaklı zehirlenmeler ile klinik enfeksiyonların oluşumunda önemlidir (80). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde koagulaz pozitif *S. aureus* düzeylerinin gıda maddelerinde bulunmasına izin verilen maksimum sınır değerler belirtilmiştir. Ancak ilgili yönetmelikte çiğ etlerde kabul edilebilir maksimum KPS

sayısı ile ilgili herhangi bir sınır değeri bulunmamaktadır. 186 et örneğinden elde edilen 219 *S. aureus* izolatının koagulaz testi sonucuna göre tavuk, hindi, ördek ve dana eti örneklerinin %24, %19, %12 ve %62'sinin toplamda analiz edilen 325 et örneğinin %33'sinin KPS ile kontamine olduğu saptandı. Literatürde et türlerinin farklı oranlarda KPS ile kontamine olabileceği bildirilmiştir. Normanno ve ark. (2007) analiz ettikleri 1 316 taze et örneğinin 344 (%26,1)'ünden ve 1.639 kıyma/hamburger et örneğinin 512 (%31,2)'sinden, Özdemir ve Keyvan (2016) 75 dana eti örneğinin 13 (%17,3)'ünden, 75 koyun eti örneğinin 26 (%34,6)'sından ve 75 tavuk eti örneğinin 41 (%54,6)'inden KPS tespit etmişlerdir (74, 81).

Günümüzde MRSA patojeni antibiyotiklere çoklu direnç gelişiminden dolayı hastane kaynaklı enfeksiyonlarının yanı sıra halk sağlığı, hayvan sağlığı ve gıda güvenliği açısından önemsenmesi gereken patojenler arasında gösterilmektedir. Bu çalışmada tavuk, hindi, ördek ve dana kıyma örneklerinde MRSA patojenin varlığı A ve B olmak üzere iki farklı kültür yöntemi kullanılarak tespit edilmeye çalışıldı. Kültür ve PCR (*nuc* ve *mecA* genleri için) sonuçlarına göre Yöntem A ile elde edilen 118 izolatın hiçbirinin *S. aureus* olmadığı ancak tamamının *mecA* geni taşıdığı, Yöntem B ile elde edilen 73 izolatın ise 4'ünün *S. aureus* olduğu, *nuc* ve *mecA* genlerini taşıdığı ve sefoksitin antibiyotiğine dirençli olduğu belirlendi. Termonükleaz enzimini kodlayan *nuc* geni *S. aureus*'u diğer *Staphylococcus* türlerinden ayırımında marker gen olarak kullanılmaktadır (52). Asya, Avrupa, Kanada, ABD ve dünyanın diğer birçok bölgesinde tüketici seviyesinde satışa sunulan etlerde gerçekleştirilen çalışmalarda çoğunlukla MRSA varlığı <%1'den %11,9'e kadar değişen oranlarda bildirilmekle beraber bu oranın %35'lere kadar çıktığı çalışmaların olduğu da literatürde bildirilmiştir (52, 61, 76, 78, 81-85). Bu çalışmada analiz edilen tavuk, hindi, ördek ve dana kıyma örneklerinin sırasıyla %0, %1, %0 ve %3'ünden toplam 325 et örneğinin %1,2'sinden MRSA tespit edildi. Çalışma bulgularımıza benzer şekilde Jackson ve ark. (2013) ABD'de analiz ettikleri 100 sığır eti ve 100 domuz etinin sırasıyla 4(%4) ve 3(%3)'ünden, Kitai ve ark. (2005) Japonya'da süpermarketlerden toplanan 444 tavuk etinin 2 (%0,5)'sinden, Kwon ve ark. (2006) Güney Kore'de analiz ettikleri 930 tavuk, sığır ve domuz etinin sadece 2(%0,2)'sinden (tavuk eti) MRSA tespit ettiklerini bildirmişlerdir (76, 78, 86). Boer ve ark. (2009) Hollanda'da gerçekleştirdikleri bir araştırmada sığır, dana,

