



**TULUM PEYNİRLERİNDE METİSİLİNE DİRENÇLİ
Staphylococcus aureus VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Beyza Rukiye KARAHAN DURAN
Yüksek Lisans Tezi
Danışman: Prof. Dr. Esra ŞEKER
Tez No: 2024-043

AFYONKOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TULUM PEYNİRLERİNDE METİSİLİNE DİRENÇLİ
***Staphylococcus aureus* VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Hazırlayan
Beyza Rukiye KARAHAN DURAN

Danışman
Prof. Dr. Esra ŞEKER

TEZ NO: 2024-043
AFYONKARARİSAR

Bu tez çalışması; Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi (BAPK) Tarafından Desteklenmiştir. Proje No:
“22.SAĞ.BİL.16”

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEZ KABUL VE ONAY

Öğrencinin	Adı- Soyadı	Beyza Rukiye KARAHAN DURAN
	Numarası	213314001
	Anabilim Dalı	Veterinerlik Mikrobiyolojisi
	Program	☒ Yüksek Lisans ☐ Doktora
Tezin Başlığı		Tulum Peynirlerinde Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i> Varlığının Araştırılması
Tez Savunma Sınav Tarihi		27.11.2024
Tez Savunma Sınav Saati		14:00
Yukarıda bilgileri verilen tez, Afyon Kocatepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek oy birliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir.		
Başkan	Prof. Dr. Esra ŞEKER	
Üye	Prof. Dr. Nilgün ÜNAL	
Üye	Prof. Dr. Recep KARA	
Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun / / tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır. Prof. Dr. Esmâ KOZAN Enstitü Müdürü		

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
 - Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
 - Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı
- beyan ederim.**

27/11/2024

Beyza Rukiye KARAHAN DURAN

ÖZET

Tulum Peynirlerinde Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* Varlığının Araştırılması

Bu Tez çalışmasında, Uşak merkez, yakın ilçe ve köylerdeki halk pazarlarında paketlenmemiş olarak satışa sunulan tulum peynirlerinde metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) varlığının moleküler yöntemler kullanılarak araştırılması amaçlandı. Bu amaçla, pazarlardan aseptik koşullarda toplam 100 adet tulum peyniri örneği toplandı. İlk olarak konvansiyonel yöntemler kullanılarak 100 tulum peynirinden 11 *S. aureus* şüpheli izolat elde edildi. Fenotipik izolasyonu takiben, 11 şüpheli izolatta 16S rDNA ve *nuc* genleri Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile araştırıldı. İzolatların tamamı *Staphylococcus* spp. olarak belirlenirken, 10 izolat *S. aureus* olarak tiplendirildi. *S. aureus* olarak belirlenen izolatlarda metisilin direnci fenotipik olarak sefoksitin diski kullanılarak yapılan Kirby-Bauer disk difüzyon testi ile araştırılırken, genotipik olarak ise *mecA* ve *mecC* genlerinin varlığı ile araştırıldı. İzolatların beşinde metisiline fenotipik direnç belirlendi. Fenotipik direnç belirlenen beş izolattan birinin *mecA* genini, birinin ise *mecC* genini taşıdığı tespit edildi. Böylece, 100 tulum peynirinden izole edilen 10 *S. aureus* izolatının ikisi MRSA (%20) olarak belirlendi. Sonuç olarak örneklenen tulum peynirlerinde MRSA varlığının tespit edilmesinin, halk sağlığı açısından potansiyel risk oluşturabileceği düşünüldü. Bilgimize göre sunulan çalışma, Türkiye'de tulum peynirlerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarında *mecC* geni varlığını bildiren ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: *mecA* geni, *mecC* geni, Metisilin direnci, *Staphylococcus aureus*, Tek sağlık, Tulum peyniri

SUMMARY

Investigation of the Presence of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* in Tulum Cheese

In this Thesis study, it was aimed to investigate the presence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in tulum cheeses sold unpackaged in public bazaars in Uşak center, nearby districts and villages, using molecular methods. For this purpose, a total of 100 tulum cheese samples were collected from the bazaars under aseptic conditions. Firstly, 11 *S. aureus* suspected isolates were obtained from 100 tulum cheese using conventional methods. Following phenotypic isolation, the 16S rDNA and *nuc* genes in 11 suspected isolates was investigated by Polymerase Chain Reaction. While all of isolates were determined to be *Staphylococcus* spp., 10 isolates (10%) were typed to be *S. aureus*. In the isolates identified to be *S. aureus*, methicillin resistance was investigated phenotypically by the Kirby-Bauer disk diffusion test using cefoxitin disk, and genotypically by the presence of *mecA* and *mecC* genes. Phenotypic resistance to methicillin was determined in five of the isolates. It was determined that one of the five isolates with phenotypic resistance harboured the *mecA* gene and one harboured the *mecC* gene. Thus, two of 10 *S. aureus* isolates isolated from 100 tulum cheeses were identified to be MRSA (20%). Consequently, it was thought that the detection of the presence of MRSA in the sampled tulum cheeses could pose a potential risk to public health. To our knowledge, the presented study is the first to report the presence of the *mecC* gene in *S. aureus* isolates isolated from tulum cheese in Turkey.

Keywords: *mecA*, *mecC*, Methicillin, One Health, *Staphylococcus aureus*, Tulum cheese

ÖNSÖZ

“Tulum Peynirlerinde Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* Varlığının Araştırılması” konulu yüksek lisans tez çalışmamda, bilgi ve tecrübeleri ile yardımcı olan çok değerli danışman hocam Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Dalı Başkanı Prof. Dr. Esra ŞEKER başta olmak üzere; Anabilim Dalı geçmiş dönemlerdeki değerli hocası Prof. Dr. Beytullah KENAR’a, Öğr. Grv. Zahide KÖSE’ye, Bayat MYO Veterinerlik Bölümü’nden Dr. Öğr. Ü. Selahattin KONAK’a; laboratuvar çalışmalarında bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Oğuz Kaan TÜREDİ’ye ve Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Veteriner Hekim Hatice SAYAN’a teşekkür ederim. Tez çalışmamı maddi olarak destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi’ne ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına teşekkür ederim

Tüm bu yüksek lisans sürecinde, saha çalışmalarımnda benimle birlikte emek veren anneme, teyzeme, aile üyelerime ve sevgili eşime teşekkür ederim.

Beyza Rukiye KARAHAN DURAN

Afyonkarahisar

2024

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

ÖZET i

SUMMARY ii

ÖNSÖZ iii

İÇİNDEKİLER iv

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ v

ŞEKİLLER DİZİNİ vi

ÇİZELGELER DİZİNİ vii

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ viii

1. GİRİŞ 1

1.1. Stafilocokların genel özellikleri 5

1.1.1. Tarihçe 5

1.1.2. Klasifikasyon 5

1.1.3. Morfoloji ve Kültür Özellikleri 6

1.1.4. Biyokimyasal özellikleri 7

1.1.5. Virölans Faktörleri 7

1.1.5.1. Kapsül 7

1.1.5.2. Hücre Duvarı 7

1.1.5.3. Katalaz 8

1.1.5.4. Koagülaz 9

1.1.5.5. Hiyolüronidaz 9

1.1.5.6. Fibrinolizin (Stafilokinaz) 9

1.1.5.7. Lipaz 9

1.1.5.8. Deoksiribonükleaz (DNaz) 10

1.1.5.9. Penisilinaz (β -laktamaz) 10

1.1.5.10. Eksfoliyatif Toksinler	10
1.1.5.11. Enterotoksinler	10
1.1.5.12. Toksik Şok Sendromu Toksini-1 (TSST-1)	11
1.1.5.13. Alfa Hemolizin (Alfa Toksin)	11
1.1.5.14. Beta Hemolizin (Beta Toksin)	12
1.1.5.15. Gama Hemolizin (Gama Toksin)	12
1.1.5.16. Delta Hemolizin (Delta Toksin)	12
1.1.5.17. Panton- Valentine Lökositidin (PVL)	12
1.1.5.18. Biyofilm Oluşturma	13
1.2. Metisilin Etki ve Direnç Mekanizması	13
1.3. Tek Sağlık Yaklaşımı ve Antimikrobiyal Direnç	17
2. MATERYAL ve METOT	19
2.1. Materyal	19
2.1.1. Tulum Peyniri Örneklerinin Toplanması	19
2.1.2. Standart Suşlar	19
2.2. Metot	21
2.2.1. Örneklerden <i>S. aureus</i> 'un Fenotipik İzolasyonu	21
2.2.2. Örneklerde <i>S. aureus</i> 'un Moleküler İdentifikasyonu	24
2.2.2.1. DNA Ekstraksiyonu	24
2.2.2.2. Amplifikasyon Koşulları	24
2.2.3. <i>S. aureus</i> İzolatlarında Metisiline Direncin Belirlenmesi	26
2.2.3.1. Fenotipik Direncin Belirlenmesi	26
2.2.3.2. Metisilin Direnç Genlerinin (<i>mecA</i> , <i>mecC</i>) Belirlenmesi	26
2.2.3.2.1. Amplifikasyon Koşulları	26
3. BULGULAR	29
3.1. Fenotipik İzolasyon Bulguları	29
3.2. Moleküler İdentifikasyon Bulguları	29
3.3. Metisilin Direnci Bulguları	29
4. TARTIŞMA	35
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	40
6. KAYNAKLAR	42
ÖZGEÇMİŞ	56

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

β: Beta

BORSA: Borderline resistant *Staphylococcus aureus*

CRF: Koagülaz reaksiyonu faktörü

DNaz: Deoksiribonükleaz

Fc: Kristalize Fragment

g: Gram

HK-MRSA: Hastane kaynaklı metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*

Ig: İmmunoglobulin

IL: İnterlökin

kDa: Kilo dalton

Kob: Koloni oluşturan birim

LA-MRSA: Çiftlik hayvanları kaynaklı metisiline dirençli *S. aureus*

μg: Mikrogram

μL: Mikrolitre

MODSA: Modified resistant *Staphylococcus aureus*

MRSA: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*

NaCl: Sodyum Klorür

PBP: Penisilin bağlayan protein

PVL: Panton-Valentine Lökosidin

PYR: L-pirolidonil aminopeptidaz

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

°C: Santigrat derece

SCCmec: Stafilokokal kromozomal kaset *mec*

TGK: Türk Gıda Kodeksi

TK-MRSA: Toplum kaynaklı metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*

ÇİZELGELER DİZİNİ

	SAYFA
Çizelge 2.1. Numunelerin toplandığı yerler	20
Çizelge 2.2. Çalışmada kullanılan primerlere ait oligonükleotid sekansları ve bant büyüklükleri	25
Çizelge 2.3. 16S rDNA ve <i>nuc</i> genleri için hazırlanan PZR karışımı bileşenleri	25
Çizelge 2.4. 16S rDNA ve <i>nuc</i> genleri için kullanılan amplifikasyon koşulları	25
Çizelge 2.5. Kullanılan primerlere ait oligonükleotid sekansları ve bant büyüklükleri	27
Çizelge 2.6. <i>mecA</i> geni için hazırlanan PZR karışımı bileşenleri	27
Çizelge 2.7. <i>mecC</i> geni için hazırlanan PZR karışımı bileşenleri	28
Çizelge 2.8. <i>mecA</i> ve <i>mecC</i> genleri için kullanılan amplifikasyon koşulları	28

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

SAYFA

Fotoğraf 2.1. Egg-yolk tellürit ilave edilmiş BPA’da üreyen <i>S. aureus</i> şüpheli koloniler	22
Fotoğraf 2.2. Boyaması yapılmış <i>S. aureus</i> şüpheli koloninin mikroskopik morfolojisi	22
Fotoğraf 2.3. Katalaz testi negatif ve pozitif reaksiyonlar	23
Fotoğraf 2.4. Tüpte ve lamda koagülaz pozitif reaksiyonlar	23
Fotoğraf 2.5. Oksidasyon/ Fermantasyon testi: Mannitolün anaerobik fermantasyonu	23
Fotoğraf 3.1. 16S rDNA ve <i>nuc</i> genlerine ait PZR bulguları	29
Fotoğraf 3.2. <i>S. aureus</i> ATCC 43300 pozitif kontrol suşunun sefoksitin (30µ) disk difüzyon testi sonucu	30
Fotoğraf 3.3. <i>S. aureus</i> ATCC 25923 negatif kontrol suşunun sefoksitin (30µ) disk difüzyon testi sonucu	30
Fotoğraf 3.4. <i>S. aureus</i> izolatının sefoksitin (30µ) disk difüzyon test sonucu	31
Fotoğraf 3.5. <i>S. aureus</i> izolatının sefoksitin (30µ) disk difüzyon test sonucu	31
Fotoğraf 3.6. <i>S. aureus</i> izolatının sefoksitin (30µ) disk difüzyon test sonucu	32
Fotoğraf 3.7. <i>S. aureus</i> izolatının sefoksitin (30µ) disk difüzyon test sonucu	32
Fotoğraf 3.8. <i>S. aureus</i> izolatının sefoksitin (30µ) disk difüzyon test sonucu	33
Fotoğraf 3.9. <i>mecA</i> genine ait PZR bulguları	33
Fotoğraf 3.10. <i>mecC</i> genine ait PZR bulguları	34

1. GİRİŞ

İnsan yaşamı için gerekli günlük enerjinin %10-15'inin protein kaynaklı olması önerilmektedir. Protein kaynakları içerisinde süt, büyüme ve gelişme için başta gelen besinlerden birisidir (Karakaya ve Akbay, 2013; Baysal, 2015). Süt tüketimi ülkelerin gelişmişlik göstergeleri arasında değerlendirilmektedir. Süt ürünleri arasında da peynir, içerdiği besin öğelerinin zenginliği ile önemli bir yere sahiptir (Onurlubaş ve Çakırlar, 2016).

Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği (2015) incelendiğinde “Peynir, hammaddenin uygun bir pıhtılaştırıcı kullanılarak pıhtılaştırılması ve pıhtıdan peyniraltı suyunun ayrılmasıyla ya da sütün permeatının ayrılmasından sonra pıhtılaştırılmasıyla elde edilen, farklı sertliklerde ve yağ içeriklerinde, salamura ile ya da kuru tuzlama ile tuzlanarak ya da tuzlanmadan, starter kültür kullanarak ya da kullanmadan, telemesi haşlanarak ya da haşlanmadan, çeşnili ya da çeşnisiz olarak, tekniğine uygun olarak üretilen, olgunlaştırılmadan ya da olgunlaştırıldıktan sonra tüketilen, çeşidine özgü karakteristik özellikleri gösteren süt ürünlerini ifade eder” şeklinde tanımlanmaktadır.

Tulum peyniri ise Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'ne (2015) göre “Hammaddenin peynir mayası kullanılarak pıhtılaştırılması ile elde edilen telemenin fermantasyonunu takiben ufalanıp tuzlanması, daha sonra gıdaya temasa uygun bir ambalaj malzemesine veya deri tulumlara sıkıca basılarak üretilen ve olgunlaştırıldıktan sonra piyasaya arz edilen çeşidine özgü karakteristik özellikler gösteren peyniri ifade eder” olarak tanımlanmıştır.

Peynir çeşidi sayısının dünyada 500 ile 1 500 arasında olduğu düşünülmektedir. Guinee ve Kilcawley (2004), “sofra peyniri” olarak kategorize edilen tek başına veya yemekler ile birlikte sunulan 500 ile 800 arasında peynir çeşidi olduğunu belirtmişlerdir. Çetinkaya (2008), ise dünyada peynir çeşidinin yaklaşık olarak 4 000, ülkemizde ise bu sayının 193 olduğunu bildirmiştir.

Üretilen çeşitli yöresel peynirler arasında insanların beğenisi ve buna bağlı

talebine göre en fazla tüketilen peynirler arasında tulum peyniri de yer almaktadır (Dağdemir, 2000; Arslaner ve Türkmen, 2020). Tulum peyniri üretiminde çoğunlukla çiğ süt kullanılmakta olup peynir, geleneksel yöntemde koyun ya da keçi derisinden yapılan tulumlara basılır. Tulumlara basılan peynirler olgunlaşması için mağara ve obruklarda bekletilir. Peynirlerin son zamanlarda mağara ve obrukların yanı sıra soğuk hava depolarında da bekletildiği bilinmektedir. Tuluma basılan peynirin olgunlaşma süresi yaklaşık 3-7 ay olup bu sürenin sonunda “tulum peyniri” olarak tüketiciye sunulur (Arslaner ve Türkmen, 2020).

Peynir besin öğelerinin yanı sıra bazı mikroorganizmaları da içerir. Bu mikroorganizmalar peynirin yapısında değişikliklere neden olur ve bu peynirin tüketimi gıda zehirlenmelerine yol açabilir. Üretim sürecinde peynirin yeterli ısı işlem görmemesi ve olgunlaşma sürecinde ürünün bekletilme koşulları mikrobiyal üreme için ortam oluşturabilir (Varga, 2007; Johler vd., 2015; Koçak Kızanlık ve Göksoy, 2018; Filipello vd., 2020; Harmankaya ve Harmankaya, 2020). Zehirlenmelerin hangi gıda ürünlerinden kaynaklandığı ile ilgili çalışmalar yapılmış, çoğunlukla süt ürünlerinden kaynaklandığı bildirilmiştir. Süt ürünleri içerisinde de çiğ süttten üretilen peynir kaynaklı zehirlenmelere sıklıkla rastlanmaktadır (Hennekinne vd., 2012; Johler vd., 2015; Adame-Gómez vd., 2018; Filipello vd., 2020). Peynirlerin bakteriyel kontaminasyon nedenleri ve gıda kaynaklı toksikasyonlar arasında özellikle *Staphylococcus aureus* ilk sıralarda yer almaktadır (Schelin vd., 2011; Johler vd., 2015; Adame-Gómez vd., 2018; Filipello vd., 2020). Sağlıklı insan ve hayvanların deri ve mukozalarında kommensal olarak bulunabilen, çevresel kaynaklarda yaygın olarak bulunan *S. aureus*, ortam şartlarına da dayanıklılık gösterir. Farklı virülans faktörlerine sahip olan mikroorganizma bu faktörleri ile insan ve hayvanlarda farklı şiddette birçok enfeksiyona neden olabilen oportunistik gıda kaynaklı bir patojen olarak kabul edilir (Lozana vd., 2016; Rodríguez-Lázaro vd, 2017; Sergelidis ve Angelidis, 2017; Jansen vd., 2019). Gıdalarda ve gıda işletmelerinde çalışan personellerde de *S. aureus*’a sık rastlanmakta, Stafilokokal intoksikasyonlara personelin asemptomatik kontaminasyonu sebep olabilmektedir. İşletmelerde yeterli hijyen uygulanamadığında personelin yanı sıra, gıda hazırlamada kullanılan ekipmanlar da kontaminasyona neden olabilmektedir (Doyle vd., 2012; Al-Bahry vd., 2014). Özellikle ruminantlarda klinik ve/veya subklinik mastitise neden olan etken, enfekte sütler ya da bu

sütlerden yapılmış ürünlerin yeterli ısı işlemi görmeden tüketilmesi ile de insanlara bulaşabilmektedir (Kadariya vd., 2014; Bintsis, 2017).

Hem insan hem de hayvanlarda bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde ve aynı zamanda profilaktik amaçlı antibiyotikler ya da antibiyotik kombinasyonları sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak, antibiyotiklerin bilinçsiz kullanımını sonucunda mikroorganizmalarda antibiyotiklere direnç geliştirmekte, gelişen bu direnç bakteriler arasında hızla yayılmaktadır. Antibakteriyel ilaçlara karşı gelişmiş olan direnç, tüm dünyada hastalık etkenleri ile mücadeleyi güçleştirmekte, sağaltımdaki başarıyı azaltmakta ve tedavi etkinliklerini sınırlamaktadır. Tüm bu sonuçlar düşünüldüğüne antibiyotik direnci giderek yaygınlaşan önemli bir problem haline dönüşmüştür (Jansen vd., 2019; Zhao vd., 2021a; Kuehn, 2022).

