



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



KUZU KARKASLARINDA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*'UN VARLIĞI, ENTEROTOKSİJENİK ÖZELLİKLERİ VE ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİĞİNİN BELİRLENMESİ

Erdi ŞEN

**GIDA HİJYENİ ve TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. HAYDAR ÖZDEMİR**

**ANKARA
2021**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KUZU KARKASLARINDA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*'UN
VARLIĞI, ENTEROTOKSİJENİK ÖZELLİKLERİ VE
ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

Erdi ŞEN

**GIDA HİJYENİ ve TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. HAYDAR ÖZDEMİR**

**Bu tez, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 18L.0239004 proje
numarası ile desteklenmiştir.**

**ANKARA
2021**

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “**Kuzu Karkaslarında *Staphylococcus aureus*'un Varlığı, Enterotoksijenik Özellikleri ve Antibiyotik Dirençliliğinin Belirlenmesi**” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Erdi ŞEN

Tarih: 24.08.2021

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında

Erdi ŞEN tarafından hazırlanan

“Kuzu Karkaslarında *Staphylococcus aureus*'un Varlığı, Enterotoksijenik Özellikleri
ve Antibiyotik Dirençliliğinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması
aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 24.08.2021

Prof. Dr. Haydar ÖZDEMİR

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı

Prof. Dr. U. Tansel ŞİRELİ

Ankara Üniversitesi

Üye

Prof. Dr. Barış SAREYYÜPOĞLU

Ankara Üniversitesi

Üye

Doç. Dr. Özgür ÇADIRCI

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye

Doç. Dr. Buket ER DEMİRHAN

Gazi Üniversitesi

Raportör

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fügen AKTAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	xiii
Çizelgeler	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Tarihçe	4
1.2. <i>S. aureus</i> 'un Sınıflandırılması	7
1.3. <i>S. aureus</i> 'un Ayırt Edici Özellikleri	7
1.4. <i>S. aureus</i> 'un Gelişmesi ve Toksin Oluşturması için Gerekli Olan Faktörler	10
1.4.1. Sıcaklık	11
1.4.2. pH-Değeri	11
1.4.3. Su Aktivitesi (a_w)	12
1.4.4. Tuz ve Diğer Kimyasallar	12
1.4.5. Oksidasyon-Redüksiyon Potansiyeli (E_h)	13
1.4.6. Atmosfer	13
1.5. <i>S. aureus</i> 'un Virulans Faktörleri	13
1.5.1. <i>Staphylococcus aureus</i> 'un Ekzopolisakkarit Yapıları	14
1.5.1.1. Kapsül	14
1.5.1.2. Slime Tabakası	14
1.5.1.3. Biyofilm	15
1.5.2. Hücre Duvarı	15
1.5.2.1. Peptidoglikan Tabaka	16
1.5.2.2. Teikoik Asit ve Lipoteikoik Asit	17
1.5.2.3. Yüzey Proteinleri	18
1.5.2.3.1. Protein A	18
1.5.2.3.2. Clumping Faktör	19
1.5.3. Stafiloksantin	19
1.5.4. <i>S. aureus</i> 'un Hücre Dışı Enzimleri	20
1.5.4.1. Katalaz	20
1.5.4.2. Stafilokokal Koagulazlar	20
1.5.4.3. Stafilokinaz	21
1.5.4.4. Termonükleaz	22
1.5.4.5. Deoksiribonükleaz	22
1.5.4.6. Proteazlar	23
1.5.4.7. Hyaluronidaz	24
1.5.4.8. Lipazlar	25
1.5.4.9. Beta Laktamaz	26
1.5.4.10. Lesitinaz	26
1.5.5. <i>S. aureus</i> Toksinleri	26
1.5.5.1. Sitolitik Toksinler	27