tavuk ve hindi etlerinin %10,6, %15,2, %16,0 ve %35,3'ünden MRSA tespit etmiştir (82). Fessler ve ark. (2011) Almanya'da gerçekleştirdikleri bir çalışmada 24 taze tavuk etinin 6(%25)'sından, 19 tavuk eti ürününün 4(%21,1)'ünden, 22 taze hindi etinin 11(%50)'inden ve 21 hindi eti ürününün 11(%52,4)'inden olmak üzere toplam 86 kanatlı örneğinin %37,2'sinden MRSA tespit ettiklerini bildirmiştir (87). 2010-2011 yılları arasında ABD'de sekiz farklı eyaletten toplanan sığır, tavuk ve domuz etinden oluşan toplam 3 520 et örneğinin incelendiği bir araştırmada örneklerin %1,9'unun MRSA ile kontamine olduğu ve et türlerine göre MRSA prevalansının en yüksek %3,5 ile hindi etlerinde, en düşük ise %0,3 ile tavuk etlerinde olduğu bulunmuştur (88). Yine aynı çalışmada sığır ve domuz etlerindeki MRSA prevalansı %1,7 ve %1,9 olarak bildirilmiştir (52). Hayvansal orijinli gıdalarda MRSA tespiti için %6,5 NaCl içeren sıvı besiyerinde (MHB veya TSB gibi) zenginleştirme basamağının uygulanmasının MRSA'nın belirlenmesini olumlu yönde etkilediği bildirilmektedir (64, 87, 88). Tang ve ark. (2017) farklı et örneklerinde MRSA varlığını araştırdıkları çalışmalarında direk besiyerine ekim yöntemiyle 145 örneğin 3 (%2,1)'ünde, zenginleştirme işleminin uygulandığı aynı örneklerde ise 19 (%13)'undan MRSA tespit ettiklerini bildirmiştir (89). Çalışmamızda %6,5 NaCl içeren MHB besiyerinde zenginleştirme işleminin uygulandığı (yöntem A) et örneklerinin hiçbirinden MRSA tespit edilemedi. Bu durum diğer araştırmacıların aksine çalışmamızda zenginleştirme sonrası katı besiyeri olarak ORSIM agarın kullanılmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir (77, 90). Literatür de MRSA tespitinde ORSIM agar besiyerinin kullanıldığı araştırmalar (91, 92) mevcut olmakla beraber CHROMagar MRSA, Brilliance MRSA 2 Agar, chromID MRSA gibi besiyerlerinin daha sıklıkla kullanıldığı ve bazı uluslararası kurumlar tarafından önerildiği görülmektedir (85, 86). EURL-AR ve EFSA tarafından domuz, sığır ve tavuk gibi çiftlik hayvanları ile ilişkili kaynaklardan toplanan örneklerde MRSA (LA-MRSA)'nın tespitinde 2-S metodu olarakta bilinen ardarda iki farklı zenginleştirme aşamasının uygulanması önerilmektedir (93, 94). Kısaca bu yöntemde, örneklerin %6,5 NaCl içeren MHB'de zenginleştirme işlemi sonrası 3,5mg/L cefoxitin ve 50mg/L aztreonam içeren ikinci bir sıvı besiyerinde (TSB gibi) zenginleştirme (selektif) işleminin uygulanması, sonrasında kromojenik katı besiyerine ekim (Brilliance MRSA 2 agar gibi), üreyen şüpheli kolonilerin doğrulanması (PCR ile) ve

moleküler tiplendirme aşamalarını kapsar. Bu çalışmada et örneklerinde MRSA tespitinde EURL-AR ve EFSA tarafından önerildiği gibi ikinci bir zenginleştirme basamağı kullanılarak (yöntem B) toplam 4 izolat MRSA olarak belirlendi. Yöntem A ile karşılaştırıldığında ikinci bir zenginleştirme basamağının kullanılmasının MRSA tespitinde ortamın seçiciliğini arttırdığını göstermektedir. Çalışmamıza benzer şekilde Fang ve Hedin (2006) referans laboratuvar suşları, klinik izolatlar ve klinik materyallerde gerçekleştirdikleri bir araştırmada sefoksitin içeren broth besiyerlerinin kullanılmasının bu patojenin hızlı ve duyarlı bir şekilde tespitine imkan verdiğini bildirmiştir (64). Ancak Pauly ve ark. (2019) 3,5mg/L cefoxitin ve 50mg/L aztreonam içeren bir sıvı besiyerinde zenginleştirme (selektif) işleminin MRSA gelişimini engelleyerek sahte negatif sonuçlara neden olabileceğini bildirmiştir (95). Bilimsel literatür incelendiğinde klinik, çevre, hayvan ve gıda maddelerinden MRSA tespit edilmesinde kullanılan kültür yöntemleri ile ilgili tam bir konsensusun olmadığı dikkatleri çekmektedir (77, 94, 95).