S. aureus'un önemli bir özelliği de antibiyotiklere karşı gösterdiği direnç olup, antibiyotik direnci göstermesi bakterinin halk sağlığı açısından önemli bir patojen olarak kabul edilmesine neden olmaktadır (Sancak, 2011; Garoy vd., 2019). Bakteri ile kontamine gıdaların tüketimiyle, özellikle bağışıklığı baskılanmış insanların bağırsaklarındaki patojen ya da apatojen bakterilerin direnç genlerini kendi aralarında aktararak direncin yayılmasına neden olabildikleri saptanmıştır (Normanno, vd., 2007; Foster, 2017; Guo vd., 2020). Araştırmacılar, özellikle son yıllarda çeşitli insan ve hayvan ya da hayvansal gıda orijinli Stafilokok izolatlarında metisilin direnci üzerinde durmaktadırlar (Cuny vd., 2015; Rodríguez-Lázaro vd., 2017; Adame-Gómez vd., 2018; Garoy vd., 2019; Şeker vd., 2019; Dhaouadi vd., 2020; Horasan Yakan ve Şeker, 2022; Seker vd., 2022; Yılmaz ve Seker, 2022).

Patojen *S. aureus* türlerinin çoğu, penisilinin etki mekanizmasını oluşturan beta laktam (β -laktam) halkasını hidrolize eden β -laktamaz (penisilinaz) enzimine sahiptir (Lade ve Kim, 2023). Stafilokoklarda beta-laktamaz (penisilinaz) sentezlenmesi ilk olarak 1944'te Kirby tarafından bildirilmiştir (Lowy, 1998; Büke, 2010). β -laktamazın hidrolizine dirençli penisilin grubu antibiyotiklerden ilk elde edilen ve kullanılan metisilindir (2,6-dimetoksifenilpenisilin) (Jevons, 1961). Dünyada en sık görülen hastane enfeksiyonu etkenleri arasında önemli bir yere sahip olan metisiline dirençli *S. aureus*

(Methicillin Resistant *S. aureus*, MRSA); patojen, humanoz ve zoonoz karakterde bir Stafilocok türüdür (Klebens vd., 2006; Morgan, 2008). MRSA suşları epidemiyolojik orijinlerine göre; Hastane İlişkili MRSA (Hospital Associated MRSA/HA-MRSA), Toplum İlişkili MRSA (Community Associated MRSA/CA-MRSA) ve Çiftlik Hayvanları İlişkili MRSA (Livestock Associated MRSA/LA-MRSA) olarak sınıflandırılmaktadır (Hou vd., 2023; González-Machado vd., 2024). İlk ortaya çıktığı yıllardan, 1990'ların ortalarına kadar geçen zamanda yalnızca nozokomiyal bir patojen (HA-MRSA) olarak düşünülen etkenlerin epidemiyolojisine bakış açısı, toplumda ciddi morbidite ve mortaliteyle seyreden enfeksiyonlardan (CA-MRSA) da izole edilmesi nedeniyle önemli oranda değişmiştir (Klebens vd., 2006; Paterson vd., 2014; Sergelidis ve Angelidis, 2017; Turner vd., 2019; Hou vd., 2023; González-Machado vd., 2024). Bununla birlikte son zamanlarda gittikçe önemli hale gelen başka bir konu ise LA-MRSA'dır. LA-MRSA izolatları ilk kez 1972 yılında Belçika'da mastitisli inek sütlerinden izole edilmiştir (Devriese vd., 1972). Daha sonra, 2005'te Hollanda'da bulunan bir domuz çiftliğinde hem çiftlik çalışanlarından hem de domuzlardan LA-MRSA izolasyonu bildirilmiştir (Voss vd., 2005). Yapılan çalışmalar sonucunda izolatın insan kaynaklı olduğu ve insanlardan hayvanlara geçtiği saptanmıştır (Doyle vd., 2012; Cuny vd., 2015; Sergelidis ve Angelidis, 2017; Fetsch vd., 2021). Takip eden yıllarda da, LA-MRSA, zoonotik potansiyelinden dolayı halk sağlığı açısından önemli bir konuma gelmiştir (González-Machado vd., 2024; Roy vd., 2024) Birçok çalışma MRSA'nın çiftlik hayvanları, evcil ve vahşi hayvanlardan, hem çiğ gıda hem de tüketime hazır gıdalardan, hayvancılık ve gıda üretim zincirinde çalışan bireylerden izole edildiğini göstermiştir (Voss vd., 2005; Cuny vd., 2015; Rodríguez-Lázaro vd., 2017; Adame-Gómez vd., 2018; Şeker vd., 2019; Dhaouadi vd., 2020; Horasan Yakan ve Şeker, 2022; Seker vd., 2022; Yılmaz ve Seker, 2022; Roy vd., 2024). MRSA'nın insan tüketimine sunulan gıdalarda bulunabilmesi gıda güvenliği açısından değerlendirildiğinde halk sağlığını tehdit eden büyük bir problem olarak kabul edilmektedir (Lozano vd., 2016; Foster, 2017; Oniciuc vd., 2017; Guo vd., 2020).

1.1. Stafilokokların Genel Özellikleri

1.1.1. Tarihçe

İlk defa Robert Koch tarafından 1878 yılında ışık mikroskobu altında görüntülenen *Staphylococcus* türlerinin sıvı besiyerinde üretilmesi 1880 yılında Louis Pasteur tarafından gerçekleştirmiştir. İskoç cerrah Alexander Ogston 1881 yılında cerrahi bir apsedan alınan irini inceleyip, mikroskopta gördüğü etkenleri üzüm salkımına benzeyen kitleler olarak tanımlamış ve bu etkenlere üzüm salkımı anlamına gelen *Staphylococci* ismini vermiştir (Licitra, 2013; Argaw ve Addis, 2015). Friedrich Julius Rosenbach 1884'te Stafilokokların saf kültürünü elde etmiş, sarı-portakal rengindeki kolonileri *S. aureus* olarak isimlendirmiş, bakterinin alfa, beta, delta ve gama toksinleri olduğunu bulmuştur (Zaghloul, 2015; Taha, 2018).

Alexander Fleming'in 1928 yılında penisilini keşfiyle Stafilokokal enfeksiyonların tedavisi için önemli bir gelişme yaşanmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde 1943 yılına kadar üretimi artan penisilin; 1944 yılında Kirby tarafından penisilinaz (β -laktamaz) üreten Stafilokokların varlığından bahsedilmesi ve 1947 yılında penisiline dirençli *S. aureus* suşlarının izole edilmeye başlanmasıyla birlikte etkinliğini kaybetmiştir. Bu antibiyotik direnci sorunu, 1959 yılında *S. aureus*'un ürettiği penisilinaz enzimine dirençli semisentetik penisilin türevi olarak üretilen metisilinin kullanıma girmesi ile kısa süreli bir süre çözüme kavuşmuştur. Ancak, 1961 yılında İngiltere'de ilk MRSA izolatu tanımlanmış (Jevons, 1961; Lowy, 1998; Enright vd., 2002; Waness, 2010), önce toplumdaki bireyler arasında, sonra sağlık merkezlerinde artan oranda MRSA izolasyonu bildirilmiştir (Enright vd., 2002; Waness, 2010; Taha, 2018). Hayvanlarda ilk MRSA izolatu ise 1972 yılında Belçika'da mastitisli ineklerden izole edilmiştir (Devriese vd., 1972).

1.1.2. Klasifikasyon

İlk keşfedildiği zamandan itibaren *Staphylococcus* ve *Micrococcus* cinsleri Gram pozitif ve katalaz pozitif kokları içeren Micrococcaceae familyasında yer almıştır (Erol, 2007;

Becker vd., 2011). *Staphylococcus* ve *Micrococcus* cinslerini Baird Parker 1963 yılında bakterilerin koloni rengi, kaogülaz ve fosfataz enzimi bulundurması, oksijenli ya da oksijensiz ortamda glikozu ve diğer şekerleri fermente etme özelliklerine göre alt gruplara ayırmıştır. Kemotaksonomik ve moleküler analizlerin de ortaya çıkmasıyla *Staphylococcus* ve *Micrococcus* cinsleri arasında benzerlik olmadığı bulunmuş ve etkenlerin sırasıyla Firmicutes ve Actinomycetota (Actinobacteria) şubelerine ait oldukları belirlenmiştir (Becker vd., 2011). “Bergey’s Manual of Systematics of Archaea and Bacteria” adlı bakterilerin taksonomik sınıflandırmasının yer aldığı kitapta *Staphylococcus*, *Staphylococcaceae* familyasının bir cinsi olarak sınıflandırılmıştır (Gherardi vd., 2018).

Günümüzde, *Staphylococcus* türleri; Eubacteria alemi, Firmicutes şubesi, Bacilli sınıfı, Bacillales takımı, Staphylococcaceae ailesi ve *Staphylococcus* cinsi içerisinde yer almakta olup, bu cins içerisinde en patojen tür *S. aureus* olarak bilinmektedir (Liu, 2015).

1.1.3. Morfoloji ve Kültür Özellikleri

Staphylococcus cinsi içerisinde yer alan *S. aureus*; Gram pozitif, ortalama 1 µm çapında tekli, ikili, dörtlü koklar ya da üzüm salkımı görünümündeki, hareketsiz, sporsuz, bazı suşları kapsüllü, fakültatif anaerofilik özellikte bakterilerdir (Quinn, 2011; Kumar, 2012).

S. aureus, üretilmesinde en yaygın kullanılan besiyeri olan koyun kanlı agarda 37 °C’de 24-48 saat içerisinde, bazıları hemoliz özelliğine sahip, gri, grimsi-sarı ve/veya sarı-turuncu (altın sarısı) renklerde düzgün, dış bükey, parlak ve yuvarlak, Smooth (-S) tipli koloniler oluşturarak ürerler. Genellikle agarda altın sarısı rengindeki koloni pigmentasyonu ile diğer *Staphylococcus* türlerinden ayrılan *S. aureus*, buyyonda pigment oluşturmada homojen bir bulanıklık yaparak ürer. Etken, optimal olarak 37 °C’de üremekle birlikte, 7-48 °C arasında da gelişme gösterebilen mezofilik bir bakteridir. Etkenin, optimal üreme pH’sı 7,4’tür. Ancak, geniş pH aralığında (pH 4,2-9,3) ve %15 oranına kadar sodyum klorür (NaCl) varlığında da yaşamını sürdürebilmesi; peynir gibi fermente ürünler de dahil olmak üzere pek çok gıdada hayatta kalmasını sağlar (Quinn, 2011; Hennekinne vd., 2012; Kumar, 2012; Argaw ve Addis, 2015; Bintsis, 2017;

Tessema, 2017; Lee vd., 2018; Taha, 2018).

1.1.4. Biyokimyasal Özellikler

Çok yönlü bir patojen olan *S. aureus*, hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüştüren katalaz enzimi üretmesiyle kendisi gibi Gram pozitif olan *Streptococcus* türlerinden kolayca ayırt edilebilmektedir. Tavşan ve insan plazmasını koagule etme yeteneğine sahip (koagülaz pozitif) bir etken olan *S. aureus*'un, koagülaz üretiminin yanı sıra termonükleaz üretimi ile anaerobik ve aerobik koşullarda mannitolü fermente etme özelliği tanımlanmasına ve diğer türlerden ayrılmasına yardımcı olmaktadır (Makwana vd., 2012; Kenny vd., 2013)

1.1.5. Virülans Faktörleri

İnsan ve hayvanlarda flora etkeni olarak bulunabilen ve fırsatçı bir patojen olarak tanımlanan *S. aureus*, aynı zamanda ciddi seyirli bakteriyel enfeksiyonlara da neden olmaktadır. Neden olduğu enfeksiyonların patogeneğinde; konak organizmanın savunma mekanizması ve bakteriyel virülans arasındaki denge rol oynamaktadır (Chambers, 2005; Allison vd., 2010; Becker, 2018; Taylor ve Unakal, 2023).

1.1.5.1. Kapsül

S. aureus'un hücre duvarı etrafındaki polisakkarit yapıdaki kapsülü, etkenin fagositozdan korunmasına olanak tanır. Etkenin kapsül antijenlerine göre tanımlanan 11 farklı serotipi bulunmaktadır. Serotipler arasında serotip 5 ve serotip 8'in insan enfeksiyonlarının 3/4'ünden sorumlu olduğu belirtilmekte, metisiline dirençli izolatların çoğunluğunun da serotip 5 ve 8'e ait olduğu bildirilmektedir (Cengiz ve Cengiz, 2004; Winn vd., 2006; Dina vd., 2021; Gladwin, 2022).

1.1.5.2. Hücre Duvarı

Mikroorganizmaya şeklini veren ve dayanıklılığını sağlayan hücre duvarı; peptidoglikan tabakası, protein A, teikoik asit ve diğer yüzey proteinlerinden oluşmaktadır. Bakteri hücre duvarının %50'sinden fazlasını oluşturan **peptidoglikan**, N-asetilglukozamin

(NAGA) ve N-asetilmuramik asit (NAMA) polimerlerinden oluşan bir disakkarittir. Stoplazmik membran dışında bulunan bu yapı, hücreyi ozmotik basınçtan korur. Ayrıca, peptidoglikan endotoksin benzeri bir etki göstererek endojen pirojen yapımını uyarır, komplemanı aktive eder ve apse oluşumu için lökosit agresyonunu sağlar (Que ve Moreillon, 2010; Songer ve Post, 2012).

Peptidoglikan tabakası içerisinde bulunan **teikoik asit** ribitol veya gliserol fosfat polimerlerinin birbirlerine fosfodiester bağları ile bağlanması sonucu oluşur ve, *S. aureus*'ta hücre duvarı teikoik asidi ve stoplazmik membran teikoik asidi olmak üzere iki tiptir. Mikroorganizma metabolizması için önemli olan teikoik asit, bakterinin konakçı mukozasına adhezyonunu sağlar (Winn vd., 2006; Que ve Moreillon, 2010).

S. aureus'a ait spesifik bir hücre duvarı antijeni olan ve hücre duvarının yaklaşık %7'sini oluşturan **protein A**, protein yapıda olup hücre duvarı peptidoglikanına ya da sitoplazmik membrana bağlı olarak bulunur. Bu yapının, immunglobulinlerin (Ig), özellikle IgG1, IgG2, IgG4, IgA2 ve bazı IgM'lerin Fc (kristalize fragment) reseptörlerine bağlanarak bakteriyi antikor bağımlı fagositozdan koruması en önemli özelliğidir. Antifagositik özelliğinin yanı sıra, kemotaktik ve mitojenik etkiye de sahip olan protein A, interlökin-6 (IL-6) ve IL-8 gibi sitokinlerin salınımını indükleyerek enflamatuvar süreçlerde de rol oynar (Que ve Moreillon, 2010; Hu vd., 2022).

1.1.5.3. Katalaz

Stafilokoklar hidrojen peroksiti oksijen ve suya ayrıştıran katalaz enzimini üretirler. Laboratuvar ortamında Stafilokokların streptokoklardan ayırt edilmesini sağlayan bu enzim, fagositik hücrelerin ihtiyacı olan hidrojen peroksidi inaktive edip, bakteriyi toksik etkilerden korumuş olur (Winn vd., 2006).

1.1.5.4. Koagülaz

S. aureus'un tüm suşları tarafından üretilen koagülaz enzimi, clumping faktör (bağlı koagülaz) ve serbest koagülaz olmak üzere iki çeşittir. Bakteri hücre duvarında bulunan ve fibrinojene bağlanarak fibrinojeni fibrine dönüştüren bağlı koagülaz, bakteri yüzeyinde aglutinasyon ve kümelenmeye neden olur. Bu sayede bakteri etrafında oluşan fibrin tabakası, bakteriyi savunma mekanizmalarından korur. Bakteri tarafından dış ortama salınan serbest koagülaz ise koagülaz reaksiyonunu faktörü (Coagulase reacting factor, CRF) ile reaksiyona girerek fibrinojenin fibrine dönüşümünü katalize eder. Koagülaz enzimi, bakterinin sebep olduğu apsenin çevresinde fibrin tabakasının oluşturulması sonucu, enfeksiyonun lokalize edilmesinden ve bakterinin fagositozdan korunmasından sorumludur (Winn vd., 2006; Erol, 2007; Cheng vd., 2010).

1.1.5.5. Hiyalüronidaz

S. aureus suşlarının büyük çoğunluğu (yaklaşık %90), bağ dokusunda bulunan hiyaluronik asidi hidrolize ederek mikroorganizmanın dokuda yayılışını kolaylaştıran ve bu nedenle de "yayılma faktörü" olarak da isimlendirilen hiyalüronidaz enzimi üretir. Antijenik özelliğe sahip olan enzim, kendine özgü antikorları ile nötralize olur (Hart vd., 2009).

1.1.5.6. Fibrinolizin (Stafilokinaz)

S. aureus tarafından oluşturulan 136 aminoasitten oluşan, 15,5 kDa ağırlığında bir enzim olan fibrinolizin, fibrin pıhtılarını çözerek fibrin yıkımına sebep olur. Fibrin yıkımı mikroorganizmanın dokuda yayılışını kolaylaştırır. Fibrinolitik etki, kinazların plazminojenin aktive edilip plazmine dönüştürülmesi sayesinde oluşur. Enzim, IgG ve kompleman C3b'yi parçalayarak bakteriyi fagositoza karşı korur (Bokarewa, 2006).

1.1.5.7. Lipaz

Lipidleri hidrolize eden lipaz enzimi, mikroorganizmanın deri ve deri altı dokularda yayılmasını kolaylaştırır (Gladwin vd., 2022).

1.1.5.8. Deoksiribonükleaz (DNaz)

DNaz enzimi tüm *S. aureus* izolatları tarafından sentezlenen, DNA ve RNA'yı nükleotidlere parçalayan, hücre dışı, termostabil bir enzimdir (Gladwin vd., 2022).

1.1.5.9. Penisilinaz (β -laktamaz)

β -laktam halkası, penisilin grubu antibiyotiklerin temel yapısını oluşturmaktadır. *S. aureus* suşlarının çok büyük bir kısmında bulunan penisilinaz enzimi, β -laktam halkasında bulunan hidroksil grubunu parçalar ve bu şekilde bakteri antibiyotiklere dirençli hale gelir (Bal, 2003; Winn vd., 2006; Kuyucu, 2009; Lade ve Kim, 2023).

1.1.5.10. Eksfoliyatif Toksinler

Epidermolitik toksin olarak da bilinen eksfoliyatif toksinlerin (ET) ET-A ve ET-B olmak üzere iki türü bulunmaktadır. *S. aureus* suşlarının yalnızca % 0-2'sinin bu toksinlerin üretiminden sorumlu geni taşıdığı bildirilmiştir. Hücre dışı etki gösteren bu toksinler, proteolitik özellikleri sayesinde epidermin mukopolisakkarit matriksini parçalayarak, etkenin epidermin üst kısmında tutunmasını sağlarken, hücrenin direkt ölümüne, membran lizisine veya enflamatuvar cevaba yol açmazlar (Winn vd., 2006; Que ve Moreillon, 2010).

1.1.5.11. Enterotoksinler

Polipeptid yapıda ve termostabil özellikteki Stafilokokal enterotoksinlerin (SE), SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEG, SEH, SEI, SEJ, SEK, SEL, SEM, SEN, SEO, SEQ, SER ve SET olmak üzere 17 tipi bulunmaktadır. İnsanlarda özellikle gıda zehirlenmeleriyle ilişkili bu toksinler, genellikle enterotoksijenik *S. aureus*'ların belirli bir sayıya ulaşmalarıyla ($>10^6$ kob/g) sentezlenirler. Suşun çeşidi, gıdanın özelliği, sıcaklık faktörleri, fiziksel ve kimyasal diğer bileşenler ile inhibitör mevcudiyeti toksinin oluşumunda rol oynar. Gıda zehirlenmelerinde en fazla rastlanılan toksin A tipi olup, kontamine süt ürünlerinde ise genellikle C ve D tipleri bulunur (Erol, 2007).