1.5.5.1.1 Hemolizinler	27
1.5.5.1.1.1 Alfa Hemolizin (<i>Hla</i> , α -toksin)	27
1.5.5.1.1.2. Beta Hemolizin (Beta toksin, Sfingomyelinaz C)	28
1.5.5.1.1.3. Delta Hemolizin (Delta toksin, δ -toksin)	28
1.5.5.1.1.4. Gama Hemolizin (Gama toksin, γ -toksin)	29
1.5.5.1.2. Lökositinler (Lökotoksinler)	30
1.5.5.1.2.1. Pantan-Valentine Lökositin (PVL)	30
1.5.5.1.2.2. LukED	31
1.5.5.1.2.3. LukAB (LukGH)	32
1.5.5.1.2.4. LukMF'	32
1.5.5.1.2.5. LukPQ	33
1.5.5.1.3. Fenolde Çözünür Modüller	33
1.5.5.2. Eksfoliyatif Toksinler	33
1.5.5.3. Stafilokokal Süperantijenler	34
1.5.5.3.1. Toksik Şok Sendrom Toksin-1	35
1.5.5.3.2. Enterotoksinler	36
1.5.5.3.3. Stafilokokal Enterotoksin Benzeri Stafilokokal Süperantijenler	36
1.6. Stafilokokal Enterotoksinler	37
1.6.1. Stafilokokal Enterotoksinlerin İsimlendirilmesi	38
1.6.2. Stafilokokal Enterotoksinlerin Yapısı ve Özellikleri	38
1.6.3. Stafilokokal Enterotoksinlerin Etki Şekli	40
1.6.4. Stafilokokal Enterotoksin Üretiminde Moleküler Regülasyonu	43
1.6.5. Stafilokokal Enterotoksin Gen Lokasyonları	45
1.6.6. Stafilokokal Enterotoksin Tipleri	47
1.7. <i>S. aureus</i> 'a Karşı Gelişen Antibiyotik Dirençlilikleri	52
1.7.1. Beta laktam Antibiyotiklerine Karşı Direnç	54
1.7.1.1. Penisilin Direnci	54
1.7.1.2. Metisilin Direnci	54
1.7.2. Aminoglikozid Direnci	58
1.7.3. Glikopeptid Direnci	59
1.7.4. Kinolon Direnci	60
1.7.5. Tetrasiklin Direnci	61
1.7.6. Kloramfenikol Direnci	62
1.7.7. MLS Antibiyotiklerine Karşı Direnç	62
1.7.8. Trimethoprim-Sülfametoksazol Direnci	63
1.7.9. Linezolid Direnci	64
1.7.10. Daptomisin Direnci	65
1.8. <i>S. aureus</i> 'un Patogenezi ve Oluşturduğu Semptomlar	65
1.9. <i>S. aureus</i> 'un Hayvansal Gıdalara Geçişinde Kontaminasyon Kaynakları	70
1.10. <i>S. aureus</i> 'un Gıdalarda Varlığı	72
1.10.1. Et ve Et Ürünlerinde <i>S. aureus</i> 'un Varlığı	72
1.10.2. Süt ve Süt Ürünlerinde <i>S. aureus</i> 'un Varlığı	74
1.10.3. Diğer Gıdalarda <i>S. aureus</i> 'un Varlığı	76
1.11. <i>S. aureus</i> 'un Epidemiyolojisi	77
1.12. <i>S. aureus</i> 'a Karşı Korunma ve Kontrol	81
2. GEREÇ VE YÖNTEM	84
2.1. Gereç	84