Bu çalışmada *S. aureus* olarak tanımlanan izolatlarda metisilin direnci (MRSA) sefoksitin disk diffüzyon yöntemi ile belirlendi ve izolatların sadece 4(%4)'ünün sefoksitine dirençli olduğu bulundu. Ayrıca bu dört izolatın tamamının *mecA* geni taşıdığı saptandı. *S. aureus* izolatlarında metisilin direncinin belirlenmesinde sefoksitin disk difüzyon (SDD) yönteminin duyarlılığının %98-100, özgüllüğünün ise %99-100 oranları arasında olduğu bildirilmektedir (96).

Birçok araştırma MRSA izolatlarının tespiti ve doğrulanmasında sadece *mecA* gen varlığının tespitinin yeterli olmadığını fenotipik sefoksitin direncinin (disk diffüzyon gibi) de belirlenmesinin önemli olduğunu bildirmiştir (97-101). Quddooumi ve ark. (2006), 157 izolatın 30 (%19,1)'unu fenotipik olarak metisiline dirençli olduğunu ve bu izolatların 15'inin *mecA* genini taşıdığını bildirmiştir (102). Aynı çalışmada *mecA* geninin tespit edildiği izolatların koyun ve kanatlı eti örneklerinden elde edilen izolatlar olduğu bulunmuştur.

7. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında analiz edilen örneklerin halk sağlığı ve gıda güvenliği açısından önemli metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) ile metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA)'lar ile kontamine olabileceği belirlenmiştir. Et ürünün hangi hayvandan elde edildiğine bakılmaksızın çiftlikten çatala gıda güvenliği kapsamında HACCP ve ISO 22000 gibi uluslararası kabul edilen sistemlerin etkin bir şekilde uygulanmasının böyle gıda maddelerinden kaynaklanabilecek *S. aureus* ile ilişkili hastalık durumlarının önlenmesi, kontrol altına alınması veya elimine edilmesinde önemli olacaktır. Hindi ve kıyma örneklerinden çok az oranda dahi olsa MRSA patojeninin tespit edilmiş olması çocuk, yaşlı, gebe ve immün sistemi baskılanmış gibi bireyler açısından ciddi bir tehlike oluşturabileceği göz ardı edilmemelidir. Büyüyen bir tehdit olarak kabul edilen ve çoklu ilaç direncinden dolayı birçok insanın ölümüne neden olabilen MRSA patojeninin çiftlik hayvanlarında ve hayvansal kaynaklı gıdalarda ulusal izleme/kontrol programları içine dahil edilmesi bulaş kaynaklarının belirlenmesi, izlenmesi ve kontrol altına alınmasında önemli olacağı düşünülmektedir.

Gıda, çevre, klinik ve hayvan materyallerinde MRSA patojeninin tespitinde kullanılan mevcut yöntemler konusunda uluslararası anlamda tam bir konsensusun sağlanamamış olması, bu alanda gelecekte yapılacak araştırmaların özellikle bu patojenin böyle materyallerden tespit edilmesinde duyarlı, seçici, etkili alternatif yöntemlerin geliştirilmesine yönelik olması gerektiği düşünülmektedir. Böylece etkenin çevre ve gıda gibi materyallerden daha güvenli ve doğru bir şekilde tespit edilmesi sağlanarak etkenin gerçek prevalansının belirlenmesinde ve coğrafik dağılımının bilinmesine katkı sağlayacaktır.

8. KAYNAKÇALAR

1. Sans P, Combris P. World meat consumption patterns: An overview of the last fifty years (1961–2011). *Meat Science*. 2015;109:106-111.
2. United Nations Department of Economic and Social Affairs. (2015). World population projected to reach 9.7 billion by 2050.
3. Schelin J, Wallin-Carlquist N, Thorup Cohn M, Lindqvist R, Barker GC. The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. *Virulence*. 2011;2(6):580-592.
4. Visciano P, Pomilio F, Tofalo R, Sacchini L, Saletti M, Tieri E, Suzzi G. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dairy cow farms. *Food Control*. 2014;46:532-538.
5. Kloos WE. Systematics and the natural history of *Staphylococci*. *Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement*. 1990;69:25-37.
6. Baird-Parker AC. The staphylococci: an introduction. In: *Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement Series 19*. D. Jones, RG Board, and M Sussman, ed. 1990;1-8.
7. Bergdoll MS. *Staphylococcus aureus*. In: Doyle MP, editor. *Foodborne Bacterial Pathogens*. 1st edition, New York City, Marcel Dekker Inc. 1989;463-523.
8. Becker K, Heilmann C, Peters G. Coagulase negative *Staphylococci*. *Clinical Microbiology Reviews*. 2014;27(4):870-926.
9. Loir LY, Baron F, Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research*. 2003;2(1):63-76.
10. Bremer PJ, Fletcher GC, Osborne C, Editors. *Staphylococcus aureus*. Christchurch, New Zealand, New Zealand Institute for Crop and Food Research Limited. 2004;29(8):640-653.