Enterotoksinler, makrofaj ve yardımcı T lenfositlerden (Th) IL-1 ve IL-2 salınımını uyararak, sindirim sisteminde süperantijen gibi etki gösterebilirler. Bu toksinler, gıda zehirlenmeleriyle birlikte farklı hastalıklara, alerjik reaksiyonlara, artrit ve toksik şok sendromuna sebep olabilirler (Winn vd., 2006; Erol, 2007; Que ve Moreillon, 2010; Gladwin vd., 2022).

1.1.5.12. Toksik Şok Sendromu Toksini-1 (TSST-1)

Protein yapıda olan toksik şok sendromu toksini-1 (TSST-1), T lenfositlerin proliferasyonunu, IL-1, interferon- γ ve tümör nekrozis faktör salınımını uyararak, süper antijen özelliği gösterir. Bu sitokinlerin salınımı ateş, diyare, eritrodermi, mental konfüzyon, refrakter hipotansiyon, hipovolemik şok nedenli çoklu organ yetmezliğine bağlı ölüm tablosu gibi toksik şok sendromunun klinik belirtilerini ortaya çıkarır (Winn vd., 2006; Ross ve Shoff, 2023).

1.1.5.13. Alfa Hemolizin (Alfa toksin)

S. aureus'ların temel hemolizini olan bu toksin, membran hasarına en çok sebep olan proteindir. Antijenik, hemolitik, dermonekrotik, sitolitik özelliklere sahip ve formolle toksoide hale dönüştürülebilen alfa toksin, kanlı agarda üretilen *S. aureus* kolonilerinin çevresinde tam hemoliz gerçekleştirir. Makrofaj ve trombosit hücre membranları üzerinde yıkıcı etkiye sahip olan toksin, monositlerde aynı etkiyi göstermez. Alfa toksin, konak hücrenin membranında hidrofobik bölgelerde 1-2 nanometre (nm) büyüklüğünde porlar oluşmasını sağlar. Zamanla bu porlardan potasyumun hücre dışına atılımı ve sodyum, kalsiyum ve diğer küçük moleküllerin hücre içine girişi ile hücre şişerek parçalanır (Tang ve Stratton, 2010).

1.1.5.14. Beta Hemolizin (Beta Toksin)

Eritrosit, lökosit ve fibroblast hücreleri üzerinde etkili olan bu toksinin etkisinin, eritrositlerin düşük ısıya maruz kalmasıyla artış göstermesi sebebiyle bu toksin "sıcak-soğuk hemolizin" olarak da bilinir. İnvaziv stafilokok enfeksiyonlarında görülen tipik apse oluşumu ve doku hasarında alfa hemolizinle birlikte görev alır (Müştak ve Esendal, 2008).

1.1.5.15. Gama Hemolizin (Gama Toksin)

Lökositleri lize edebilen gama toksinin enfeksiyonların patogenezindeki rolü tam olarak bilinmemekle birlikte, nötrofiller üzerindeki sitotoksik etkisi enfeksiyonun başlangıç aşamaları ile ilişkilendirilir (Zhu vd., 2024).

1.1.5.16. Delta Hemolizin (Delta Toksin)

Deterjana benzer bir etkiyle eritrosit, lökosit, makrofaj, lenfosit ve trombositler üzerinde hücre membranında hasara yol açan delta toksin, *S. aureus* suşlarının %97'sinde bulunur. Delta toksin üretiminin *S. aureus* suşları arasında değişkenlik gösterdiği, metisiline duyarlı suşların dirençli suşlara göre daha fazla toksin üretimi gerçekleştirdiği bildirilmiştir. Bu toksinin toksik şok sendromu ve Stafilokok nedenli gıda zehirlenmelerinde diyare semptomlarının gelişmesinde rol aldığı düşünülmektedir (Dinges vd., 2000; Prévost vd., 2006; Su vd., 2020).

1.1.5.17. Panton-Valentine Lökosidin (PVL)

Nötrofiller ve makrofajlar üzerinde lökotoksik ve sitolitik etkiye sahip lükosidinler, molekül ağırlığı 32 kDa olan fast (F) ve 35 kDa olan slow (S) olmak üzere iki polipeptid zincirinden oluşur. Toksinlerin sitolitik etki mekanizması; hedef hücrede por oluşturup, hücre membranından potasyum başta olmak üzere katyon geçirgenliğini artırarak, lökosit sitoplazmasını degranülasyona uğratarak erimesine sebep olmak üzerine kuruludur (Kaneko ve Kamio, 2004; Meyer, 2009; Arslan vd., 2016). *S. aureus*'un en önemli lükosidini PVL olup, insanlarda nekrotizan deri enfeksiyonları, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, nekrotizan pnömoni ve tekrarlayan osteomyelitler ile ilişkilendirilmektedir (Monecke

vd., 2007; Müştak ve Esendal, 2008; Lo ve Wang, 2011). Ayrıca PVL, hayvanlardan izole edilmiş olan *S. aureus* izolatlarında da varlığı bildirilen bir toksindir (Şeker vd., 2019; Seker vd., 2023). Bu toksin ayrıca, MRSA enfeksiyonlarının patogenezinde de önemli bir virülans faktörü olarak kabul edilmektedir (Kaneko ve Kamio, 2004; Meyer, 2009; Arslan vd., 2016).

1.1.5.18. Biyofilm Oluşturma

Biyofilm, canlı ve cansız bir alt tabakaya geri dönüşümsüz olarak bağlanmayı ve yapışmayı kolaylaştıran bir mikroorganizma topluluğu olarak tanımlanabilir. Proteinler, polisakkaritler ve DNA gibi polimerik maddelerden oluşan biyofilmler; çevresel strese, bağışıklık tepkilerine, fagositoza direnç ve antimikrobiyal ajanlara karşı koruma sağlayarak antibiyotik direncinin artmasına sebep olur (Silva de Jesus vd., 2022; Gür Vural vd., 2023).

Biyofilm oluşumu, *S. aureus*'un konağa ilk bağlanmasını, mikrokoloni gelişimini, matris üretimini ve yayılmasını da etkiler. Bu da enfeksiyonun yayılması ve konakta kalıcı olmasına yardımcı olur (Vázquez-Sánchez ve Rodríguez-López, 2018; Idrees vd., 2021; Gür Vural vd., 2023).

1.2. Metisilin Etki Mekanizması ve Metisiline Direnç Mekanizması

Alexander Fleming 1928 yılında penisilini keşfetmiş, 1940 yılında ise penisilinin üretimi Foray ve Chain tarafından gerçekleştirilmiştir. Penisilinin üretimi, Stafilokok enfeksiyonlarının tedavisinde büyük bir başarı olarak değerlendirilmiştir. Ancak, *Staphylococcus* türlerinin neden olduğu enfeksiyonlarda bu antibiyotiğin sürekli kullanımı sonucu, penisilinaz üreterek penisilini paçalayabilen ve antibiyotiğe direnç geliştiren suşların varlığı 1944 yılında Kirby tarafından tespit edilmiştir. Stafilokoklarda gittikçe artan penisilin direnci farklı antibiyotiklerin kullanımına da sebep olmuş, penisilinin yanı sıra, 1950'li yıllarda eritromisin, streptomisin, tetrasiklin gibi antibiyotiklere direnç gösteren suşlar da ortaya çıkmıştır. Ardından, 1959 yılında *S. aureus* suşları tarafından üretilen penisilinaz enzimine dayanıklı yarı sentetik bir penisilin

türevi olan metisilin üretilerek, dirence bir süreliğine çözüm sağlanmıştır. Ancak, kullanıma sunulan metisilin kalıcı çözüm olamamış ve 1961 yılında İngiltere’de ilk MRSA suşları tanımlanmıştır. Takip eden süreçte, MRSA suşlarında ortaya çıkan “çoklu antibiyotik direnci” sorunu giderek yaygınlaşmış, hastanelerde ve toplumda yayılan dirençli bakteriler epidemilere yol açmıştır (Deurenberg vd., 2007; Stefani ve Goglio, 2010; Idrees, 2023).

Tüm β -laktam grubu antibiyotikler ve metisilin; bakterinin hücre duvarı sentezinde görev alan ve "penisilin bağlayan proteinler (Penicillin binding proteins, PBPs)" olarak bilinen proteinlere bağlanıp transpeptidaz ve karboksipeptidazı inhibe ederler. Böylelikle, peptidoglikanda çapraz bağlanma reaksiyonunun engellenmesi sonucu hücre duvarı gelişimi zayıflar ve bakteri hücre bütünlüğünü koruyamayarak canlılığını kaybeder (Stapleton ve Taylor, 2002).

S. aureus izolatlarında β -laktam grubu antibiyotiklere direnç gelişimini sağlayan faktör β -laktamaz enzimidir. Bakterideki bu enzim, antibiyotiğin ana etki mekanizmasını oluşturan β -laktam halkasını hidrolize edip, β -laktamı inaktif hale getirir. Bu enzim tipik olarak bir plazmid üzerindeki transpozonda bulunan *blaZ* geni tarafından kodlanmakta olup, gelişen direnç plazmid kaynaklı bir direnç olarak tanımlanmaktadır (Peacock ve Paterson, 2015).

Metisilin direnci β -laktam grubu antibiyotiklerin (metisilin, oksasilin, kloksasilin, dikloksasilin), β -laktamaz enzimi ile hidrolize olmamasıyla gelişen direncin genel ifadesi olarak kabul edilmektedir (Chambers, 1997; Ünal, 2009; Doğan vd., 2018). *S. aureus*’ta metisilin direnci, β -laktamaz aracılığı ile değil, kromozomal yolla ortaya çıkan bir direnç şekli olup, temel direnç mekanizması PBP’ler ile ilişkilidir (Stapleton ve Taylor, 2002; Peacock ve Paterson, 2015).

S. aureus’un PBP1, PBP2, PBP3 ve PBP4 olmak üzere dört tane PBP’si bulunur (Peacock ve Paterson, 2015). MRSA izolatlarında PBP2’nin değişikliğe uğramış formu olan ve “PBP2a” olarak adlandırılan farklı bir protein bulunur. Diğer PBP’den farklı olarak PBP2a, β -laktam antibiyotiklere daha düşük seviyede afinite gösterir ve β -laktam

grubu antibiyotiklerin varlığında yüksek affinite gösteren PBP'leri tanıyarak bakteride peptidoglikan sentezinin devam etmesini sağlar (Deurenberg vd., 2007; Doğan vd., 2018; Idrees, 2023). Sonuç olarak PBP2a, β -laktam grubu antibiyotiklere gösterdiği düşük affinite ile *Staphylococcus* türlerinde metisilin direncinin ortaya çıkmasına sebep olur. PBP2a ve dirençten sorumlu regülatör proteinler, kromozomal DNA'nın "mec" olarak tanımlanan bölgesinde yer alan ve 40-60 Kilobaytlık (Kb) Stafilokokal kromozom kaseti *mec* (Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*, SCC*mec*) içerisinde taşınan *mecA* geni tarafından kodlanırlar. Bu nedenle, *Staphylococcus* cinsi içerisinde yer alan suşlarda metisilin direncinden sorumlu olan başka genler de (*mecB*, *mecC*, *mecD*) bulunmasına rağmen, MRSA izolatlarını tanımlamada genellikle *mecA* geninin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile identifikasyonu en yaygın kullanılan tekniktir (Pinho vd., 2001; Ito vd., 2014; Peacock ve Paterson, 2015; Hamilton ve MacGowan, 2019; Urushibara vd., 2020; González-Machado vd., 2024).

Bazı çalışmalarda *S. aureus* izolatlarının *mecA* geni taşımadan da sefoksitin gibi metisilin direncini fenotipik olarak belirlemede kullanılan antibiyotiklere direnç gösterebildiği saptanmıştır. Bu duruma, *mecA* geninin homoloğu olabilecek başka bir gen ve farklı β -laktam direnci sağlayabilen faktörlerin neden olabileceği bildirilmiştir. İlk kez 2007 yılında İngiltere'de inek sütü tanklarından izole edilen, MRSA olduğu fenotipik olarak doğrulanmış, ancak *mecA* geni taşımayan izolatlar moleküler analizler yapılmış ve analiz sonucunda bu izolatların, daha önce tanımlanan *mecA* genine DNA homologluğu açısından %70, aminoasit düzeyinde ise %63 benzerlik gösteren başka bir gene sahip olduğu tespit edilmiştir (García-Álvarez vd., 2011; García-Garrote vd., 2014). Yapılan moleküler araştırmalar bu *mecA* homoloğu genin, tip-XI SCC*mec* olarak adlandırılan kromozom kasetinde yer alan LGA251 genomu içerisinde bulunduğunu göstermiştir (García-Álvarez vd., 2011). Bu yeni gen, *mecA* geni ile benzer regülatör mekanizmalara sahip olması ve *mecA* geni ile yüksek oranda homologluk göstermesi sebebiyle *mecC* (*mecA*_{LGA251}) olarak adlandırılmıştır. Bu genin, PBP2c'yi kodladığı, *mecA* geni tarafından kodlanan PBP2a gibi β -laktam antibiyotik direnciyle ilişkili olduğu, ancak PBP2a'dan farklı özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir (García-Álvarez vd., 2011; Ariza-Miguel vd., 2014; Paterson vd., 2014; Dhaouadi vd., 2020; Hou vd., 2023). Ayrıca, *S. aureus* izolatlarında *mecA*'yı tespit etmekte kullanılan birçok standart ve ticari tanı

yönteminin, *mecC*-pozitif MRSA'yı (*mecC*-MRSA) tespit etmekte başarısız olduğu ve bu yöntemlerin *mecC* geni tespitinde kullanılmaması gerektiği belirtilmiştir (García-Álvarez vd., 2011; Ariza-Miguel vd., 2014).

mecC-MRSA izolatlarının, ilk izole edildiği yıldan sonra, 13 Avrupa ülkesinde (Avusturya, Belçika, Danimarka, Finlandiya, Fransa, Almanya, Norveç, İrlanda Cumhuriyeti, İspanya, İsveç, İsviçre, Hollanda ve İngiltere) belirlendiği, evcil hayvanlar, çiftlik hayvanları ve yaban hayatı hayvanları da dahil olmak üzere 14 hayvan türünden izole edildiği ve özellikle süt ineklerinin önemli bir konakçı ve kaynak olduğu bildirilmiştir (García-Álvarez vd., 2011; Ariza-Miguel vd., 2014; Paterson vd., 2014; Bietrix vd., 2019; Alves vd., 2020). Ayrıca, yapılan araştırmalarda, *mecC*-MRSA izolatlarının zoonotik potansiyeline dair kanıtlar sunulmuştur (Harrison vd., 2013; Petersen vd., 2013).

S. aureus izolatlarında metisilin direnci, fenotipik olarak **homojen direnç**, **heterojen direnç** ve **eagle-tip direnç** olmak üzere üç farklı şekilde ortaya çıkabilmektedir. Homojen direnç görülen *S. aureus*'larda kolonideki her bakteri aynı şekilde dirençlidir, hepsinde *mecA* geni aktif olarak bulunur ve PBP2a sentezlenir. Laboratuvar izolasyon uygulamalarında en sık karşılaşılan heterojen dirençte, kolonideki tüm bakterilerde *mecA* geni bulunmasına rağmen, yüksek direnç 10^6 - 10^8 bakteriden birinde belirlenir. Eagle-tip dirençte ise, düşük metisilin konsantrasyonunda (2-16 µg/ml) izolatlar antibiyotiğe duyarlı iken, antibiyotiğin yüksek konsantrasyonunda (64-512 µg/ml) direnç gösterirler. Bu direnç, sağlam *mecA* regülatör genlerin yüksek konsantrasyonlarda PBP2a sentezini indüklemesiyle geliştiği düşünülmektedir (Salmenlinna, 2002; Derbentli, 2005; Prasetyoputri vd., 2018).

S. aureus izolatlarında fenotipik metisilin direncinin ortaya çıkışı aşırı β- laktamaz salgılanması ile de ilişkilendirilmektedir. Özellikle heterojen direnç gösteren izolatlarda ortaya çıkan bu direnç "**borderline (sınırdaki) direnç**", bu direnci gösteren *S. aureus* izolatları ise "**borderline dirençli S. aureus (borderline resistant S. aureus, BORSA)**" olarak isimlendirilmiştir (Maalej vd., 2010). Bunun yanı sıra, PBP'lerde görülen yapısal değişikliklerin de metisilin direncine sebep olabildiği bildirilmektedir. β- laktamazı

üretmeyen ve *mecA* geni de taşımayan, ancak metisiline düşük düzeyde dirençli olan suşların, PBP'lerindeki DNA bazlı değişikliklerle direnç özelliği kazandığı düşünülmektedir. β -laktam antibiyotiklere düşük afinite gösteren bu suşlar "**Modified resistant *S. aureus* (MODSA)**" olarak isimlendirilmektedir (Jehl vd., 2003; Gitman vd., 2021).

1.3. Tek Sağlık Yaklaşımı ve Antimikrobiyal Direnç

Tek Sağlık yaklaşımı, Dünya Sağlık Örgütü tarafından “Halk sağlığı sonuçlarının iyileştirilmesi amacıyla birbirinden farklı meslek gruplarının birlikte çalıştığı programların, mevzuatların ve araştırmaların planlanması ve uygulanmasına yönelik bir yaklaşım” olarak tanımlanmaktadır. Bu yaklaşımda; insan, hayvan ve çevre sağlığının birbirleri ile etkileşimde olduğunu kabul ederek, çevre sağlığının insan ve hayvan sağlığı üzerindeki etkilerine dair farkındalık yaratmak ve sürdürülebilir uygulamalarla çevre sağlığını korumak amaçlanmaktadır. Tek Sağlık yaklaşımı, sağlık hizmeti olarak sadece tedaviyle sınırlı kalmayarak, hastalık risklerinin azaltılması ve sağlıklı yaşam tarzını destekleyerek yaşam kalitesinin artırılması gibi koruyucu önlemler alınmasını teşvik etmektedir (Pitt ve Gunn, 2024). Bu nedenle de Tek Sağlık yaklaşımı; zoonotik hastalıklar, çevre güvenliği, gıda güvenliği, vektör kaynaklı hastalıklar ve antimikrobiyal direnç gibi sağlık sorunlarında disiplinlerarası işbirlikçi bir çabaya vurgu yapmaktadır (Cella vd., 2023).

Antimikrobiyal direnç; küresel sağlık, ekonomi ve güvenlik için tehdit oluşturan çok yönlü bir problemdir. İnsanlarda, hayvanlarda, yiyeceklerde, bitkilerde ve çevrede (suda, toprakta ve havada) bulunan antimikrobiyal dirençli mikroorganizmalar, insandan insana veya hayvansal orijinli gıdalar da dahil olmak üzere insanlar ve hayvanlar arasında yayılabilmektedir (İnt. Kyn. 1). Antimikrobiyal direnç açısından endişe verici kısım, mevcut antimikrobiyallerle tedavi edilemeyen enfeksiyonlara neden olan çoklu ilaç direnci gösteren mikroorganizmaların hızla ve küresel olarak yayılmasıdır. Antibiyotiklerin nonspesifik ve aşırı kullanımı, insan ve hayvanların temiz suya, hijyene erişim zorluğu, hastanelerde enfeksiyonları önlemede yetersiz uygulamalar, ilaca ve aşılarla erişim yetersizliği, farkındalık ve bilgi eksikliği ile mevzuatta düzensizlikler,

antimikrobiyal direncin yayılmasında rol oynayan faktörler olarak bildirilmektedir (Velazquez-Meza vd., 2022).