2.1.1. Mikrobiyolojik Analizlerde Kullanılan Besiyerleri ve Malzemeler	84
2.1.2. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Malzemeler	86
2.1.3. PCR Analizinde Kullanılan Malzemeler	87
2.1.4. Antibiyotik Direncinin Tespit Edilmesi İçin Kullanılan Besiyerleri ve Antibiyotik Diskler	90
2.1.5. Referans Suşlar	90
2.2. Yöntem	91
2.2.1. Örneklerin Alınması	91
2.2.2. Örneklerin Mikrobiyolojik Analizlere Hazırlanması	92
2.2.2.1. <i>S. aureus</i> 'un İzolasyon ve İdentifikasyonu	92
2.2.2.2. Tüpte Koagülaz Testi	93
2.2.2.3. Katalaz Testi	94
2.2.2.4. DNase Testi	95
2.2.2.5. Anaerobik Mannitol Fermentasyon Testi	95
2.2.2.6. β - Hemoliz Testi	96
2.2.3. <i>S. aureus</i> 'un DNA İzolasyonu	97
2.2.4. <i>S. aureus</i> 'un PCR ile Doğrulanması	98
2.2.5. <i>mecA</i> ve <i>mecC</i> Geninin PCR Yöntemi ile Tespiti	99
2.2.6. Enterotoksin Oluşturan Genlerin PCR Yöntemi ile Tespiti	100
2.2.7. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi	100
2.2.8. Antibiyotik Direncinin Tespiti	101
3. BULGULAR	103
3.1. Kuzu Karkaslarında Koagülaz Pozitif Stafilokok ve <i>S. aureus</i> 'un Varlığı	103
3.2. <i>S. aureus</i> 'un PCR ile Doğrulanması	104
3.3. <i>S. aureus</i> 'un PCR ile Enterotoksin Genlerinin Saptanması	105
3.4. <i>S. aureus</i> 'un PCR ile <i>mecA</i> ve <i>mecC</i> Genlerinin Saptanması	108
3.5. <i>S. aureus</i> Suşlarının Antibiyotik Dirençlilik Profili	108
4. TARTIŞMA	110
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	124
ÖZET	126
SUMMARY	127
KAYNAKLAR	128

ÖNSÖZ

Et ve et ürünleri zengin bileşimi nedeniyle insanların beslenmesinde yer alan önemli bir gıdadır. Ancak mikroorganizmaların gelişmesi için gerekli koşullara sahip olması nedeniyle et kolayca bozulabilmektedir. Dolayısıyla dünyada gıda kaynaklı hastalıkların önemli bir kısmı et ve et ürünlerinin tüketimi nedeniyle gerçekleşmektedir. *S. aureus* et ve et ürünlerinde sıklıkla bulunmaktadır. Et *S. aureus*'un üremesi, enterotoksin üretimi ve stafilokokal gıda zehirlenmelerinin meydana gelmesi için önemli kaynaktır. *S. aureus* tarafından üretilen stafilokokal enterotoksinlerin gıdalarla birlikte alınması en yaygın gıda kaynaklı hastalıklardan biri olarak kabul edilen stafilokokal gıda zehirlenmesine neden olmaktadır. *S. aureus*, birçok antibiyotiğe karşı direnci nedeniyle ciddi sağlık sorunlarına yol açabilen fırsatçı bir patojendir. Bu nedenle “çiftlikten çatala” gıda zinciri sisteminde gıda güvenliğinin sağlanması son derece önemlidir.

Bu tez çalışmasında, kuzu karkaslarında *S. aureus*'un varlığının, enterotoksijenik özelliklerinin ve antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Doktora eğitimim süresince hem bilimsel hem de manevi desteğini benden hiç esirgemeyen değerli danışman hocam Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Haydar ÖZDEMİR'e teşekkürlerimi içtenlikle sunarım.

Tezim sırasında hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen tez izleme komitesi hocalarım Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ufuk Tansel ŞİRELİ'ye ve Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Barış SAREYYÜPOĞLU'na teşekkürü bir borç bilirim.

Doktora eğitimim boyunca ailem olarak gördüğüm ve doktora eğitimimde sundukları katkılarından dolayı Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanımıza, Anabilim Dalı'ndaki kıymetli hocalarıma, Doç. Dr. Güzin İPLİKÇİOĞLU ÇİL'e, Dr. Bahar ONARAN'a ve Araş. Gör. Görkem CENGİZ'e içten duygularımla teşekkürlerimi sunarım.