11. Koneman EW, Winn WC, Allen SD, Janda WM, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL, Editors. *Staphylococci* and related Gram-positive cocci. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th Ed., Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins Inc. 2006;624-662.
12. Jay JM, Loessnerr MJ, Golden DA. *Staphylococcal* Gastroenteritis. In: Modern Food Microbiology, Seventh Edition. California: Springer. 2005;545-566.
13. Erol İ. *Staphylococcus aureus* Enfeksiyonları. Erol İ. Editor, Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi'nde, 5. Baskı, Ankara, Pozitif Matbaacılık. 2007;135-144.
14. Kuipers A, Stapels DAC, Weerwind TL, Ko YP, Ruyken M, Lee JC, Van Kessel KPM, Rooijackers SHM. The *Staphylococcus aureus* polysaccharide capsule and Efb-dependent fibrinogen shield act in concert to protect against phagocytosis. Microbiology. 2016;162:1185-1194.
15. Drewry DT, Galbraith L, Wilkinson BJ, Wilkinson SG. *Staphylococcal* Slime: A cautionary tale. Journal of Clinical Microbiology. 1990;28(6):1292-1296.
16. Rozgony F, Seltman G. Pathogenicity and virulence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: slime layer production. Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica. 1985;32(2):155-165.
17. Ziebuhr W, Henning S, Eckart M, Kranzler H, Batzilla C, Kozitskaya S. Nosocomial infections by *Staphylococcus epidermis*: how a commensal bacterium turns into a pathogen. International Journal of Antimicrobial Agents. 2006;28(1):14-20
18. Vollmer W, Seligman SJ. Architecture of peptidoglycan: more data and more models. Trends in Microbiology. 2010;18(2):59-66.
19. Xia G, Kohler T, Peschel A. The wall teichoic acid and lipoteichoic acid polymers of *Staphylococcus aureus*. International Journal of Medical Microbiology. 2010;300(2-3):148-154.
20. Kobayashi SD, De Leo FR. *Staphylococcus aureus* Protein a promotes immune suppression. MBio. 2013;4(5):1-3.

21. Şahin R, *Staphylococcus aureus* suşlarında biyofilm üretimi, biyofilm pozitif ve negatif suşların genotipik ve fenotipik karakterlerinin karşılaştırılması. Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2007, Denizli (Danışman: Prof. Dr. İlknur KALELİ).
22. Weigelt JA, Stevens DL, Parimon T, Bryant AE. Weigel JA Editor. MRSA: Genetics, virulence factors, and toxin expression, in: MRSA. Second Edition, New York, Informa Healthcare USA, Inc. 2010;31-46.
23. McAdow M, Missiakas DM, Schneewind O. *Staphylococcus aureus* secretes coagulase and von willebrand factor binding protein to modify the coagulation cascade and establish host infections. Journal of Innate Immunity. 2012;(4):141-148.
24. Tiwari HK, Sapkota D, Sen MR. Evaluation of different tests for detection of *Staphylococcus aureus* using coagulase (coa) gene PCR as the gold standard. Nepal Medical College Journal. 2008;10(2):129-131.
25. Mustafa Ibrahim SH. *Staphylococcus aureus* can produce catalase enzyme when adding to human WBCs as a source of H₂O₂ productions in human plasma or serum in the laboratory. Journal of Medical Microbiology. 2014;(4):249-251.
26. Gotza F, Verheij HM, Rosenstein R. *Staphylococcal* lipases: molecular characterisation, secretion, and processing. Chemistry and Physics of Lipids. 1998;93:15-25.
27. Hu C, Xiong N, Zhang Y, Rayner S, Chen S. Functional characterization of lipase in the pathogenesis of *Staphylococcus aureus*. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2012;419:617-620.
28. Costa AR, Batistão DW, Ribas RM, Sousa AM, Pereira MO, Botelho CM. *Staphylococcus aureus* virulence factors and disease. Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. 2013; p: 702-710.
29. Günday H. Aydın bölgesinde ürüne işlenecek çiğ sütlerde *staphylococcus aureus* ve enterotoksin varlığının araştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık

Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2017, Aydın (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Uğur PARIN).