Süt ve süt ürünlerinde MRSA varlığı; izolatların potansiyel patojenitesi, izolatlarda toksin ve antibiyotik direnciyle ilişkili genlerinin varlığı ve bu genlerin aktarılabilir olması, sıklıkla kullanılan antibiyotiklere karşı çoklu ilaç direnci görülebilmesi ve MRSA izolatlarının zoonotik potansiyeli nedeniyle halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike olarak kabul edilmektedir (Badawy vd., 2022; Szczuka vd., 2022; Titouche vd., 2022; Elal Muş vd., 2023).

Türkiye'de çeşitli peynirlerden MRSA izolasyonuna ilişkin yapılan araştırmaların genellikle *mecA* geni varlığını tespit etmeye yönelik olduğu (Özpınar ve Gümüşsoy, 2013; Can vd., 2017; Ektik vd., 2018; Demirsıkan ve Tuncer, 2021), ancak peynirlerden izole edilen *S. aureus* izolatlarında *mecC* geni varlığının araştırıldığı çalışma sayısının ise sınırlı olduğu (Mercanoglu Taban vd., 2021; Kocak Kızanlık ve Göksoy, 2024) dikkat çekmektedir. Bu nedenle, sunulan Tez çalışmasında Uşak ilinden örneklenen tulum peynirlerinde MRSA varlığının, *mecA* ve *mecC* genlerinin araştırılmasıyla belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Tulum Peyniri Örneklerinin Toplanması

Tez çalışmasında, Temmuz 2023-Ocak 2024 tarihleri arasında Uşak ili merkez, yakın ilçe ve köylerinde bulunan halk pazarları ziyaret edilerek, pazarlarda açık olarak satışa sunulan farklı orijinli toplam 100 tulum peyniri örneği kullanıldı. Her bir tulum peynirinden aseptik koşullarda 25'er g numune alınarak, örnekler steril numune kaplarına aktarıldı. Örnekler, soğuk zincirde Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına ulaştırıldı. Laboratuvara ulaştırılan örneklerden aynı gün içerisinde izolasyon çalışmalarına başlandı. Tulum peyniri örneklerinin toplandığı yerler Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

2.1.2. Standart Suşlar

Tez çalışmasında *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA; *mecA* gen pozitif) ve *S. aureus* ATCC 25923 (MSSA; 16S rDNA ve *nuc* genleri pozitif, *mecA* gen negatif) suşları, kontrol suşları olarak kullanıldı.

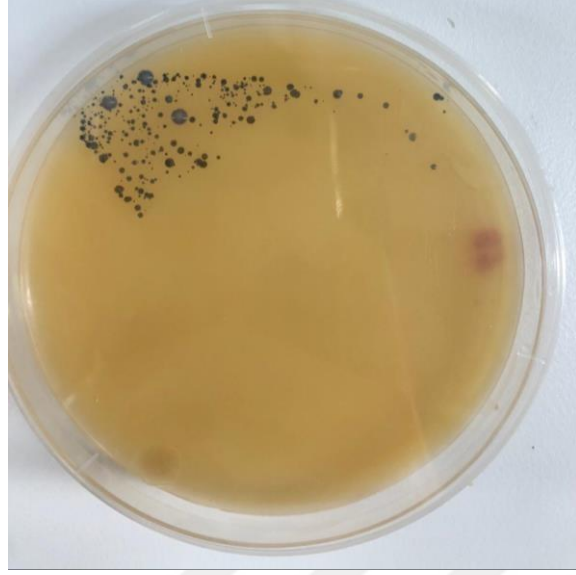
Çizelge 2.1: Numunelerin toplandığı yerler

Numune No	Toplandığı Yer	Numune No	Toplandığı Yer	Numune No	Toplandığı Yer
1	Ulubey	35	Karahallı	69	Uşak- Merkez
2	Ulubey	36	Karahallı	70	Uşak- Merkez
3	Ulubey	37	Ulubey	71	Uşak- Merkez
4	Ulubey	38	Ulubey	72	Uşak- Merkez
5	Sivaslı	39	Ulubey	73	Uşak- Merkez
6	Sivaslı	40	Ulubey	74	Sivaslı
7	Sivaslı	41	Ulubey	75	Sivaslı
8	Sivaslı	42	Ulubey	76	Sivaslı
9	Sivaslı	43	Banaz	77	Sivaslı
10	Sivaslı	44	Banaz	78	Sivaslı
11	Sivaslı	45	Banaz	79	Sivaslı
12	Uşak- Merkez	46	Banaz	80	Sivaslı
13	Uşak- Merkez	47	Banaz	81	Eşme
14	Uşak- Merkez	48	Banaz	82	Eşme
15	Uşak- Merkez	49	Banaz	83	Eşme
16	Uşak- Merkez	50	Eşme	84	Eşme
17	Uşak- Merkez	51	Eşme	85	Eşme
18	Uşak- Merkez	52	Eşme	86	Eşme
19	Uşak- Merkez	53	Eşme	87	Banaz
20	Uşak- Merkez	54	Eşme	88	Banaz
21	Uşak- Merkez	55	Eşme	89	Ulubey
22	Uşak- Merkez	56	Eşme	90	Ulubey
23	Uşak- Merkez	57	Eşme	91	Ulubey
24	Uşak- Merkez	58	Eşme	92	Karahallı
25	Uşak- Merkez	59	Eşme	93	Karahallı
26	Uşak- Merkez	60	Uşak- Merkez	94	Karahallı
27	Uşak- Merkez	61	Uşak- Merkez	95	Karahallı
28	Uşak- Merkez	62	Uşak- Merkez	96	Uşak- Merkez
29	Uşak- Merkez	63	Uşak- Merkez	97	Uşak- Merkez
30	Uşak- Merkez	64	Uşak- Merkez	98	Uşak- Merkez
31	Karahallı	65	Uşak- Merkez	99	Uşak- Merkez
32	Karahallı	66	Uşak- Merkez	100	Uşak- Merkez
33	Karahallı	67	Uşak- Merkez		
34	Karahallı	68	Uşak- Merkez		

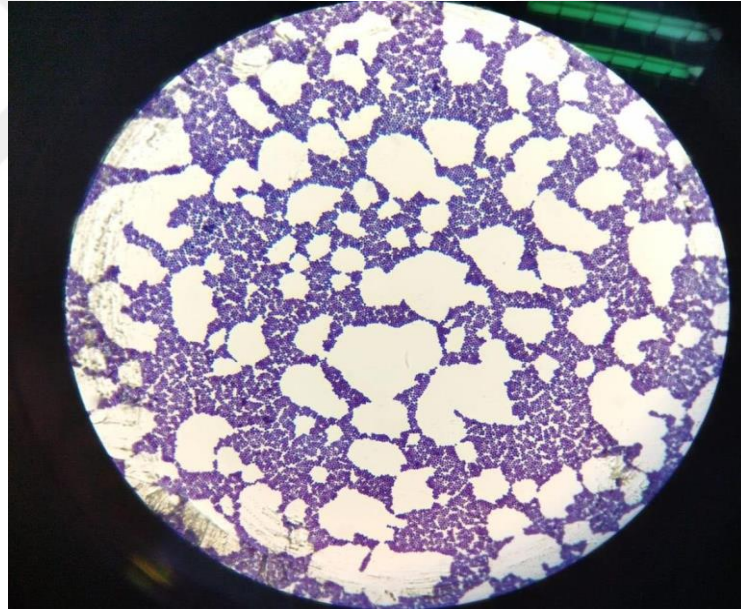
2.2. Metot

2.2.1. Örneklerden *S. aureus*'un Fenotipik İzolasyonu

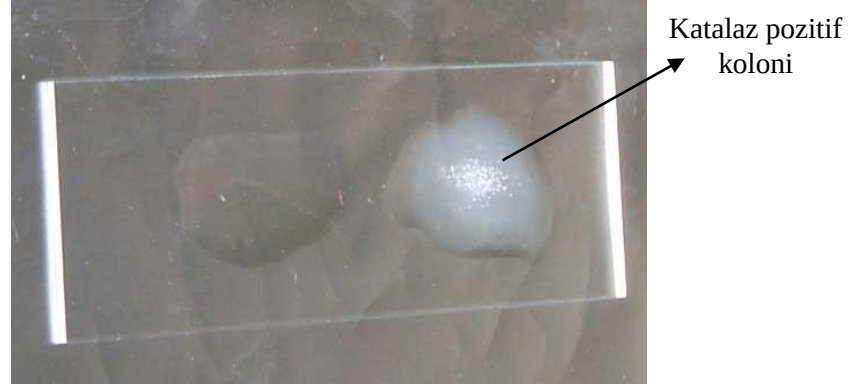
Soğuk zincirde laboratuvara getirilen her bir tulum peyniri numunesinden 10 g alındı ve örnekler 90 mL %0,1'lik steril tamponlanmış peptonlu su (Chemsolute, Çek Cumhuriyeti) içerisinde homojenize edildi. Homojenize edilmiş her bir karışımdan 1 mL alınarak, içerisinde 9 mL Brain Heart Infusion Broth (BHIB) (Merck, Almanya) bulunan tüplere aktarıldı ve aerobik olarak 37 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon işlemi sonrasında tüpler vortekslendi, ön zenginleştirme sıvısından 10 µL alındı ve örnekler üretici firmanın önerisi doğrultusunda içerisine Egg-yolk tellurite emülsiyonu (%20) (50 mL/1 L) (Chemsolute, Çek Cumhuriyeti) eklenen Baird Parker agara (BPA) (Chemsolute, Çek Cumhuriyeti) ekildi. Ekimi yapılan örnekler 37 °C'de aerobik koşullarda 24-48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında agarlar, etrafı mat ve donuk bir zonla çevrili, gri-siyah renkli olarak üreyen kolonilerin varlığı yönünden incelendi. Agarlarda bu özelliklere sahip en az beş koloni olarak üreme gösteren örnekler *S. aureus* yönünden şüpheli olarak kabul edildi. Şüpheli koloniler Tryptic Soy Broth (TSB) (Merck, Almanya) içerisine aktarıldı ve tüpler aerobik koşullarda, 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Süre sonunda her bir TSB'den bir öze dolusu alınarak Tryptone Soy Agar'a (TSA) (Chemsolute, Çek Cumhuriyeti) ekim yapıldı ve petriler 37 °C'de 24 saat inkübasyona kaldırıldı. Ardından, üreyen kolonilerin, koloni morfolojisi, Gram boyanma özelliği, oksidaz, lamda katalaz, lamda ve tüpte koagülaz aktiviteleri ile glukozu fermente etme ve mannitolü anaerobik fermente etme yetenekleri (Oksidasyon/Fermentasyon, O/F testi) değerlendirildi. Gram pozitif kok şeklinde morfolojiye sahip, oksidaz negatif, katalaz ve koagülaz aktiviteleri pozitif, O/F testlerinde fermentatif reaksiyon veren bakteriler, *S. aureus* yönünden şüpheli kabul edildi (Quinn vd., 2004; Arda, 2011; Gezgen ve Seker, 2016; Horasan Yakan ve Şeker, 2021). Fenotipik karakterlerine göre *S. aureus* şüpheli olarak tanımlanan izolatlar, daha sonra DNA ekstraksiyonunda kullanılmak üzere, %20 oranında gliserin içeren TSB içerisinde -20 °C'de saklandı.



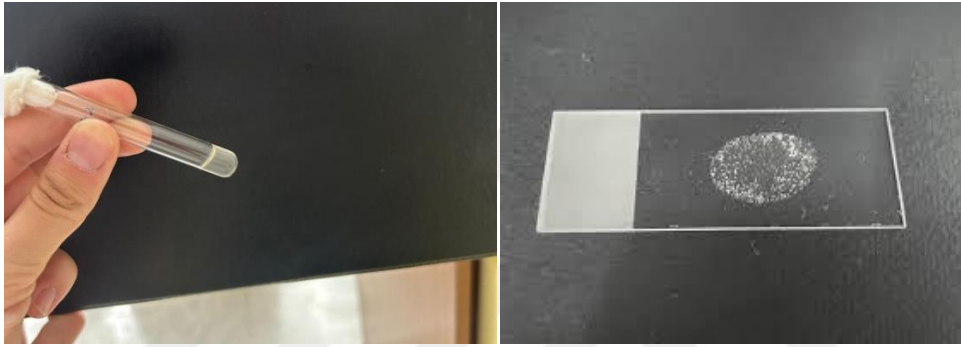
Fotoğaf 2.1: Egg-yolk tellürit ilave edilmiş BPA’da üreyen *S. aureus* şüpheli koloniler



Fotoğaf 2.2: Gram boyaması yapılmış *S. aureus* şüpheli koloninin mikroskopik morfolojisi



Fotoğraf 2.3: Katalaz testi negatif ve pozitif reaksiyonlar



Fotoğraf 2.4: Tüpte ve lamda koagülaz pozitif reaksiyonlar



Fotoğraf 2.5: Oksidasyon/ Fermantasyon testi: Mannitolün anaerobik fermantasyonu

2.2.2. *S. aureus*'un Moleküler İdentifikasyonu

2.2.2.1. DNA Ekstraksiyonu

Kontrol suşları ve *S. aureus* şüpheli test izolatlarının DNA'ları kaynatma yöntemiyle ekstrakte edildi. Bu amaçla, kontrol suşları ve izolatların TSA'da üretilmiş taze ve saf kolonilerinden birer tane seçilip kullanıldı. Seçilen koloniler 500 µL steril distile su bulunduran ve DNaz-RNaz içermeyen ependorflar içerisinde süspanse edildi. Süspansiyonlar benmari tekniği ile 100 °C'de 10 dk kaynatıldı ve ardından soğutmalı santrifüjde 10 000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj işlemi uygulanan her bir süpernatant 300 µL alındı ve DNaz-RNaz içermeyen ependorflara transfer edildi. PZR karışımında hedef DNA olarak kullanılacak olan bu örnekler -20 °C'ye kaldırıldı (Gezgen ve Seker, 2016; Horasan Yakan ve Şeker, 2021).

2.2.2.2. Amplifikasyon Koşulları

Araştırma kapsamında, internal kontrol için *Staphylococcus* cins-spesifik 16S rDNA primerleri (Strommenger vd., 2003) ve *S. aureus* tür-spesifik *nuc* geni primerleri (Kim vd., 2001) kullanıldı. Üretici firmanın sentez raporu doğrultusunda 100 pmol olarak sulandırılan 16S rDNA ve *nuc* forward ve reverse primerleri, ayrı ayrı sulandırılıp 10 pmol yoğunluğuna getirildi. 16S rDNA ve *nuc* genlerinin araştırılmasında ikili PZR protokolü uygulandı. Kullanılan primer dizileri ve beklenen bant büyüklükleri Çizelge 2.2'de gösterilmiştir.

İzolatlarda 16S rDNA ve *nuc* genlerinin belirlenmesi amacıyla, final hacmi toplam 25 µL olacak şekilde hazırlanan PZR karışımını oluşturan bileşenler ve miktarları Çizelge 2.3'te sunulmuştur. Hazırlanmış olan karışımdan her bir örnek için RNaz ve DNaz içermeyen 0,2 mL'lik mini PZR tüplerine 20'şer µL aktarıldı. Karışımların üzerine her bir örnek DNA'sından 5'er µL eklendi. Mini tüpler termal döngüleme cihazına yerleştirildi. Amplifikasyon işlemi sonrasında, ampikonlar ethidium bromid (5 µL/mL) ile boyanan %2'lik agaroz jelde 80 Volt sabit akımda 40 dk elektroforeze tabi tutuldu. Amplifikasyon ürünleri (16S rDNA için 420 bp, *nuc* geni için 270 bp) UV-transilluminatörde görüntülendi.

16S rDNA ve *nuc* genleri için kullanılan amplifikasyon koşulları Çizelge 2.4'te verilmiştir

Çizelge 2.2: Kullanılan primerlere ait oligonükleotid sekansları ve bant büyüklükleri

Hedef Genler	Oligonükleotid sekansları (5'–3')	Bant büyüklüğü (bp)
16S rDNA	CAG CTC GTG TCG TGA GAT GT AAT CAT TTG TCC CAC CTT CG	420
<i>nuc</i>	GCG ATT GAT GGT GAT ACG GTT AGC CAA GCC TTG ACG AAC TAA AGC	270

Çizelge 2.3: 16S rDNA ve *nuc* genleri için hazırlanan PZR karışımı bileşenleri

PZR Bileşenleri	Miktar
Mastermiks (Xpert Fast 2X, GE15.0001)	12,5 µL
MgCl ₂	0,75 µL
16S rDNA-F (10 pmol)	1 µL
16S rDNA-R (10 pmol)	1 µL
<i>nuc</i> -F (10 pmol)	1 µL
<i>nuc</i> -R (10 pmol)	1 µL
Distile su	2,75 µL
Kalıp DNA	5 µL

Çizelge 2.4: 16S rDNA ve *nuc* genleri için kullanılan amplifikasyon koşulları

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süre
Ön denatürasyon	1	94 °C	4 dk
Denatürasyon		94 °C	30 sn
Primer bağlanması	35	57,5 °C	30 sn
Uzama		72 °C	40 sn
Son uzama	1	70 °C	10 dk

2.2.3. *S. aureus* İzolatlarında Metisiline Direncin Belirlenmesi

2.2.3.1. Fenotipik Direncin Belirlenmesi

S. aureus izolatlarında metisiline fenotipik direncin belirlenmesinde Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) tarafından önerilen sefoksitin (30 µg) antibiyotik diski (Oxoid Limited, Hampshire, İngiltere) kullanılarak, izolatlar Mueller-Hinton agarda (Oxoid Limited, Hampshire, İngiltere) Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile test edildi (CLSI, 2023).

Pozitif ve negatif kontrol suşları ile test edilecek *S. aureus* izolatlarına ait saf koloniler, TSB'ye aktarıldı ve brothlar 37 °C'de aerobik koşullarda 24 saat inkübe edildi. Ardından her bir broth yoğunluğu McFarland No. 0,5'e göre ayarlandı ve her bir buyyon kültüründen 0,1 mL alınarak, kültürler steril sıvıplar ile Mueller Hinton agarlara yayıldı. Agar yüzeylerine steril antibiyogram pensleri ile sefoksitin (30 µg) antibiyotik diskleri yerleştirildi. Petriler 35 °C'de aerobik koşullarda 18 saat inkübe edildi. Süre sonunda oluşan zon çapları mm cinsinden ölçüldü. Zon çapı ≥ 22 mm olarak ölçülen izolatlar sefoksitine (metisiline) duyarlı (S), zon çapı ≤ 21 mm olarak ölçülen izolatlar ise sefoksitine (metisiline) dirençli (R) olarak değerlendirildi (CLSI, 2023).

2.2.3.2. Metisilin Direnç Genlerinin (*mecA*, *mecC*) Belirlenmesi

2.2.3.2.1. Amplifikasyon Koşulları

DNA'ları kaynatma yöntemiyle ekstrakte edilen kontrol suşları ve *S. aureus* test izolatlarında metisilin direnç genlerinin araştırılmasında *mecA* genine spesifik primerler (Choi vd., 2003) ve *mecC* genine spesifik primerler (Stegger vd., 2012) kullanıldı. Üretici firmanın sentez raporu doğrultusunda 100 pmol olarak sulandırılan *mecA* forward ve reverse primerleri 20'şer pmol, *mecC* forward ve reverse primerleri ise 50'şer pmol yoğunluklara getirildi. Genlerin belirlenmesinde tekli PZR protokolleri uygulandı. Kullanılan primer dizileri ve beklenen bant büyüklükleri Çizelge 2.5'de gösterilmiştir.