Çalıştığım kurumda bana her konuda destek olan değerli hocam Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Özen YURDAKUL'a, bilgi, birikimlerini ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Erhan KEYVAN'a, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Hidayet TUTUN'a içten duygularımla teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'ndaki kıymetli hocalarıma teşekkürlerimi sunarım. Lisansüstü eğitimine devam eden ve bana her konuda yanımda olan Vet. Hek. Zühal ÇALIŞKAN'a, Vet. Hek. Jerina RUGJİ'ye, Vet. Hek. Zeki EROL'a, Vet. Hek. İsmail YAMAN'a, Gıda Mühendisi Mert MİDAM'a ve Vet. Hek. Soner TUTUN'a şükranlarımı sunarım.

Tezimin tamamlanmasında finansal açıdan destekleri olan Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim. Bu tez, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 18L0239004 proje numarası ile desteklenmiştir.

Aynı zamanda maddi ve manevi destekleriyle beni yalnız bırakmayan ve bugünlere ulaşmamda büyük emekleri bulunan sevgili ve değerli anneme, babama ve halalarıma, hayatımın her anında yanımda olan canım eşim Nihan APAYDIN ŞEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

SİMGELER VE KISALTMALAR

5-HT	5-hidroksitriptamin
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ADAM10	A Disintegrin and Metalloprotease 10
<i>agr</i>	Accessory gene regulator
APC	Antigen Presenting Cell (Antijen Sunan Hücreler)
ATCC	American Type Culture Collection
<i>aux</i>	Auxiliary factors
a_w	Su aktivitesi değeri
β	Beta
BORSA	Borderline Oxacillin Resistance <i>S. aureus</i>
bp	Base Pair (Baz çifti)
C	Cytosine (Sitozin)
Ca	Calcium (Kalsiyum)
CA-MRSA	Community Associated MRSA (Toplum İlişkili MRSA)
CDC	Centers for Disease Control and Prevention (Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezi)
Clf	Clumping Faktör (Bağlı Koagülaz)
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute (Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü)
ddH ₂ O	Ultra Pure Water (Ultra Saf Su)
dfr	Dihydrofolate reductase (Dihidrofolat redüktaz)
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DNase	Deoksiribonükleaz
dNTP	Deoxynucleoside triphosphate (Deoks nükleosid trifosfat)
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control (Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi)
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid (Etilendiamin tetraasetik asit)
EFSA	European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi)

<i>egc</i>	Enterotoxin gene cluster (Enterotoksin gen kümesi)
E_h	Redoks Potansiyeli
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ET	Exfoliative Toxin (Eksfoliyatif Toksin)
FAME	Fatty Acid-Modifiying Enzyme (yağ asidi modifiye enzimleri)
Fc	Fragment crystallizable (Kristalize olabilen fragment)
FDA	Food and Drug Administration (Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi)
<i>fem</i>	Factor essential for resistance to methicillin resistance
G	Guanine (Guanin)
GHP	Good Hygiene Practice (İyi Hijyen Uygulamaları)
GISA	Glycopeptide Intermediate-Resistant <i>S. aureus</i> (Glikopeptide Orta Düzeyde Duyarlı <i>S. aureus</i>)
GMP	Good Manufacturing Practice (İyi Üretim Uygulamaları)
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
HACCP	Hazard Analysis Critical Control Point Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları
HCl	Hidroklorik asit
<i>hmt</i>	High methicillin resistance
INCSS	International Nomenclature Committee for Staphylococcal Superantigens (Uluslararası Stafilokok Süperantijenleri İsimlendirme Komitesi)
ISO	International Organization for Standardization
Kb	Kilo baz
kDa	Kilodalton
kob	Koloni oluşturan birim
LA-MRSA	Livestock Associated MRSA (Çiftlik Hayvanları İlişkili MRSA)
Mb	Mega base
Mg	Magnezyum
$MgCl_2$	Magnezyum klorür
MHC-II	Major Histocompatibility Complex II Major Histokompatibilite Kompleks II
μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre
μm	Mikrometre