30. Olson ME, Nygaard TK, Ackermann L, Watkins RL, Zurek OW, Pallister KB, Griffith S. *Staphylococcus aureus* nuclease is an SaeRS-dependent virulence factor. *Infection and Immunity*. 2013;81(4):1316-1324.

31. Smith PB, Hancock GA, Rhoden DL. Improved medium for detecting deoxyribonuclease producing bacteria. *Journal of Applied Microbiology*. 1969;18:991-993.

32. Lagace-Wiens PRS, Alfa JM, Manickam K, Karlowsky JA, Thermostable DNase is superior to tube coagulase for direct detection of *Staphylococcus aureus* in positive blood cultures. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007;45(10):3478-3479.

33. Cunningham L, Catlin BW, De Garile MP. A deoxyribonuclease of *Micrococcus pyogenes*. *Journal of the American Chemical Society*. 1956;78:4642-4644.

34. Duyuk M. Çiğ inek sütlerinde *Staphylococcus aureus* etkeninin izolasyonu, identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2018, Aydın (Danışman: Doç. Dr. Murat BOYACIOĞLU).

35. Otto M. *Staphylococcus aureus* toxins. *Current Opinion Microbiology*. 2014;17:32–37.

36. Berube B, Wardenburg JB. *Staphylococcus aureus* α -Toxin: Nearly a century of intrigue. *Toxins*. 2013;5:1140-1166.

37. Vandenesch F, Lina G, Henry T. *Staphylococcus aureus* Hemolysins, bi-component leukocidins, and cytolytic peptides: A redundant arsenal of membrane-damaging virulence factors? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2012;2(12):1-15.

38. DuMont LA, Nygaard TK, Watkins RL, Smith A, Kozhaya L, Kreiswirth BN, Shopsin B, Unutmaz D, Voyich JM, Torres VJ. Characterization of a new cytotoxin

that contributes to *Staphylococcus aureus* pathogenesis. Molecular Microbiology. 2011;79(3):814-825.

39. Ventura CL, Malachowa N, Hammer CH, Nardone GA, Robinson MA, Kobayashi SD, Deleo FR. Identification of a novel *Staphylococcus aureus* two-component leukotoxin using cell surface proteomics. PLoS One. 2010;5(7):e11634

40. Sudağıdan M, Aydın A. Virulence properties of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* food isolates encoding panton-valentine leukocidin gene. International Journal of Food Microbiology. 2010;138:287-291.

41. Ladhani S. Understandin the mechanisim of action of the exfoliative toxin of *Staphylococcus aureus*. Medical Microbiology and Immunology. 2003;39:181-189.

42. Sospedra I, Mañes J, Soriano JM. Report of toxic shock syndrome toxin 1 (TSST-1) from *Staphylococcus aureus* isolated in food handlers and surfaces from foodservice establishments. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2012;80:288-290.

43. Bhatia A, Zahoor S. *Staphylococcus aureus* enterotoxins: A review. Journal of Clinical and Diagnostic. 2007;4(3):188-197.

44. Kadariya J, Smith TC, Thapaliya D. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food-borne disease: An ongoing challenge in public health. BioMed Research International. 2014;Article ID 827965:1-9.

45. Tibana A, Rayman K, Akhtar M, Szabo R. Termal stability of *staphylococcal* enterotxin A, B and C in a buffered system. Journal of Food Protection. 1987;50(3):239-242.

46. Bhunia AK. Introduction to Foodborne Pathogens. Foodborne Microbial Pathogens. 2nd edition, New York City, Springer Science Business Media. 2018;1-8.

47. Anon. Scientific Opinion of The Panel on Biological Hazards. Assessment of The Public Health Significance of Meticillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Animals and Foods. The EFSA Journal. 2009;993:1-73.