S. aureus izolatlarında *mecA* geninin belirlenmesi amacıyla final hacmi toplam 25

µL olacak şekilde hazırlanan PZR karışımını oluşturan bileşenler ve miktarları Çizelge 2.6'da, *mecC* geninin belirlenmesi amacıyla, final hacmi toplam 25 µL olacak şekilde hazırlanan PZR karışımını oluşturan bileşenler ve miktarları ise Çizelge 2.7'de verilmiştir. Hazırlanmış olan karışımdan her bir örnek için RNaz ve DNaz içermeyen 0,2 mL'lik mini PZR tüplerine 20'şer µL aktarıldı. Karışımların üzerine her bir örnek DNA'sından 5'er µL eklendi. Mini tüpler termal döngüleme cihazına yerleştirildi. Amplifikasyon işlemi sonrasında, ampliconlara ethidium bromid (5 µL/mL) ile boyanan %1,5'luk agaroz jelde 80 Volt sabit akımda 40 dk elektroforez uygulandı. Ampliconlar (*mecA* geni için 314 bp, *mecC* geni için 138 bp) UV-transilluminatörde görüntülendi. Direnç genleri için kullanılan amplifikasyon koşulları Çizelge 2.8'de sunulmuştur.

Çizelge 2.5: Kullanılan primerlere ait oligonükleotid sekansları ve bant büyüklükleri

Hedef Genler	Oligonükleotid sekansları (5'–3')	Bant büyüklüğü (bp)
<i>mecA</i>	CCT AGT AAA GCT CCG GAA	314
	CTA GTC CAT TCG GTC CA	
<i>mecC</i>	GAA AAA AAG GCT TAG AAC GCC TC	138
	GAA GAT CTT TTC CGT TTT CAG C	

Çizelge 2.6: *mecA* geni için hazırlanan PZR karışımı bileşenleri

PZR Bileşenleri	Miktar
Mastermiks (Xpert Fast 2X, GE15.0001)	12,5 µL
MgCl ₂	0,75 µL
<i>mecA</i> -F (20 pmol)	1 µL
<i>mecA</i> -R (20 pmol)	1 µL
Distile su	4,75 µL
Kalıp DNA	5 µL

Çizelge 2.7: *mecC* geni için hazırlanan PZR karışımı bileşenleri

PZR Bileşenleri	Miktar
Mastermiks (Xpert Fast 2X, GE15.0001)	12,5 µL
MgCl ₂	0,75 µL
<i>mecC</i> -F (50 pmol)	1 µL
<i>mecC</i> -R (50 pmol)	1 µL
Distile su	4,75 µL
Kalıp DNA	5 µL

Çizelge 2.8: *mecA* ve *mecC* genleri için kullanılan amplifikasyon koşulları

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık		Süre	
		<i>mecA</i>	<i>mecC</i>	<i>mecA</i>	<i>mecC</i>
Ön denatürasyon	1	94 °C	95 °C	5 dk	5 dk
Denatürasyon		94 °C	94 °C	2 dk	30 sn
Primer bağlanması	35	57 °C	50 °C	2 dk	1 dk
Uzama		72 °C	72 °C	1 dk	1 dk
Son uzama	1	72 °C	72 °C	7 dk	7 dk

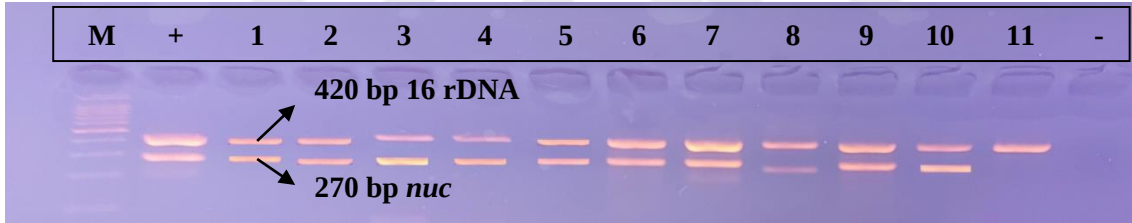
3. BULGULAR

3.1. Fenotipik İzolasyon Bulguları

Sunulan Tez çalışmasında Uşak ili Merkez, yakın ilçe ve köylerdeki halk pazarlarında açık olarak satışa sunulan 100 adet tulum peyniri örneği *S. aureus* izolasyonu bakımından incelendi. Klasik ekim yöntemleri ve standart biyokimyasal testler ile 100 tulum peyniri örneğinden toplam 11 *S. aureus* şüpheli izolat elde edildi.

3.2. Moleküler İdentifikasyon Bulguları

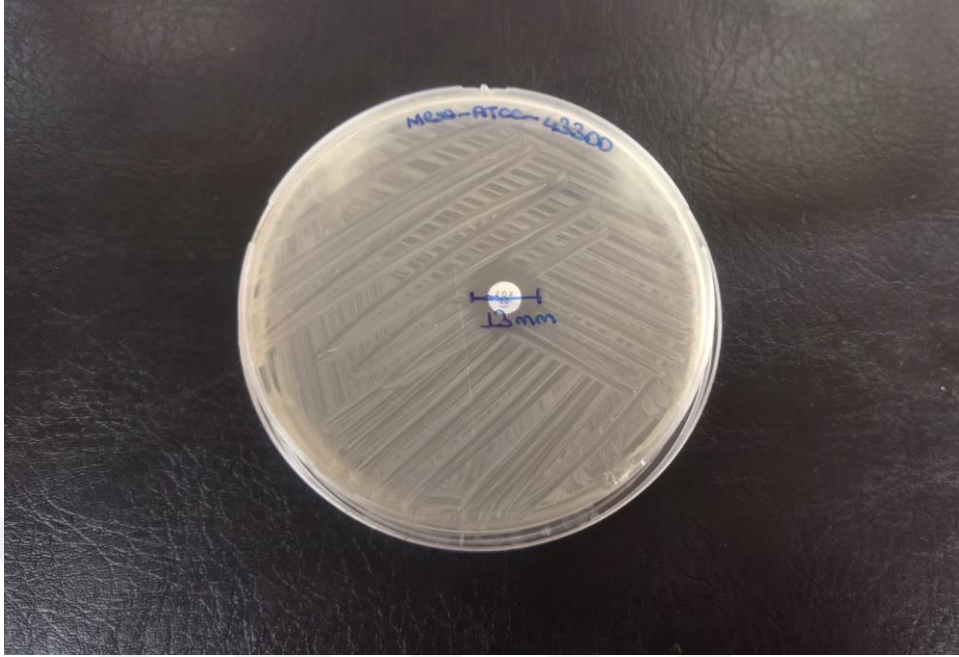
Toplam 100 adet tulum peyniri numunesinden klasik kültür teknikleri kullanılarak izolasyonu gerçekleştirilen 11 şüpheli izolatın tamamının 16S rDNA geni taşıdığı ve *Staphylococcus* cinsine ait olduğu tespit edildi. İzolatların 10'unda *nuc* geni varlığı belirlendi ve 10 izolat *S. aureus* olarak identifiye edildi (Fotoğraf 3.1).



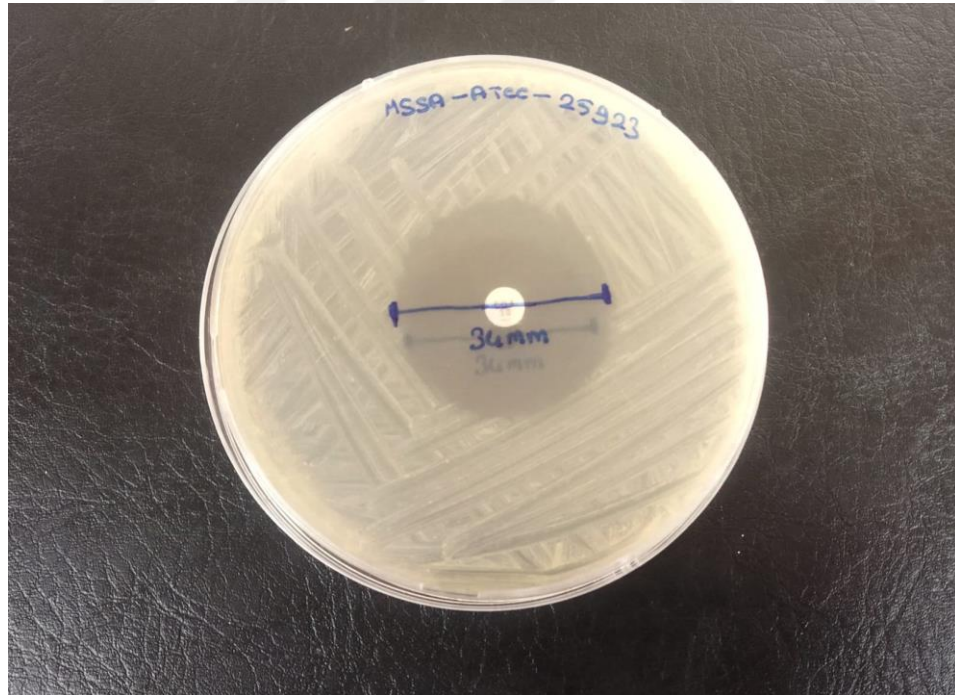
Fotoğraf 3.1: 16S rDNA ve *nuc* genlerine ait PZR bulguları. M: DNA ladder (100 bp); +: *S. aureus* ATCC 25923; 1-11: 16S rDNA pozitif *Staphylococcus* izolatları; 1-10: *nuc* geni pozitif *S. aureus* izolatları; -: steril distile su (negatif kontrol)

3.3. Metisilin Direnci Bulguları

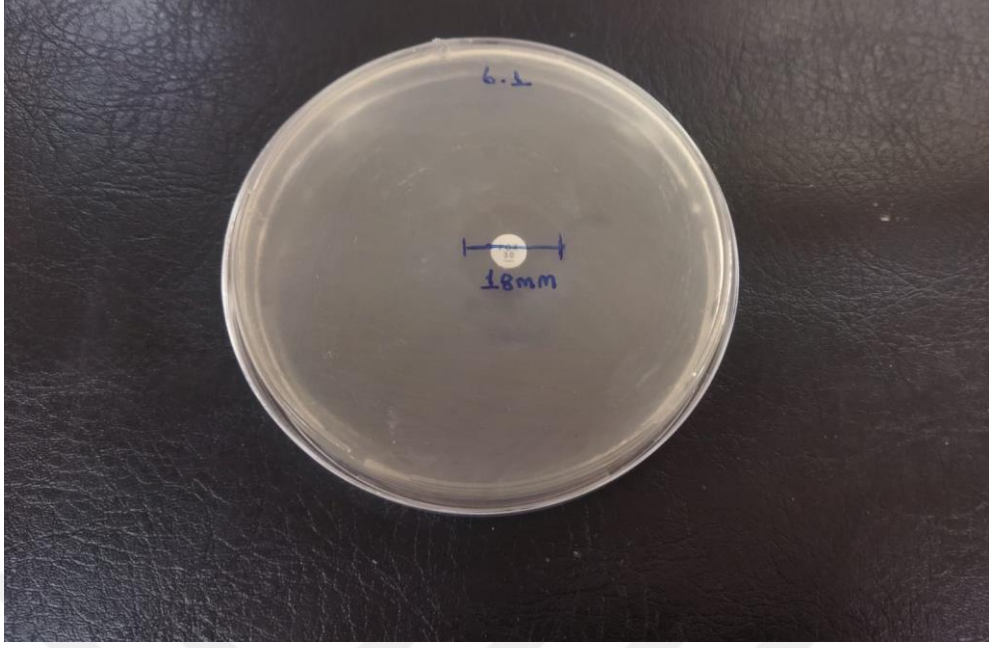
Metisiline direncin fenotipik olarak belirlenmesinde kullanılan sefoksitin diski ile yapılan Kirby-Bauer disk difüzyon testi sonuçlarına göre, *S. aureus* olarak identifiye edilen 10 izolatın beşinde fenotipik direnç belirlendi. Testte pozitif kontrol suşu olarak kullanılan *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA; *mecA* gen pozitif) ve negatif kontrol suşu olarak kullanılan *S. aureus* ATCC 25923 (*mecA* gen negatif) suşları ile fenotipik direnç belirlenen izolatlara ait disk difüzyon testi görselleri sırasıyla Fotoğraf 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7 ve 3.8'de sunulmuştur.



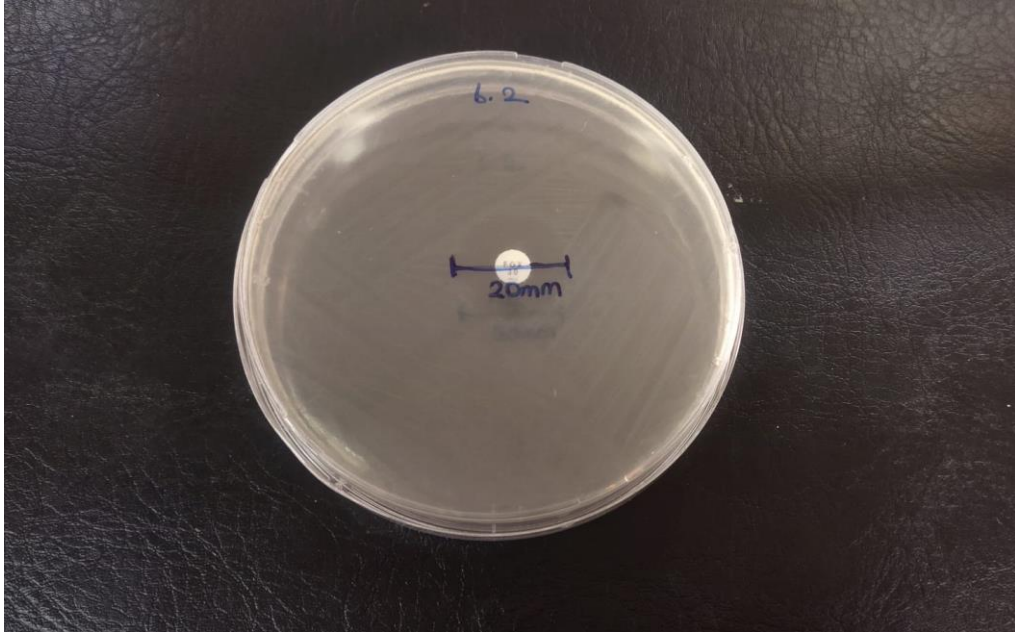
Fotoğraf 3.2: *S. aureus* ATCC 43300 pozitif kontrol suşunun sefoksitin (30 µg) disk difüzyon testi sonucu



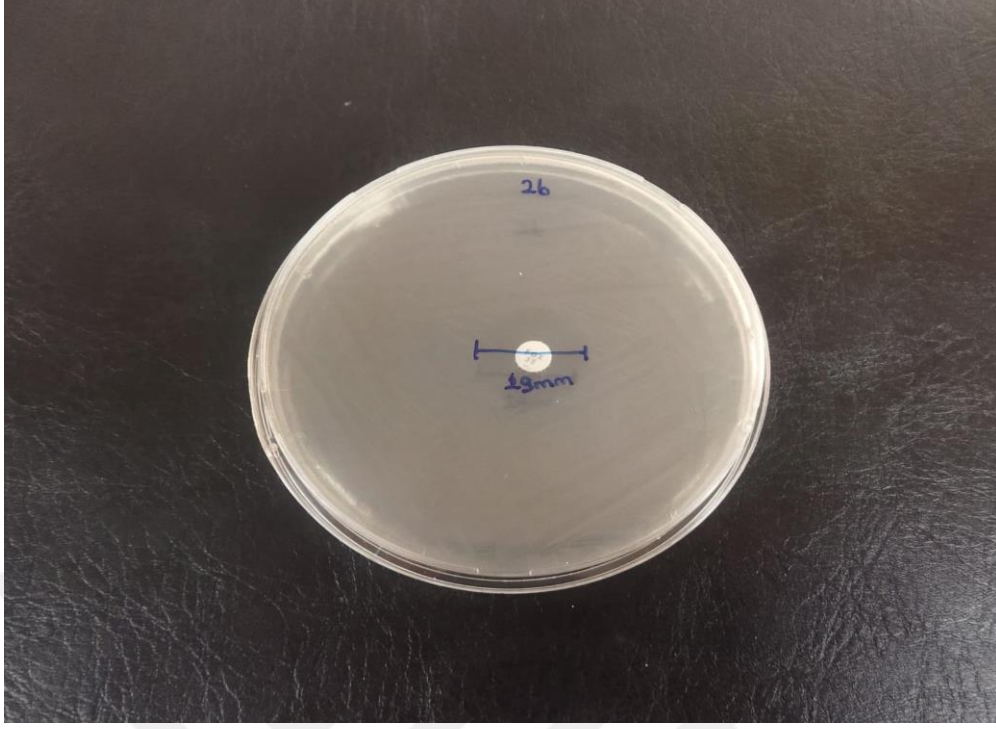
Fotoğraf 3.3: *S. aureus* ATCC 25923 negatif kontrol suşunun sefoksitin (30 µg) disk difüzyon testi sonucu



Fotoğraf 3.4: *S. aureus* izolatının sefoksitin (30 µg) disk difüzyon testi sonucu



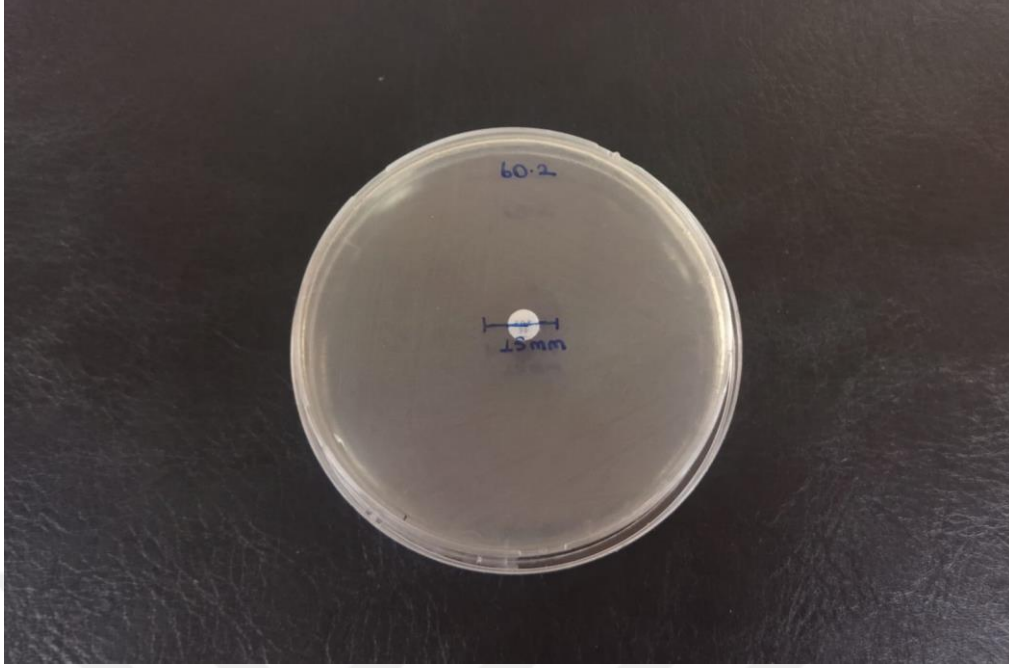
Fotoğraf 3.5: *S. aureus* izolatının sefoksitin (30 µg) disk difüzyon testi sonucu



Fotoğraf 3.6: *S. aureus* izolatının sefoksitin (30 µg) disk difüzyon testi sonucu

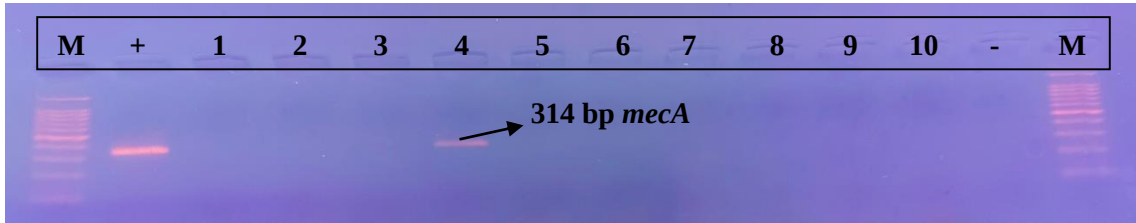


Fotoğraf 3.7: *S. aureus* izolatının sefoksitin (30 µg) disk difüzyon testi sonucu

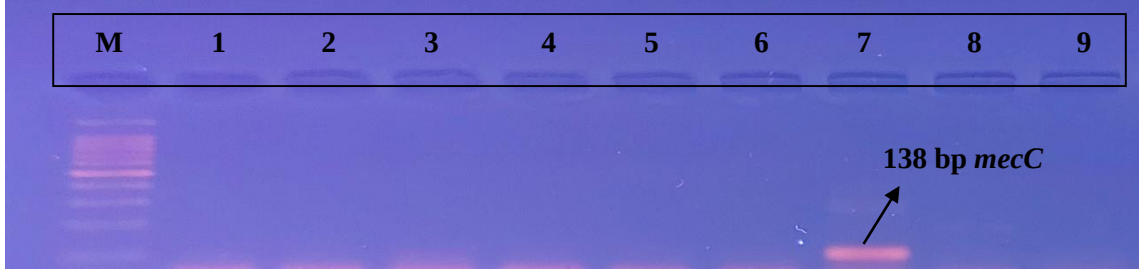


Fotoğraf 3.8: *S. aureus* izolatının sefoksitin (30 µg) disk difüzyon testi sonucu

Metisiline direncin moleküler olarak araştırılmasında kullanılan PZR bulgularına göre, *S. aureus* olarak identifiye edilen 10 izolattan birinin *mecA* geni (Fotoğraf 3.9), birinin ise *mecC* geni (Fotoğraf 3.10) taşıdığı belirlendi. *mecA* geni yönünden pozitif bulunan bir izolat, *mecC* geninin araştırıldığı PZR protokolünde yer almadı. Sefoksitine fenotipik olarak dirençli olan bir izolatın *mecA* geni taşıdığı, bir izolatın ise *mecC* geni taşıdığı belirlendi. Sefoksitine dirençli olduğu belirlenen diğer üç izolatta ise *mecA* ve *mecC* genleri tespit edilemedi.



Fotoğraf 3.9: *mecA* genine ait PZR bulguları. M: DNA ladder (100 bp); +: *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA); 4: *mecA* geni pozitif *S. aureus* izolatı; 1-3, 5-10: *mecA* geni negatif *S. aureus* izolatları; -: *S. aureus* ATCC 25923 (MSSA)



Fotoğraf 3.10: *mecC* genine ait PZR bulguları. M: DNA ladder (100 bp); 1-6, 8,9: *mecC* geni negatif *S. aureus* izolatları; 7: *mecC* geni pozitif *S. aureus* izolatı

4. TARTIŞMA

Süt ve süt ürünleri, içeriğindeki kalsiyum ve çeşitli mineraller yönüyle sağlıklı beslenmenin bir parçası olarak tüketilmesi tavsiye edilen bir besindir (Chagas vd., 2012). İnek, keçi, koyun gibi memeli hayvanlardan sağlanan süttten yoğurt, peynir, dondurma, kaymak gibi ürünler elde edilmektedir. Peynir, çok çeşitli aromalara ve sertliklere sahip süt bazlı bir ürün olup, Türkiye’de çok çeşitli peynir türleri üretilmekte ve en çok beyaz peynir, kaşar peyniri ve tulum peyniri ekonomik değer taşımaktadır (Tarakçı vd., 2015; Özbey, 2020).

Peynirlerin bakteriyel kontaminasyon nedenleri ve gıda kaynaklı toksikasyonlar arasında özellikle *S. aureus*'un ilk sıralarda yer alması (Schelin vd., 2011; Johler vd., 2015; Adame-Gómez vd., 2018; Filipello vd., 2020), çeşitli peynir türlerinde bu bakterinin varlığının araştırılmasına neden olmuştur. Farklı ülkelerde yöresel peynirler veya çiğ süttten yapılmış peynirlerde *S. aureus* prevalansının %14 ile %80 arasında değiştiği belirtilmiştir (Johler vd., 2018; Abdel-Hameid Ahmed vd., 2019; Badawy vd., 2022; de Medeiros vd., 2024) Türkiye’de tulum peynirlerinde yapılan *S. aureus* izolasyonuna yönelik çeşitli araştırmalarda, araştırmacılar farklı izolasyon oranları bildirmişlerdir. Ankara’da çeşitli marketlerden toplanan 100 adet tulum peyniri örneğinden 12 koagülaz pozitif *Staphylococcus* izolatu elde edildiği, bunlardan sadece yedisinin (%7) *S. aureus* olarak doğrulandığı bildirilmiştir (Can ve Çelik, 2012). Özpınar ve Gümüşsoy (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, 100 Erzincan tulum peyniri örneğinden izole edilen 72 şüpheli izolatu 61’i fenotipik yöntemler kullanılarak *S. aureus* olarak tanımlanmıştır. Aynı çalışmada, 61 izolatu tamamının *nuc* genine sahip olduğu bildirilmiş ve 100 örnekten *S. aureus* izolasyon oranı %61 olarak verilmiştir. Ektik vd. (2017) tarafından Balıkesir’de yapılan ve 15 tulum peynirinin örneklendiği bir araştırmada, bir izolatta *nuc* geni saptandığı ve izolatu *S. aureus* olarak doğrulandığı bildirilmiştir. Isparta’da geleneksel ürün satan pazar, mandıra ve marketlerden toplanan 75 tulum peyniri örneği *S. aureus* varlığı yönünden incelenmiş, fenotipik olarak belirlenen 100 *S. aureus* şüpheli izolatu 15’inin (%15) *nuc* genine sahip olduğu rapor edilmiştir (Demirsıkan ve Tuncer, 2021). Mercanoğlu Taban vd. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada, 50 tulum peynirinden izole edilen altı (%12) *S. aureus* izolatu

tamamında *nuc* geni belirlendiği bildirilmiştir. Benzer şekilde, Aydın ilinin çeşitli ilçelerindeki farklı mandıralarda üretilen ve satışa sunulan 50 tulum peynirinden konvansiyonel yöntemler kullanılarak dokuz (%18) *S. aureus* izolatı elde edildiği ve tüm izolatların *nuc* geni yönünden pozitif bulunduğu belirtilmiştir (Taşçıoğlu, 2022). Kocak Kızanlık ve Goksoy (2024) tarafından Aydın ve İzmir illeri mandıra satış noktalarından temin edilen 100 tulum peyniri örneğinden klasik bakteriyolojik yöntemler kullanılarak 18 *S. aureus* şüpheli izolat elde edildiği, 17'sinin (%17) *nuc* genine sahip olması nedeniyle *S. aureus* olarak tiplendirildiği bildirilmiştir.

Sunulan Tez çalışmasında, Uşak ili merkez, yakın ilçe ve köylerinde bulunan halk pazarlarında açık olarak satışa sunulan toplam 100 tulum peyniri örneğinden konvansiyonel yöntemler kullanılarak 11 *S. aureus* şüpheli izolat elde edildi. İzolatlara cins-spesifik ve tür-spesifik primerler kullanılarak uygulanan PZR sonrasında, 11 şüpheli izolatın tamamının *Staphylococcus* cinsine ait olduğu, şüpheli izolatlardan 10'unun *nuc* genine sahip olduğu tespit edildi. Böylece, 100 tulum peyniri örneğinden *S. aureus* izolasyon oranı %10 olarak belirlendi. Yapılan araştırmalarda, tulum peynirlerinden *S. aureus* izolasyon oranlarının farklılığının, mikrobiyal yükü fazla olan sütlerin peynire dönüştürülmesi, üretimde çiğ sütün tercih edilmesi, kullanılan starter kültür aktivitesinin yetersizliği, pastörizasyon sonrası sütün kontaminasyonu ile ürünün işlenmesi ve muhafazası sırasında uygun olmayan şartlardan kaynaklanmış olabileceği düşünüldü. Bu Tez çalışmasında elde edilen izolasyon oranı, konu ile ilgili diğer araştırma verileri ile genel olarak benzerlik göstermekle birlikte, Özpınar ve Gümüşsoy (2013) tarafından bildirilen izolasyon oranından oldukça düşüktü. Bu farklılığın nedeninin, yukarıda açıklanan sebeplere ilave olarak, kullanılan izolasyon ve identifikasyon yöntemlerinin farklılığı, coğrafik farklılıklar ve izolatların orijinlerinin farklılığı ile de ilişkili olabileceği düşünüldü.

Ruminantlardan mastitis patojeni olarak MRSA'nın yaygın şekilde izole edilmesi ve hayvansal orijinli gıdaların MRSA suşlarının ve dolayısıyla antibiyotik direncinin yayılmasında önemli bir aracı olduklarının belirlenmesi, araştırmaların bu alana odaklanmasına neden olmuştur (da Silva Abreu vd., 2021; Mercanoglu ve Taban, 2021; Badawy vd., 2022; Horasan Yakan ve Şeker, 2022; Kocak Kızanlık ve Goksoy, 2024).

Dünyanın farklı ülkelerinde üretilen ve tüketilen geleneksel peynirlerden MRSA izolasyonu çalışmaları genellikle metisiline direncin belirlenmesinde temel kabul edilen *mecA* geni üzerinde yoğunlaşmıştır (Dambrosio vd., 2013; Mashouf vd., 2015; Gonzalez vd., 2017; Johler vd., 2018; Gajewska vd., 2022). Dambrosio vd. (2013) tarafından Güney İtalya'nın Puglia bölgesinde geleneksel Burrata peynirlerinin mikrobiyolojik kalitesinin incelendiği bir çalışmada, 404 peynir örneğinden izole edilen 15 *S. aureus* izolatının hiçbirinde *mecA* geni bulunmadığı bildirilmiştir. İran'da yapılan bir araştırmada, 47 geleneksel krem peynirinden izole edilen iki *S. aureus* izolatının hiçbirinde *mecA* geni bulunmadığı rapor edilmiştir (Mashouf vd., 2015). Bulajic vd. (2017) tarafından Sırbistan'da çiğ süttten üretilen 71 yerel peynirden izole edilen 36 *S. aureus* izolatının hiçbirinin *mecA* ve *mecC* genlerine sahip olmadığı belirtilmiştir. Gonzalez vd. (2017), Brezilya'nın en ünlü peynirlerinden birisi olan Minas Frescal peynirinden incelenen 4 numuneden izole edilen 31 MRSA izolatından yedi (%22,6) tanesinin *mecA* genine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Johler vd. (2018), İtalya'da örnekledikleri çiğ süttten üretilen 96 yerel peynirden izole ettikleri 77 *S. aureus* izolatının hiçbirinde *mecA* ve *mecC* genleri varlığına rastlamadıklarını bildirmişlerdir. da Silva Abreu vd. (2021), Brezilya'nın yöresel peyniri olan Minas Frescal peynirlerinden izole ettikleri 38 *S. aureus* izolatının hiçbirinde *mecA* geni bulunmadığını rapor etmişlerdir. De Aguiar vd. (2022) tarafından yine Brezilya'da coalho peynirinde MRSA varlığının araştırıldığı bir çalışmada, 112 peynir örneğinden izole edilen 69 adet *S. aureus* izolatının %13,04'ünün *mecA* genine sahip olduğu belirtilmiştir. Mısır'da yapılan bir araştırmada, 30 geleneksel Karish peynirinden izole edilen beş *S. aureus* izolatının üç (%60) tanesinin *mecA* geni taşıdığı bildirilmiştir (Badawy vd., 2022). Polonya'da çiğ süttten üretilen geleneksel 18 peynir örneğinden izole edilen 10 *S. aureus* izolatının ikisinin (%20) *mecA* geni taşıdığı belirtilmiştir (Gajewska vd., 2022).

Türkiye'de tulum peynirlerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarında metisiline direncin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda genellikle izolatlarda *mecA* geni varlığı araştırılmış olup (Can ve Çelik, 2012; Özpınar ve Gümüşsoy, 2013; Ektik vd., 2017; Demirsıkan ve Tuncer, 2021), *mecC* geni varlığını belirlemeye yönelik araştırma sayısı sınırlıdır (Mercanoglu Taban vd., 2021; Kocak Kızanlık ve Goksoy, 2024). Can ve Çelik (2012) Ankara'da örnekledikleri 100 tulum peynirinden izole ettikleri yedi *S. aureus*

izolatının iki tanesinde *mecA* (%28,5) geni saptadıklarını bildirmişlerdir. Erzincan tulum peynirlerinin incelendiği başka bir çalışmada, 100 numuneden izole edilen 61 *S. aureus* izolatının 10'unun (%16,39) *mecA* geni taşıdığı belirtilmiştir (Özpınar ve Gümüşsoy, 2013). Ektik vd. (2017) tarafından Balıkesir'de süt ve süt ürünlerinde MRSA varlığının araştırıldığı bir çalışmada, örneklenen 15 tulum peynirinden izole edilen bir *S. aureus* izolatında *mecA* geni tespit edildiği rapor edilmiştir. Isparta'da toplanan 75 tulum peynirinden izole edilen 15 *S. aureus* izolatının üçünde (%20) *mecA* pozitifliği bildirilmiştir (Demirsıkan ve Tunçer, 2021). Bir başka çalışmada, örneklenen 50 tulum peynirinden izole edilen altı *S. aureus* izolatında *mecA* ve *mecC* genlerinin varlığı araştırılmış, ancak izolatların hiçbirinde bu genlerin varlığı saptanamamıştır (Mercanoğlu ve Taban, 2021). Benzer şekilde, Kocak Kızanlık ve Goksoy (2024) tarafından Aydın ve İzmir'de mandıra satış noktalarından toplanan 100 tulum peynirinden elde edilen 17 *S. aureus* izolatının üçünde (%17,6) *mecA* geni bulunduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada, *mecA* geni taşımayan izolatlarda *mecC* geni varlığı da araştırılmış, ancak bu izolatların hiçbirinde *mecC* genine rastlanmadığı vurgulanmıştır.

Bu Tez çalışmasında, tulum peynirlerinde MRSA varlığı, fenotipik direncin belirlenmesinde CLSI (2023) tarafından önerilen sefoksitin diski ile disk difüzyon testi kullanılarak, genotipik direncin belirlenmesinde ise *mecA* ve *mecC* genleri varlığı ile araştırıldı. Sunulan Tez çalışmasında, *S. aureus* olarak identifiye edilen 10 izolatın beşinde sefoksitine fenotipik direnç belirlendi. Sefoksitine fenotipik olarak dirençli olduğu belirlenen bir izolatın *mecA* geni taşıdığı, bir izolatın *mecC* geni taşıdığı, diğer üç izolatın ise *mecA* ve *mecC* genlerine sahip olmadığı belirlendi. Bazı araştırmacılar metisiline direnç genlerine sahip olmayan *S. aureus* izolatlarının sefoksitine fenotipik direnç gösterebileceğini, bunun nedeninin de PBP'lerin yapısal bileşenlerinde meydana gelen mutasyonlar, direnç genleri ekspresyonunun eksikliği veya diğer direnç genlerinin (*mecB*) varlığı ile açıklanabileceğini belirtmişlerdir (Bulajic vd., 2017; Zhao vd., 2021b; Kocak Kızanlık ve Goksoy, 2024). MRSA izolatlarının tanımlanmasında metisilin direnç genlerinin belirlenmesinin altın standart olarak kabul edilmesi nedeniyle, bu Tez çalışmasında da genotipik olarak direncin tespit edildiği izolatlar MRSA olarak değerlendirildi. Buna göre, Uşak'ta halk pazarlarında açık olarak satışa sunulan 100 tulum peyniri örneğinden izole edilen 10 *S. aureus* izolatının birinin (%10) *mecA*-MRSA,

birinin (%10) ise *mecC*-MRSA olduğu belirlendi. Konu ile ilgili diğer araştırmacıların bulgularıyla karşılaştırıldığında, sunulan Tez çalışmasında elde edilen *mecA* gen pozitifliği düşüktü. Bu bulgunun, farklı ülkelerde çeşitli peynir türleri üzerinde yürütülen çalışmalarda elde edilen verilerden farklılık göstermesinin en önemli nedeninin, örneklenen peynir türlerinin farklılığı ile ilişki kurulabileceği düşünüldü. Bununla birlikte, bu Tez çalışmasında, Türkiye'de tulum peynirlerinde MRSA varlığını araştıran çalışma bulgularından farklı veriler elde edilmesinin ise, izole edilen izolat sayıları arasındaki farklılıklar, izolatların orijinindeki farklılıklar ve coğrafik farklılıklarla ilişkili olabileceği düşünüldü. Hem diğer ülkelerde örneklenen farklı peynir türlerinden, hem de Türkiye'de çalışılan tulum peynirlerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarında *mecC* geni varlığı bildirilmediği dikkati çekmektedir. Sunulan Tez çalışması, örneklenen tulum peynirlerinden izole edilen bir *S. aureus* izolatında bu gen varlığını gösteren ilk araştırma olması bakımından önem taşımaktadır.

Sonuç olarak, sunulan Tez çalışmasında, Uşak ili merkez, yakın ilçe ve köylerinde bulunan halk pazarlarında açık olarak satışa sunulan toplam 100 tulum peyniri örneğinden izole edilen 10 *S. aureus* izolatının ikisi (%20) MRSA olarak tiplendirildi. Elde edilen izolatlardan biri *mecA* genine sahipken, diğer izolat *mecC* genine sahipti. Bu Tez çalışması, Türkiye'de tulum peynirlerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarında *mecC* geni varlığının gösterildiği ilk çalışmadır. Tez çalışmasında elde edilen *S. aureus* ve MRSA izolasyon oranları çok yüksek olmasa da, özellikle hayvansal orijinli gıdalarda ve gıda endüstrisinde *S. aureus* tespitinin kişisel hijyen yetersizliğinden kaynaklanabileceği, MRSA'ların insanlara bulaşmasının direkt temas yoluyla olabildiği gibi, hayvansal orijinli gıdaların tüketimi ile de olabileceği, hem MRSA izolatlarının, hem de antibiyotik direnç genlerinin aktarımında gıdaların aracılık yapabileceği ve bu durumun halk sağlığı açısından potansiyel tehlike yaratabileceği göz ardı edilmemelidir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan Tez çalışmasında, Uşak ili merkez, yakın ilçe ve köylerinde bulunan halk

pazarlarında açık olarak satışa sunulan toplam 100 tulum peyniri örneğinden izole edilen 10 *S. aureus* izolatının biri *mecA*-MRSA, biri ise *mecC*-MRSA olarak belirlendi. Süt ve süt ürünlerinde MRSA varlığı; izolatların potansiyel patojenitesi, izolatlarda antibiyotik direnciyle ilişkili genlerinin varlığı ve bu genlerin aktarılabılır olması, sıklıkla kullanılan antibiyotiklere karşı çoklu ilaç direnci görülebilmesi ve MRSA izolatlarının zoonotik potansiyeli nedeniyle halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike olarak kabul edilmektedir. Örneklenen tulum peynirlerinde *S. aureus* ve MRSA prevalansı dikkat çekici oranda yüksek olmasa da, bu sonuç, MRSA'nın tulum peynirlerinde bulunabileceğini, dolayısıyla örneklenen peynirlerin MRSA izolatlarının ve direnç genlerinin aktarımında aracılık etme potansiyeline sahip olabileceğini ve halk sağlığı açısından potansiyel risk teşkil edebileceğini gösterdi.