- 48.** Çakıcı N, Demirel-Zorba NN, Akçalı A. Gıda endüstrisi çalışanları ve *stafilokokal* gıda zehirlenmeleri. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi. 2015;72(4):337-350.
- 49.** Hacıbektaşoğlu A, Eyigün CP, Özsoy MF. Gıda elleycileri'nde burun ve boğaz portörlüğü. Mikrobiyoloji Bülteni. 1993;27:62-70.
- 50.** Doyle ME, Hartmann FA, Lee Wong AC. Methicillin-resistant *staphylococci*: implications for our food supply? Animal Health Research Reviews. 2012;13(02):157-180.
- 51.** Gündoğan N, Ataol Ö. Et örneklerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilokok'ların biyofilm üretimi ve DNaz aktivitelerinin belirlenmesi. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi. 2012;69(3):135-142.
- 52.** Guran HS, Kahya S. Species Diversity and Pheno-and Genotypic Antibiotic Resistance Patterns of Staphylococci Isolated from Retail Ground Meats. Journal of Food Science. 2015;80(6):M1291-M1298.
- 53.** Şen E, Özdemir H. *Staphylococcus aureus*'un antibiyotik dirençliliği ve halk sağlığı açısından önemi. Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi. 2016;14(1):20-35.
- 54.** Turner NA, Sharma-Kuinkel BK, Maskarinec SA, Eichenberger EM, Shah PP, Carugati M, Fowler VG. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. Nature Reviews Microbiology. 2019;17:203-218.
- 55.** Jevons MP. "Celbenin"-resistant staphylococci. British Medical Journal. 1961;1(5219):124.
- 56.** Peacock SJ, Paterson GK. Mechanisms of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. Annual Review of Biochemistry. 2015;84:577-601.
- 57.** Millar BC, Loughrey A, Elborn JS, Moore JE. Proposed definitions of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). Journal Hospital Infection. 2007;67:109-13.

58. French GL, Otter JA. Molecular epidemiology of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. The Lancet. 2010;10:227-239.
59. Garipçin M, Şeker E. İnsanlarda ve hayvanlarda metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) infeksiyonları. Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi. 2013;11(1):44- 60.
60. Juhasz-Kaszanyitzky E, Janosi S, Somogyi P, Dan A, van der Graaf-van Bloois L, van Duijkeren E, Wagenaar JA. MRSA transmission between cows and humans. Emerging Infectious Diseases Journal. 2007;13:630-632.
61. Pu S, Han F, Ge B. Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from Louisiana retail meats. Applied and Environmental Microbiology. 2009;75:265-267.
62. Weese JS, Reid-Smith R, Rousseau J, Avery B. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) contamination of retail pork. Canadian Veterinary Journal. 2010;51:749-752.
63. Paterson GK, Harrison EM, Holmes MA. The emergence of mecC methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Trends in Microbiology. 2014;22(1):42–47.
64. Fang H, Hedin G. Use of cefoxitin-based selective broth for improved detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Clinical Microbiology. 2006;44(2):592-594.
65. Giske CG, Martinez-Martinez L, Canton R, Stefani S, Skov R, Glupczynski Y, Zemlickova H. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance, version 2.0. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Växjö, Sweden. 2017.
66. Brown DF, Edwards DI, Hawkey PM, Morrison D, Ridgway GL, Towner KJ, Wren MW. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2005;56(6):1000-1018.

67. FSIS: <https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/food-safety-education/get-answers/food-safety-fact-sheets/safe-food-handling/the-big-thaw-safe-defrosting-methods-for-consumers/bigthaw2>. 2013.
68. Crago B, Ferrato, C, Drews SJ, Svenson LW, Tyrrell G, Louie M. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) in food samples associated with foodborne illness in Alberta, Canada from 2007 to Food Microbiology. 2010;32(1):202-205.
69. Brakstad OG, Aasbakk K, Maeland JA. Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the *nuc* gene. Journal of Clinical Microbiology. 1992;30(7):1654-1660.
70. Murakami K, Minamide W, Wada K, Nakamura E, Teraoka H, Watanabe S. Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. Journal of Clinical Microbiology. 1991;29(10):2240-2244.
71. Gundogan N, Citak S, Yucel N, Devren AA. Note on the incidence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and chicken samples. Meat Science. 2005;69(4):807-810.
72. Koluman A, Unlu T, Dikici A, Tezel A, Akcelik EN, Burkan ZT. Presence of *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins in different foods. Kafkas Üniversitesi Fakültesi Dergisi. 2011;17(Suppl A):55-6
73. Ogata K, Narimatsu H, Suzuki M, Higuchi W, Yamamoto T, Taniguchi H. Commercially distributed meat as a potential vehicle for community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Applied and Environmental Microbiology. 2012;78(8):2797-2802.
74. Özdemir H, Keyvan E. Isolation and characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from beef, sheep and chicken meat. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2016;63:333-338.