Tez çalışmasında elde edilen veriler, MRSA suşlarının küresel bir sağlık sorunu olarak görülmesinden dolayı, peynir kontaminasyon kaynaklarının daha iyi kontrol edilmesi gerektiğini düşündürdü. Gıdalarda ve gıda işletmelerinde çalışan personellerde *S. aureus*'a sıkça rastlanmasından dolayı, gıdalarda ve gıda endüstrisinde *S. aureus* ve MRSA tespitinin kişisel hijyen yetersizliğinden kaynaklanabileceği gibi, gıda hazırlamada kullanılan ekipmanların da kontaminasyona neden olabileceği göz ardı edilmemelidir. Bu nedenle, gıda güvenliği için peynirlerin hazırlık, üretim ve tüketime sunulması aşamasında personel hijyeni başta olmak üzere, hijyenik önlemlerin daha etkin şekilde alınması gerektiği düşünüldü. Hayvansal oijinli gıda ürünlerinde antibiyotik dirençli bakterilerin azaltılması ve direncin yayılmasının önlenmesinde, gıda üretiminin her aşamasında "çiftlikten sofraya" ilkesi temel alınarak hijyenik uygulamaların iyileştirilmesi etkili olacaktır. Bunun yanı sıra, tek sağlık yaklaşımı doğrultusunda çağımızın en büyük sorunlarından olan antimikrobiyal direnç sorunu dikkate alındığında, MRSA'nın yüksek öncelikli antimikrobiyal dirençli patojen olarak değerlendirilip, bu bakteriye, gıda kaynaklı patojenler listesinde yer verilmesi gerektiği düşünüldü.

Yapılan literatür taramalarında, ulusal ve uluslararası araştırmaların genellikle *S. aureus* izolatlarında *mecA* geni varlığının belirlenmesine yönelik olduğu, ancak *mecC* genine ilişkin veri yetersizliği bulunduğu dikkati çekti. Sunulan Tez çalışması, Türkiye'de tulum peynirlerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarında *mecC* geni varlığının gösterildiği

ilk çalışmadır. Bu anlamda bu Tez çalışmasının, konu ile ilgili ulusal ve uluslararası literatüre katkı sağlayacağı düşünöldü.



6. KAYNAKLAR

- Abdel-Hameid Ahmed, A., Maharik, N.M.S., Valerob A., Kamala, S.M. (2019). Incidence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in milk and Egyptian artisanal dairy products. *Food Cont*, 104: 20-27.
- Adame-Gómez, R., Toribio-Jimenez, J., Vences-Velazquez, A., Rodríguez-Bataz, E., Santiago Dionisio, M.C., Ramirez-Peralta, A. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in artisanal cheeses in México. *Int J Microbiol*, 8760357. DOI:10.1155/2018/8760357
- Aklilu, E., Hui Ying, C. (2020). First *mecC* and *mecA* positive livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (*mecC* MRSA/LA-MRSA) from dairy cattle in Malaysia. *Microorganisms*, 8(2): 147.
- Al-Bahry, S.N., Mahmoud, I.Y., Al-Musharafi, S.K., Sivakumar, N. (2014). *Staphylococcus aureus* contamination during food preparation, processing and handling. *Int J Chem Eng Appl*, 5(5): 388-392.
- Allison, H., Bartlett, Kristina, G., Hulten. (2010). *Staphylococcus aureus* pathogenesis: secretion systems, adhesins, and invasins. *Pediatr Infect Dis J*, 29(9): 860-861.
- Alves, M.F.N.F., Penna, B., Pereira, R.F.A., Geraldo, R.B., Folly, E., Castro, H.C., Aguiar-Alves, F. (2020). First report of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harboring *mecC* gene in milk samples from cows with mastitis in southeastern Brazil. *Braz J Microbiol*, 51(4): 2175–2179.
- Arda, M. 2011. Temel Mikrobiyoloji, Medisan, Ankara.
- Argaw, S., Addis, M. (2015). A review on staphylococcal food poisoning. *Food Sci Qual Manag*, 40: 59-72.
- Ariza-Miguel, J., Hernández, M., Fernández-Natal, I., Rodríguez-Lázaro, D. (2014). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harboring *mecC* in livestock in Spain. *J Clin Microbiol*, 52(11): 4067-4069.
- Arslan, E., Ladikli, S., Arslan, U. (2016). Quantitative analysis of various virulence genes (PVL, LukED, γ -hemoliz) by Real-Time PCR of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis. *Pak J Zool*, 48(6): 1627-1632.
- Arslaner, A., Türkmen, Ö. (2020). Erzincan tulum peyniri. *Turk J Food Agric Sci Technol*, 8(4): 932-940.

- Badawy, B., Elafify, M., Farag, A.M.M., Moustafa, S.M., Sayed-Ahmed, M.Z., Moawad, A.A., Algammal, A.M., Ramadan, H., Eltholth, M. (2022). Ecological distribution of virulent multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in livestock, environment, and dairy products. *Antibiotics*, 11: 1651.
- Baird-Parker, A. (1963). A classification of *micrococci* and *staphylococci* based on physiological and biochemical tests. *J Gen Microbiol*, 30: 409-426.
- Bal, Ç. (2003). Beta- Laktamazlar: Güncel durum. *Flora*, 8(2): 111-123.
- Baysal, A. (2015). Beslenme. 16. Baskı, Hatipoğlu Yayınları, Ankara, s: 73.
- Becker, K. (2018). Pathogenesis of *Staphylococcus aureus*. In: *Staphylococcus aureus*, s: 13-38.
- Becker, K., Skov, R.L., Von Eiff, C. (2011). *Staphylococcus*, *Micrococcus* and Other Catalase-Positive Cocci. In: Manual of Clinical Mikrobiology. Eds: Versalovic, J., Carroll, K.C., Jorgensen, J.H., Landry, M.L., Warnock, D.W. 10th ed, ASM Press, USA, s: 308- 330.
- Bietrix, J., Kolenda, C., Sapin, A., Haenni, M., Madec, J.Y., Bes, M., Dupieux, C., Tasse, J., Laurent, F. (2019). Persistence and diffusion of *mecC*-positive CC130 MRSA isolates in dairy farms in Meurthe-Et-Moselle County (France). *Front Microbiol*, 10: 47.
- Bintsis, T. (2017). Foodborne pathogens. *AIMS Microbiol*, 3(3): 529-563.
- Bokarewa, M.I., Jin, T., Tarkowski, A. (2006). *Staphylococcus aureus*: Staphylokinase. *Int J Biochem Cell Biol*, 38(4): 504-509.
- Bulajic, S., Colovic, S., Misic, D., Djordjevic, J., Savic-Radovanovic, R., Asanin, J., Ledina, T. (2017). Enterotoxin production and antimicrobial susceptibility in *Staphylococci* isolated from traditional raw milk cheeses in Serbia. *J Environ Sci Health, Part B*. DOI: 10.1080/03601234.2017.1361764
- Büke, Ç. (2010). Gram- pozitif bakterilerde antibiyotik direnci. *KLİMİK Derg*, 23(2): 34.
- Can, H.Y., Çelik, T.H. (2012). Detection of enterotoxigenic and antimicrobial resistant *S. aureus* in Turkish cheeses. *Food Control*, 24(1-2): 100-103.
- Can, H.Y., Elmalı, M., Karagöz, A. (2017). Molecular typing and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw milk, cheese, minced meat, and chicken meat samples. *Korean J Food Sci An*, 37(2): 175-180.
- Cella, E., Giovanetti, M., Benedetti, F., Scarpa, F., Johnston, C., Borsetti, A., Ceccarelli, G., Azarian, T., Zella, D., Ciccozzi, M. (2023). Joining forces against antibiotic resistance: the one health solution. *Pathogens*, 12(9): 1074.
- Cengiz, A.T., Cengiz, S.A. (2004). *Staphylococcus*. Ed: Cengiz, A.T. Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, Ankara, s:344-349.
- Chagas, C.E., Rogero, M.M., Martini, L.A. (2012). Evaluating the links between intake of milk/dairy products and cancer. *Nutr Rev*, 70(5): 294-300.

- Chambers, H.F. (1997). Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*, 10(4): 781-791.
- Chambers, H.F. (2005). Community-associated MRSA resistance and virulence converge. *N Engl J Med*, 352(14): 1485-1487.
- Cheng, A.G., McAdow, M., Kim, H.K., Bae, T., Missiakas, D.M., Schneewind, O. (2010). Contribution of coagulases towards *Staphylococcus aureus* disease and protective immunity. *PLoS pathogens*, 6(8): e1001036. DOI: 10.1371/journal.ppat.1001036
- Choi, S.M., Kim, S.H., Kim, H.J., Lee, D.G., Choi, J.H., Yoo, J.H., Kang, J.H., Shin, W.S., Crouch, E., Dickes, L., Kahle, A. (2015). Review on antibiotic resistance. *Adv Pharmacoepidemiol Drug Saf*, 4(3). DOI: 10.4172/2167-1052.1000183
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2023). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 33rd ed. CLSI supplement M100 (ISBN 978-1-68440-170-3 [Print]; ISBN 978-1-68440-171-0 [Electronic]). USA.
- Cuny, C., Wieler, L.H., Witte, W. (2015). Livestock-associated MRSA: the impact on humans. *Antibiotics*, 4: 521-543.
- Çetinkaya, A. (2008). Yöresel Peynirlerimiz. Abp Yayınevi, İstanbul. s:1-7.
- da Silva Abreu, A.C., Matos, L.G., da Silva Cândido, T.J., Barboza, G.R., Alencar de Souza, V.V.M., Nuñez, K.V.M., Silva, N.C.C. (2020). Antimicrobial resistance of *Staphylococcus spp.* isolated from organic and conventional Minas Frescal cheese producers in São Paulo, Brazil, *J Dairy Sci*, 104: 4012–4022.
- Dağdemir, V. (2000). Erzincan İlinde tulum peynirinin imalat maliyeti ve pazarlama marjının belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Turk J Agric For*, 24: 57-61.
- Dambrosio, A., Quaglia, N.C., Saracino, M., Malcangi, M., Montagna, C., Quinto, M. Lorusso, V., Normanno, G. (2013). Microbiological quality of Burrata Cheese produced in Puglia Region: Southern Italy. *J Food Prot*, 76(11): 1981-1984.
- de Aguiar, F.R.M., Rocha, L.Q., Barboza, M.M.O., Sampaio, T.L., Nogueira, N.A.P., de Menezes, R.R.P.P.B. (2022). Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in ‘Coalho’ cheese produced in Brazil. *J Dairy Res*, 89(1): 100-103.
- de Medeiros, J.M.S., de Lima, F.V., Abrantes, M.R., Pinheiro, C.G.M.E., Abreu, A.C.S., Crippa, B.L., Silva, N.C.C., da Silva, J.B.A. (2024). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* enterotoxin producers, isolated from the production chain of artisanal coalho cheese. *Int J Dairy Technol*, 77(3): 764-772.
- Demirsıkan, S., Tuncer, Y. (2021). Tulum peynirinde *Staphylococcus aureus* yaygınlığı ve antibiyotik direnç profilleri ve direnç genlerinin belirlenmesi. *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 9(3): 822-832.

- Derbentli, Ş. (2005). Stafilokoklarda antibiyotik direnci: 2003-2004 Türkiye haritası. *ANKEM Dergisi*, 19(Ek2): 54-60.
- Deurenberg, R.H, Vink, C., Kalenic, S., Friedrich, A.W., Bruggeman, C.A., Stobberingh, E.E. (2007). The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect*, 13(3): 222-235.
- Devriese, L.A., Van Damme, L.R., Fameree L. (1972). Methicillin (Cloxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis cases. *Zentralbl Veterinaermed Reihe B*, 19(7): 521-608.
- Dhaouadi, S., Soufi, L., Campanile, F., Dhaouadi, F., Sociale, M., Lazzaro, L., Cherif A., Stefani S., Elandoulsi, R.B. (2020). Prevalence of meticillin-resistant and -susceptible coagulase-negative staphylococci with the first detection of the *mecC* gene among cows, humans and manure in Tunisia. *Int J Antimicrob Agents*, 55: 105826.
- Dinges, M.M., Orwin, P.M., Schlievert, P.M. (2000). Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev*, 13: 16-34.
- Doğan, B., Palaz, M., İzgür, M. (2018). Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* ve önemi. *Etlik Vet Mikrobiyoloji Derg*, 29(2): 157-161.
- Doyle M.E., Hartmann F.A., Lee Wong A.C. (2012). Methicillin-resistant staphylococci: implications for our food supply? *Anim Health Res Rev*, 13: 157-180.
- Ektik, N., Gökmen, M., Çıbık, R. (2018). The prevalence and antibiotic resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in milk and dairy products in Balıkesir, Turkey. *J Hellenic Vet Med Soc*, 68(4): 613-620.
- Elal Mus, T., Çetinkaya, F., Soyutemiz, G.E., Erten, B. (2023). Toxigenic genes of coagulase-negative *Staphylococci* and *Staphylococcus aureus* from milk and dairy. *J Agric Sci*, 29(4): 924-932.
- Enright, M.C., Robinson, D.A., Randle, G., Feil, E.J., Grundmann, H., Spratt, B.G. (2002). The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99(11): 7687-7692.
- Erol, İ. 2007. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Pozitif Yayınevi, İstanbul.
- Fetsch, A., Etter, D., Johle, S. (2021). Livestock-associated meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*—current situation and impact from a one health perspective. *Curr Clin Microbiol Rep*, 8:103-113.
- Filipello, V., Bonometti E., Campagnani M., Bertoletti I., Romano A., Zuccon F., Campanella C., Losio M.N., Finazzi G. (2020). Investigation and follow-up of a staphylococcal food poisoning outbreak linked to the consumption of traditional hand-crafted alm cheese. *Pathogens*, 9: 1064. DOI:10.3390/pathogens9121064

- Foster, T.J. (2017). Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects. *FEMS Microbiol Rev*, 41: 430-449.
- Fox, E.M., Jiang, Y., Benlloch Tinoco, M. (2022) *Staphylococcus aureus* – Dairy. In: Encyclopedia of Dairy Sciences. Eds: McSweeney, P.L.H., McNamara, J.P. 3th ed., Academic Press, USA, s: 522-529.
- Gajewska, J., Chajęcka-Wierzchowska, W., Zadernowska, A. (2022). Occurrence and characteristics of *Staphylococcus aureus* strains along the production chain of raw milk cheeses in Poland. *Molecules*, 27: 6569.
- García-Álvarez, L., Holden, M.T., Lindsay, H., Webb, C.R., Brown, D.F.J., Curran, M.D., Walpole, E., Brooks, K., Pickard, D.J., Teale, C., Parkhill, J., Bentley, S.D., Edwards, G.F., Girvan, E.K., Kearns, A.M., Pichon, B., Hill, R.L.R., Larsen, A.R., Skov, R., Peacock, S.J., Maskell, D.J., Holmes, M.A. (2011). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet Infect Dis*, 11: 595-603.
- García-Garrote, F., Cercenado, E., Marín, M., Bal, M., Trincado, P., Corredoira, J., Ballesteros, C., Pita, J., Alonso, P., Vindel, A. (2014). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the *mecC* gene: emergence in Spain and report of a fatal case of bacteraemia. *J Antimicrob Chemother*, 69(1): 45-50.
- Garoy, E.Y., Gebreab, Y.B., Achila, O.O., Tekeste, D.G., Kesete, R., Ghirmay, R., Kiflay, R., Tesfu, T. (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): prevalence and antimicrobial sensitivity pattern among patients—a multicenter study in Asmara, Eritrea. *Can J Infect Dis Med Microbiol*, e8321834. DOI:10.1155/2019/8321834
- Gherardi, G., Di Bonaventura, G., Savini, V. (2018). Staphylococcal taxonomy. In: Pet-To-Man Travelling *Staphylococci*. Ed: Savini, V. Academic Press, Elsevier, New York, s: 1-10.
- Gitman, M.R., Alburquerque, B., Chung, M., Van de Guchte, A., Sullivan, M.J., Obla, A., Polanco, J., Oussenko, I., Smith, M.L., Samaroo, F., Barackman, D., Altman, D.R., Sordillo, E.M., Van Bakel, H. (2021). Modified methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* detected in neonatal intensive care patients. *J Antimicrob Chemother*, 76(11): 2774-2777.
- Gladwin, T., Trattler, B., Trattler, W., Mahan, C.S. (2022). Clinical Microbiology Made Ridiculously Simple. 9th ed., MedMaster, Incorporated.
- Gnanamani, A., Hariharan, P., Paul-Satyaseela, M., (2017). *Staphylococcus aureus*: Overview of bacteriology, clinical diseases, epidemiology, antibiotic resistance and therapeutic approach. In: Frontiers in *Staphylococcus aureus*. Eds: Enany, S., Alexander, L.E.C., 1th ed, National and University Library in Zagreb, Croatia, s: 10-5772.

- González-Machado, C., Capita, R., Alonso-Calleja, C. (2024). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in dairy products and bulk-tank milk (BTM). *Antibiotics (Basel)*, 13(7): 588.
- Gonzalez, A.G.M., Marques, L.M.P., Gomes, M.D.S.A., Beltrão, J.C.D.C., Pinheiro, M.G., Esper, L.M.R., de Paula, G.R., Teixeira, L.A., Aguiar-Alves, F. (2017). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Minas Frescal cheese: evaluation of classic enterotoxin genes, antimicrobial resistance and clonal diversity. *FEMS Microbiology Letters*, 364(23): fnx232. DOI: 10.1093/femsle/fnx232
- Guinee, T.P., Kilcawley, K.N. (2004). Cheese as an ingredient. In: Cheese: Chemistry, physics and microbiology. Eds: Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Cogan, T.M., Guinee, T.P., 2nd ed, Academic Press, Massachusetts, s: 395-428.
- Guo, Y., Song, G., Sun, M., Wang, J., Wang, Y. (2020). Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in *Staphylococcus aureus*. *Front Cell Infect Microbiol*, 10:107.
- Gür Vural, D., Bıyık, İ., Torun, E.G., Tanrıverdi Çaycı, Y., Bilgin, K., Birinci, A. (2023). *Staphylococcus aureus* izolatlarının biyofilm oluşturma özelliklerinin karşılaştırılması. *Sağlık Bilimlerinde Değer*, 13(2): 245-249.
- Hamilton, F., MacGowan, A. (2019). A long history of β -lactams for MRSA. *Nat Microbiol*, 4: 1604-1605.
- Haque, Z.F., Sabuj, A.A.M., Mahmud, M.M., Pondit, A., Islam, M.A., Saha, S. (2018). Characterization of *Staphylococcus aureus* from milk and dairy products sold in some local markets of Mymensingh District of Bangladesh. *J Nutr Food Sci*, 8: 743.
- Harmankaya, S., Harmankaya, A. (2020). Investigation of some microbiological and chemical properties of different cheeses. *BEÜ Fen Bil Derg*, 9(3): 1389-1400.
- Harrison, E.M., Paterson, G.K., Holden, M.T., Larsen, J., Stegger, M., Larsen, A.R., Petersen, A., Skov, R.L., Christensen, J.M., Bak Zeuthen, A., Heltberg, O., Harris, S.R., Zadoks, R.N., Parkhill, J., Peacock, S.J., Holmes, M.A. (2013). Whole genome sequencing identifies zoonotic transmission of MRSA isolates with the novel *mecA* homologue *mecC*. *EMBO Mol Med*, 5(4): 509-515.
- Hart, M.E., Hart, M.J., Roop, A.J. (2009). Genotypic and phenotypic assessment of hyaluronidase among type strains of a select group of staphylococcal species. *Int J Microbiol*, 614371. DOI: 10.1155/2009/614371
- Hennekinne, J.A., De Buyser, M.L., Dragacci, S. (2012). *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiol Rev*, 36(4): 815-836.