- 75.** Bhargava K, Wang X, Donabedian S, Zervos M, da Rocha, L, Zhang Y. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in retail meat, Detroit, Michigan, USA. *Emerging Infectious Diseases*. 2011;17(6):1135.
- 76.** Kitai S, Shimizu A, Kawano J, Sato E, Nakano C, Uji T, Kitagawa H. Characterization of methicillin-resistant *S. aureus* isolated from retail raw chicken meat in Japan. *Journal of Veterinary Science*. 2005;67(1):107-110.
- 77.** Tang Y, Larsen J, Kjeldgaard J, Andersen PS, Skov R, Ingmer H. Methicillin-resistant and-susceptible *Staphylococcus aureus* from retail meat in Denmark. *International Journal of Food Microbiology*. 2017;249:72-76.
- 78.** Kwon NH, Park KT, Jung WK, Youn HY, Lee Y, Kim SH, Hong SK. Characteristics of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat and hospitalized dogs in Korea and their epidemiological relatedness. *Veterinary Microbiology*. 2006;117(2-4):304-312.
- 79.** Thapaliya D, Forshey BM, Kadariya J, Quick MK, Farina S, O'Brien A, Wardyn S. Prevalence and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* in commercially available meat over a one-year period in Iowa, USA. *Food Microbiology*. 2017;65:122-129.
- 80.** Watanabe S, Ito T, Sasaki T, Li S, Uchiyama I, Kishii K, Hiramatsu K. Genetic Diversity of Staphylocoagulase Genes (coa): Insight into the Evolution of Variable Chromosomal Virulence Factors in *Staphylococcus aureus*. *PLoS ONE*. 2009;4(5):e5714.
- 81.** Normanno G, Corrente M, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia NC, Parisi A, Greco G, Bellacicco AL, Virgilio S, Celano GV. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. *International Journal of Food Microbiology*. 2007;115:290-296.
- 82.** De Boer E, Zwartkruis-Nahuis JTM, Wilt B, Huijden XW, De Neeling AJ, Bosch T, Van Oostrem RAA, Vila A, Heuvelink AE. Prevalence of methicillin-

resistant *Staphylococcus aureus* in meat. International Journal of Food Microbiology. 2009;134:52-56.

83. Van Loo IH, Diederer BM, Savelkoul PH, Woudenberg JH, Roosendaal R, Van Belkum A, Kluytmans JA. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat products, the Netherlands. Emerging Infectious Diseases. 2007;13(11):1753.

84. Lozano C, López M, Gómez-Sanz E, Ruiz-Larrea F, Torres C, Zarazaga M. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in food samples of animal origin in Spain. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2009;64(6):1325-1326.

85. Hanson BM, Dressler AE, Harper AL, Scheibel RP, Wardyn SE, Roberts LK, Smith TC. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on retail meat in Iowa. Journal of Infection and Public Health. 2011;4(4):169-174.

86. Jackson CR, Davis JA, Barrett JB. Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from retail meat and humans in Georgia. Journal of Clinical Microbiology. 2013;51(4):1199-1207.

87. Fessler AT, Kadlec K, Hassel M, Hauschild T, Eidam C, Ehricht R, Schwarz S. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from food and food products of poultry origin in Germany Applied Environmental Microbiology. 2011;77(20):7151-7157.

88. Ge B, Mukherjee S, Hsu CH, Davis JA, Tran TTT, Yang Q, Womack NA. MRSA and multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in US retail meats, 2010–2011. Food Microbiology. 2017;62:289-297.

89. Tang Y, Larsen J, Kjeldgaard J, Andersen PS, Skov R, Ingmer H. Methicillin-resistant and-susceptible *Staphylococcus aureus* from retail meat in Denmark. International Journal of Food Microbiology. 2017;249:72-76.

90. Nsira SB, Dupuis M, Leclercq R. Evaluation of MRSA Select, a new chromogenic medium for the detection of nasal carriage of methicillin-resistant

Staphylococcus aureus. International Journal of Antimicrobial Agents. 2006;27(6):561-564.