- Herrera, F.C., García-López, M.C., Santos, J.A. (2016). Short communication: Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk fresh cheese in Colombia. *J Dairy Sci.* 99: 7872–7876
- Horasan Yakan, A., Şeker, E. (2022). Investigation of methicillin and Pantone-Valentine leukocidin genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from clotted creams sold in Afyonkarahisar. *Kocatepe Vet J*, 15(1): 101-105.
- Hou, Z., Liu, L., Wei, J., Xu, B. (2023). Progress in the prevalence, classification and drug resistance mechanisms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Infect Drug Resist*, 16: 3271-3292.
- Hu, H., Liu, S., Hon, K., Psaltis, J., Wormald, P.J., Vreugde, S. (2022). Staphylococcal protein A modulates inflammation by inducing interferon signaling in human nasal epithelial cells. *Inflamm Res*, 72(2): 251-262.
- Idrees, M., Sawant, S., Karodia, N., Rahman, A.S. (2021). *Staphylococcus aureus* biofilm: morphology, genetics, pathogenesis and treatment strategies. *Int J Environ Res Public Health*, 18(14): 7602
- Ito, T., Kuwahara-Arai, K., Katayama, Y., Uehara, Y., Han, X., Kondo, Y., Hiramatsu, K. (2014). Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*) analysis of MRSA. *Methods Mol Biol*, 1085:131-48.
- Int. Kay. 1, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>, 17.04.2024
- Jansen, W., Müller, A., Grabowski, N., Kehrenberg, C., Muylkens, B., Al Dahouk, S. (2019). Foodborne diseases do not respect borders: Zoonotic pathogens and antimicrobial resistant bacteria in food products of animal origin illegally imported into the European Union. *Vet J*, 244: 75-82.
- Jehl, F., Chomar, M., Weber, M., Gerard, A. (2003) Antibiyotik Duyarlılık Testinden Reçete-ye. Çevirenler: Söyletir, G., Bal, Ç., Gür, D., Wilke Topçu, A. 2. Baskı, Bio Merieux Yayınları, İstanbul, s:78–83
- Jevons, M.P. (1961). Celbenin-resistant *staphylococci*. *British Med J*, 1(5219):124-125.
- Johler, S., Macori, G., Bellio, A., Acutis, P.L., Gallina, S., Decastelli, L. (2018). Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated along the raw milk cheese production process in artisan dairies in Italy. *J Dairy Sci*, 101(4): 2915-2920.
- Johler, S., Weder D., Bridy, C., Huguenin, M., Robert L., Hummerjohann, J., Stephan, R. (2015). Outbreak of staphylococcal food poisoning among children and staff at a Swiss boarding school due to soft cheese made from raw milk. *J Dairy Sci*, 98(5): 2944-2948.

- Kadariya, J., Smith, T.C., Thapaliya, D. (2014). *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. *Biomed Res Int*, DOI:10.1155/2014/827965
- Kanaan, M.H.G., Tarek, A.M., Saad Abdullah, S. (2023). Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* in some types of dairy products in Baghdad markets. *J Dis Glob Health*, 16(1): 1–7.
- Kaneko, J., Kamio, Y. (2004). Bacterial two-component and hetero-heptameric pore-forming cytolytic toxins: structures, pore-forming mechanism, and organization of the genes. *Biosci Biotechnol Biochem*, 68(5): 981-1003.
- Karakaya, E., Akbay, C. (2013). İstanbul ilinde tüketicilerin süt ve süt ürünleri tüketim alışkanlıkları. *Uludağ Üniv Ziraat Fak Derg*, 27(1): 65-77.
- Kenny, J.G., Moran, J., Kolar, S.L., Ulanov, A., Li, Z., Shaw, L.N., Josefsson, E., Horsburgh, (2013). Mannitol utilisation is required for protection of *Staphylococcus aureus* from human skin antimicrobial fatty acids. *PLOS ONE*, 8(7): e67698 DOI: 10.1371/journal.pone.0067698
- Klevens, R.M., Edwards, J.R., Tenover, F.C., McDonald, L.C., Horan, T., Gaynes, R. (2006). Changes in the epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in intensive care units in US hospitals, 1992-2003. *Clin Infect Dis*, 42: 389-391.
- Kocak Kızanlık, P., Göksoy, E.O. (2024). The prevalence, enterotoxigenic properties and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from various foods of animal origin. *Vet Arhiv*, 94(1): 43-54. DOI: 10.24099/vet.arhiv.1987
- Koçak Kızanlık, P., Göksoy, E.Ö. (2018). Microbiological quality evaluation of various types of cheese. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 15(2): 86-93.
- Kuehn, B.M. (2022). Progress against antimicrobial resistance has slipped. *JAMA*, 328(8): 702.
- Kumar, S. (2012). Textbook of Microbiology, JP Medical Ltd, New Delhi.
- Kuyucu, N. (2009). Antibiyotik direnci. *Enfeksiyon Dergisi*, 1(Özel sayı 1), 33-38.
- Lade, H., Kim, J.S. (2023). Molecular determinants of β -lactam resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): an updated review. *Antibiotics*, 12(9): 1362.
- Lee, A.S., De Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-Kumar, S., Peschel, A., Harbarth, S. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Rev Dis Primers*, 4(1): 1-23.
- Licitra, G. (2013) Etimologia: *Staphylococcus*. *Emerg Infect Dis*, 19(9): 1553.
- Liu, D. (2015) Enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus*. In: Molecular Medical Microbiology. Eds: Tang, Y.W., Liu, D., Schwartzman, J., 2nd ed, Academic Press, USA, s: 979-995.
- Lo, W.T., Wang, C.C. (2011). Pantón-Valentine leukocidin in the pathogenesis of community-

- associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Pediatr Neonatol*, 52(2): 59-65.
- Lowy, F.D. (1998). *Staphylococcus aureus* infections. *New Eng J Med*, 20: 520-531.
- Lozano, C., Gharsa, H., Ben Slama, K., Zarazaga, M., Torres, C. (2016). *Staphylococcus aureus* in animals and food: methicillin-resistance, prevalence and population structure. A review in the African continent. *Microorganisms*, 4: 12.
- Maalej, S.M., Rhimi F.M., Fines, M., Mnif, B., Leclercq, R. Hammami.A. (2010). Analysis of borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (BORSA) strains isolated in Tunisia. *J Clin Microbiol*, 50(10): 3345– 3348.
- Makwana, E.G., Gadhavi, H.A., Sinha., M. (2012). Comparision of tube coagulase test with mannitol fermentation test for diagnosis of *Staphylococcus aureus*. *Natl J Integr Res Med*, 3: 73-75.
- Mashouf, R.Y., Hosseini, S.M., Mousavi, S.M., Arabestani, M.R. (2015). Prevalence of enterotoxin genes and antibacterial susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* strains isolated from animal originated foods in West of Iran. *Oman Medical Journal*, 30(4): 283–290.
- Mercanoglu Taban, B., Hassankhani, A., Aytac, S.A. (2021). Investigation of *mecA*- and *mecC*-positive *Staphylococcus aureus* from raw milk and traditional artisanal dairy foods. *Int J Food Proper*, 24(1): 954-964.
- Meyer, F., Girardot, R., Piemont, Y., Prevost, G., Colin, D.A. (2009). Analysis of the specificity of Panton-Valentine leucocidin and gamma-hemolysin F component binding. *Infect Immun*, 77: 266-273.
- Monecke, S., Kuhnert, P., Hotzel, H., Slickers, P., Ehricht, R. (2007). Microarray based study on virulence-associated genes and resistance determinants of *Staphylococcus aureus* isolates from cattle. *Vet Microbiol*, 125(1-2): 128–140.
- Morgan, M. (2008). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and animals: zoonosis or humanosis? *J Antimicrob Chemother*, 62: 1181-1187.
- Müştak, H.K., Esendal, Ö.M. (2008). *Staphylococcus aureus* ekzotoksinleri. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 19(1): 69-74.
- Normanno, G., La Salandra, G., Dambrosio, A., Quaglia, N.C., Corrente, M., Parisi, A., Santagada, G., Firinu, A., Crisetti, E., Celano, G.V. (2007). Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. *Int J Food Microbiol*, 115: 290-296.
- Oniciuc, E.A., Nicolau, A.I., Hernandez, M., Rodriguez-Lazaro, D. (2017). Presence of

- methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the food chain. *Trends Food Sci and Technol*, 61: 49-59.
- Onurlubaş, E., Çakırlar, H. (2016). Tüketicilerin süt ve süt ürünleri tüketimini etkileyen faktörlerin belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Çankırı Karatekin Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 7(1): 217-242.
- Özbey, F. (2020). Üniversitesi öğrencilerinin süt ve süt ürünleri tüketim alışkanlıklarının belirlenmesi. *Sağlık Profesyonelleri Araştırma Dergisi*, 2(1): 1-6.
- Özpınar, N., Gümüşsoy, K.S. (2013). Phenotypic and genotypic determination of antibiotic resistant and biofilm forming *Staphylococcus aureus* isolated in Erzincan tulum cheese. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 19(3): 517-521.
- Paterson, G.K., Harrison, E.M., Holmes, M.A. (2014). The emergence of *mecC* methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol*, 22(1): 42-47.
- Peacock, S.J., Paterson, G.K. (2015). Mechanisms of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annu Rev Biochem*, 84: 577-601.
- Petersen, A., Stegger, M., Heltberg, O., Christensen, J., Zeuthen, A., Knudsen, L.K., Urth, T., Sorum, M., Schouls, L., Larsen, J., Skov, R., Larsen, A.R. (2013). Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the novel *mecC* gene in Denmark corroborates a zoonotic reservoir with transmission to humans. *Clin Microbiol Infect*, 19(1): E16-E22. DOI: 10.1111/1469-0691.12036.
- Pinho, M.G., Filipe, S.R., De Lencastre, H., Tomasz, A. (2001). Complementation of the essential peptidoglycan transpeptidase function of penicillin-binding protein 2 (PBP2) by the drug resistance protein PBP2A in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, 183: 6525- 6531.
- Pitt, S.J., Gunn, A. (2024). The One Health Concept. *Br J Bipomed Sci*, DOI: 10.3389/bjbs.2024.12366
- Prasetyoputri, A., Jarrad, A.M., Cooper, M.A., Blaskovich, M.A.T. (2018). The eagle effect and antibiotic-induced persistence: two sides of the same coin?. *Trends Microbiol*. DOI: 10.1016/j.tim.2018.10.007
- Prévost, G., Mourey, L., Colin, D.A, Monteil, H., Serra, M.D., Menestrina, G. (2006). Alpha-helix and beta-barrel pore-forming toxins (leucocidins, alpha-, gamma-, and delta-cytolysins) of *Staphylococcus aureus*. In: The comprehensive sourcebook of bacterial protein toxins, 590-607. DOI: 10.1016/B978-012088445-2/50037-8
- Que, Y.A., Moreillon, P. (2010). *Staphylococcus aureus* (including staphylococcal toxic shock). In: Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases, s:

2543-2578.

- Quinn, P.J., Markey, B.K., Leonard, F.C., Fitz Patrick, E.S., Fanning, S., Hartigan, P.J. (2011). Veterinary microbiology and microbial disease. 2nd ed. John Wiley & Sons, UK.
- Rodríguez-Lázaro, D., Oniciuc, E.A., García, P.G., Gallego, D., Fernández-Natal, I., Dominguez-Gil, M., Eiros- Bouza, J.M., Wagner, M., Nicolau, A.I., Hernández, M. (2017). Detection and characterization of *Staphylococcus aureus* and methicillin- resistant *S. aureus* in foods confiscated in EU borders. *Front Microbiol*, 8: e1344. DOI:10.3389/fmicb.2017.01344
- Ross, A., Shoff, H.W. (2023). Toxic Shock Syndrome. In: Stat Pearls. Stat Pearls Publishing, Treasure Island (FL) PMID: 29083727.
- Roy, M.C., Chowdhury, T., Hossain, M.T., Hasan M., Zahran, E., Rahman, M., Zinnah, K.M.A., Rahman, M., Hossain, F.M.A. (2024). Zoonotic linkage and environmental contamination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in dairy farms: a one health perspective. *One Health*, 18: 100680.
- Salmenlinna, S., 2002, Molekular Epidemiology of Meticillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Finland. Faculty of Medicine, University of Helsinki, Haartman Institute. Academic dissertation. 89s, Helsinki.
- Sancak, B. (2011). *Staphylococcus aureus* ve antibiyotik direnci. *Mikrobiyol Bul*, 45(3): 565-576.
- Schelin, J., Wallin-Carlquist, N., Thorup Cohn, M., Lindqvist, R., Barker, G.C., Rådstroöm, P. (2011). The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. *Virulence*, 2(6): 580-592.
- Seker, E., Ozenc, E., Turedi, O.K., Yilmaz, M. (2022). Prevalence of *mecA* and *pvl* genes in coagulase negative staphylococci isolated from bovine mastitis in smallholder dairy farms in Turkey. *Anim Biotechnol*, 34(7): 2427-2432. DOI:10.1080/10495398.2022.2094802
- Sergelidis, D., Angelidis, A.S. (2017). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a controversial food-borne pathogen. *Lett Appl Microbiol*, 64(6): 409-418.
- Silva de Jesus, A.C., Ferrari, R.G., Panzenhagen, P., Conte-Junior, C.A. (2022). *Staphylococcus aureus* biofilm: The role in disseminating antimicrobial resistance over the meat chain. *Microbiology*, 168(10): 001245. DOI: 10.1099/mic.0.001245
- Songer, J.G., Post, K.W. (2012). Veteriner Hekimlik Mikrobiyolojisi Hayvan Hastalığı Etkeni Olan Bakteriler ve Mantarlar Çevirenler: Anđ, Ö., Özgür, Y., Nobel Tıp Kitap Evi, İstanbul.
- Spanu, V., Virdis, S., Scarano, C., Cossu, F., De Santis, E.P.L., Cosseddu, A.M. (2010) Antibiotic

- resistance assessment in *S. aureus* strains isolated from raw sheep's milk cheese. *Vet Res Commun*, 34(1): 87–90
- Stapleton, P.D., Taylor, P.W. (2002). Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: mechanisms and modulation. *Science progress*, 85(1): 57–72.
- Stefani, S., Goglio, A. (2010). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: related infections and antibiotic resistance. *Int J Infect Dis*, 4:19-22.
- Stegger, M., Andersen, P.S., Kearns, A., Pichon, B., Holmes, M.A., Edwards, G., Laurent, F., Teale, C., Skov, R., Larsen, A.R. (2012). Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harbouring either *mecA* or the new *mecA* homologue *mecALGA251*. *Clin Microbiol Infect*, 18(4): 395-400.
- Strommenger, B., Kettlitz, C., Werner, G., Witte, W. (2003). Multiplex PCR assay for simultaneous detection of nine clinically relevant antibiotic resistance genes in *S. aureus*. *J Clin Microbiol*, 41(9): 4089-4094.
- Su, M., Lyles, J.T., Petit, R.A., Peterson, J., Hargita, M., Tang, H., Solis-Lemus, C., Quave, C.L., Read, T.D. (2020). Genomic analysis of variability in delta-toxin levels between *Staphylococcus aureus* strains. *PeerJ*, 8: e8717 DOI:10.7717/PEERJ.8717
- Szczuka, E., Porada, K., Wesołowska, M., Łęska, B. (2022). Occurrence and characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from dairy products. *Molecules*, 27(14): 4649.
- Şeker, E., Özenç, E., Baki Acar, D., Yilmaz, M. (2019). Prevalence of methicillin resistance and Panton-Valentine leukocidin genes in Staphylococci isolated from Pirlak Sheep with subclinical mastitis in Turkey. *Kocatepe Vet J*, 12(4): 424-429.
- Taha, S., 2018. *Staphylococcus aureus* İzolatlarında Antibiyotik Duyarlılığının Belirlenmesi. Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzincan, 104s.
- Tang, Y., Stratton, C. (2010). *Staphylococcus aureus*: an old pathogen with new weapons. *Clin Lab Med*, 30(2010): 179-208.
- Tarakçı, Z., Bölük, M., Karaağaç, M. (2015). Ordu ilinde tüketicilerin peynir tüketim alışkanlıkları. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(2): 55-62.
- Taşçıoğlu, A. (2022). Aydın İlinde Çeşitli Noktalarda Satışa Sunulan Tulum ve Beyaz Peynirlerde *Staphylococcus Aureus* Varlığının ve Klasik Enterotoksin Genlerinin Belirlenmesi. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 78s, Aydın.

- Taylor, T.A., Unakal, C.G. (2023). *Staphylococcus aureus* Infection. (Erişim tarihi 17.09.2024). İçinde: Stat Pearls Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>
- Tessema, F. (2017). Review on the prevalence and drug resistance patterns of *Staphylococcus aureus* in food producing animals, their products and humans. *J Biosci Med*, 1(5): 1-11.
- Titouche, Y., Akkou, M., Houali, K., Auvray, F., Hennekinne, J.A. (2022). Role of milk and milk products in the spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the dairy production chain. *J Food Sci*, 87(9): 3699–3723.
- Turner, N.A., Sharma-Kuinkel, B.K., Maskarinec, S.A., Eichenberger, E.M., Shah, P.P., Carugati, M., Holland, T.L., Fowler Jr, V.G. (2019). Methicillin- resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nat Rev Microbiol*, 17(4): 203-218.
- Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği. T.C. Resmî Gazete, 8 Şubat 2015. Sayı: 29261.
- Urushibara, N., Aung, M.S., Kawaguchiya, M., Kobayashi, N. (2020). Novel staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) type XIV (5A) and a truncated SCCmec element in SCC composite islands carrying speG in ST5 MRSA in Japan. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(1): 46–50.
- Varga, L. (2007). Microbiological Quality of Commercial Dairy Products. In: Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology. Ed: Mendez-Vilas, A., Formatex Microbiology Series, Formatex, Badajoz, Spain, s: 487- 494.
- Vázquez-Sánchez, D., Rodríguez-López, P. (2018). Biofilm Formation of *Staphylococcus aureus*. In: *Staphylococcus aureus*, Ed: Fetsch, A. Academic Press, USA, s: 87- 103.
- Velazquez-Meza, M.E., Galarde-López, M., Carrillo-Quiróz, B., Alpuche-Aranda, C.M. (2022). Antimicrobial resistance: One Health Approach. *Vet World*. 15(3): 743-749.
- Voss, A., Loeffen, F., Bakker, J., Klaassen, C., Wulf, M. (2005). Methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerg Infect Dis*, 11: 1965-1966.
- Waness, A. (2010). Revisiting Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* infections. *J Glob Infect Dis*, 2(1): 49-56.
- Winn, W., Alen, S., Koneman, E., Janda, W., Schreckenberger, P., Woods, G., Procop, G. (2006). The Gram-positive cocci: Part 1: Staphylococci and related organism. In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th Ed, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, s: 539- 576.
- Yilmaz, M., Seker, E. (2022). Investigation of *mecA*, *vanA* and *pvl* genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis in smallholder dairy farms. *Etlik Vet*

Mikrobiyol Derg, 33(1): 50-55.

Zaghloul, M.Z. (2015). *Staphylococcus aureus* toxic shock syndrome. *Trop Med Surg*, DOI: 10.4172/2329-9088.1000E125

Zhao, Y., Yang, Q.E., Zhou, X., Wang, F.H., Muurinen, J., Virta, M.P., Brandt, K.K., Zhu, Y.G. (2021a). Antibiotic resistome in the livestock and aquaculture industries: status and solutions. *Crit Rev Environ Sci Technol*, 51(19): 2159-2196.

Zhao, X., Yuan, X., Hu M, Zhang, Y., Li, L., Zhang, Q., Yuan, X., Wang, W., Liu, Y. (2021b). Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bulk tank milk in Shandong dairy farms. *Food Control*, 125: 107836.

Zhu, Z., Hu, Z., Li, S., Fang, R., Ono, H.K., Hu, D.L. (2024). *Staphylococcus aureus* molecular characteristics and pathogenicity of *Staphylococcus aureus* exotoxins. *Int J Mol Sci*, 25: 395