91. Wedley AL, Dawson S, Maddox TW, Coyne KP, Pinchbeck GL, Clegg P, Williams NJ. Carriage of *Staphylococcus* species in the veterinary visiting dog population in mainland UK: molecular characterisation of resistance and virulence. Veterinary Microbiology. 2014;170(1-2):81-88.

92. Ahmed AAH, Maharik NMS, Valero A, Kamal SM. Incidence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in milk and Egyptian artisanal dairy products. Food Control. 2019;10(1):34-36.

93. European Union Reference Laboratory for Antimicrobial Resistance (EURL-AR). Protocol for screening for MRSA Available from: https://www.eurl-ar.eu/CustomerData/Files/Folders/21-protocols/430_mrsa-protocol-final-19-06-2018.pdf. 2012.

94. European Food Safety Authority (EFSA) Technical specifications on the harmonised monitoring and reporting of antimicrobial resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in food-producing animals and food. EFSA Journal. 2012;10(10):2897.

95. Pauly N, Wichmann-Schauer H, Ballhausen B, Reyes NT, Fetsch A, Tenhagen B. A. Detection and quantification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in fresh broiler meat at retail in Germany. International Journal of Food Microbiology. 2019;292:8-12.

96. Uzun B, Karataş Ş, Güngör S, Afşar İ, Yüksel EÖ. Demirci M. *Staphylococcus aureus* suşlarındaki metisilin direncinin belirlenmesinde sefoksitin disk difüzyon testi, otomatize sistem ve kromojenik besiyerinin karşılaştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni. 2013;47(1):11-18.

97. García-Álvarez L, Holden MT, Lindsay H, Webb CR, Brown DF, Curran MD, Parkhill J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue

in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *The Lancet Infectious Diseases*. 2011;11(8):595-603.

98. Felten, A, Grandry B, Lagrange PH, Casin I. Evaluation of three techniques for detection of low-level methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a disk diffusion method with cefoxitin and moxalactam, the Vitek 2 system, and the MRSA-screen latex agglutination test. *Journal of Clinical Microbiology*. 2002;40(8):2766-2771.

99. Stegger Á, Andersen PS, Kearns A, Pichon B, Holmes MA, Edwards G, Larsen AR. Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harbouring either *mecA* or the new *mecA* homologue *mecA* LGA251. *Clinical Microbiology and Infection*. 2012;18(4):395-400.

100. Giacinti G, Carfora V, Caprioli A, Sagrafoli D, Marri N, Giangolini G, Feltrin F. Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying *mecA* or *mecC* and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in dairy sheep farms in central Italy. *Journal of Dairy Science*. 2017;100(10):7857-7863.

101. Argudin MA, Roisin S, Nienhaus L, Dodemont M, De Mendonça R, Nonhoff C, Denis O. Genetic diversity among *Staphylococcus aureus* isolates showing oxacillin and/or cefoxitin resistance not linked to the presence of *mec* genes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2018;62(7):e00091-18.

102. Quddoumi SS, Bdour SM, Mahasneh AM. Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from livestock and poultry meat. *Annals of Microbiology*. 2006;56(2):155-161.

9. ÖZGEÇMİŞ



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Adı	Adle Ronayi	Soyadı	BOZAN BAYRAK
Doğum Yeri	Diyarbakır	Doğum Tarihi	10.03.1992
Uyruğu	T.C	Tel	05397201400
E-posta	ronayibozan@gmail.com		

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora / Uzmanlık		
Tezli Yüksek Lisans		
Lisans	İnönü Üniversitesi Mühendislik Fakültesi	2013
Lise	Ziya Gökalp Lisesi	2009

İŞ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Gıda Mühendisi	Diyarbakır Yenişehir İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü	3(2016-...)

Yabancı Dil Sınav Notu

ÜDS/YDS	KPDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	78,78	82,05	73,85
(Diğer) Puanı			

10. ORJİNALLİK RAPORU

DANA, TAVUK, HİNDİ VE ÖRDEK ETLERİNDE METİSİLİNE
DUYARLI ve DİRENÇLİ Staphylococcus aureus
PREVALANSININ ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLİK RAPORU

% 4	% 1	% 0	% 3
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Balıkesir Üniversitesi Öğrenci Ödevi	% 2
2	Submitted to Ankara University Öğrenci Ödevi	% 1
3	www.klimud.org İnternet Kaynağı	% 1
4	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	% 1

Alıntıları çıkart üzerinde Eşleşmeleri çıkar < %1
Bibliyografyayı Çıkart Kapat