mV	Milivolt
MRSA	Methicillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>)
MSCRAMM	Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules Adeziv Matriks Moleküllerini Tanıyan Mikrobiyel Yüzey Bileşenleri
MSSA	Methicillin-Susceptible <i>Staphylococcus aureus</i> (Metisiline Duyarlı <i>S. aureus</i>)
N	Normalite
NaCl	Sodium chloride (Sodyum klorür)
NCTC	National Collection of Type Cultures
ng	Nanogram
(NH ₄) ₂ SO ₄	Ammonium sulfate (Amonyum sülfat)
nM	Nanometer (Nanometre)
OS-MRSA	Oxacillin-Susceptible Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (Oksasilin Duyarlı Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>)
PABA	Para-aminobenzoic acid (Para-aminobenzoik asit)
PBP	Penicillin Binding Protein (Penisilin Bağlayan Protein)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
pH	Power of Hydrogen (Hidrojenin Gücü)
PSM	Phenol-Soluble Modulins (Fenolde Çözünür Modulinler)
PVL	Panton Valentine Leukocidin
RNA	Ribonükleik Asit
rpm	Revolutions per minute
rot	Repressor of toxins
SAg	Stafilokokal Süperantijen
SaPI	<i>Staphylococcus aureus</i> Pathogenicity Island <i>Staphylococcus aureus</i> Patojenite Adası
SCC	Staphylococcal Casette Chromosome (Stafilokokal Kaset Kromozom)
SE	Stafilokokal Enterotoksin
SEI	Staphylococcal Enterotoxin Like Toxin (Stafilokokal Enterotoksin Benzeri Toksin)
subsp	Subspecies (Alt tür)
TBE	Tris Borate EDTA

TCR	T Cell Receptor (T hücre antijen reseptörleri)
TE	Tris EDTA
TNase	Termonükleaz
TNF1	Tumor Necrosis Factor 1 (Tümör Nekroz Faktör 1)
TSST-1	Toxic Shock Syndrome Toxin-1 (Toksik Şok Sendromu Toksin-1)
UV	Ultraviyole
VISA	Vancomycin Intermediate-Resistant <i>S. aureus</i> (Vankomisine Orta Düzeyde Duyarlı <i>S. aureus</i>)
VRSA	Vancomycin Resistant <i>S. aureus</i> (Vankomisin Dirençli <i>S. aureus</i>)
vWbp	The von Willebrand factor-binding protein (von Willebrand faktör bağlayan protein)
Zn ⁺²	Çinko

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Sünger swap tekniği ile kuzu karkaslarından örneklerin alınması.	91
Şekil 2.2. Baird-Parker Agar'da tipik <i>S. aureus</i> suşlarının görünümü.	93
Şekil 2.3. Tüpte koagülaz testi pozitif örneğin görünümü.	94
Şekil 2.4. Katalaz testinde pozitif örneğin görüntüsü.	94
Şekil 2.5. DNase Agar'da pozitif örneğin görüntüsü.	95
Şekil 2.6. Anaerobik mannitol fermentasyon testinde pozitif (sarı renk) ve negatif (kırmızı-turuncu renk) örneğin görüntüsü.	96
Şekil 2.7. % 5 Koyun Kanlı Agar'da pozitif örneğin β -hemoliz görüntüsü.	97
Şekil 2.8. Mueller Hinton Agar'da örneğin antibiyotiklere direncinin görüntüsü.	102
Şekil 3.1. <i>S. aureus</i> izolatlarında 16S rRNA (228 bp) geninin elektroforez görüntüsü.	104
Şekil 3.2. <i>S. aureus</i> izolatlarında coa (117bp) geninin elektroforez görüntüsü.	104
Şekil 3.3. <i>S. aureus</i> izolatlarında nuc (279bp) geninin elektroforez görüntüsü.	105
Şekil 3.4. <i>S. aureus</i> izolatlarında sea (102 bp) geninin elektroforez görüntüsü.	106
Şekil 3.5. <i>S. aureus</i> izolatlarında seb (164 bp) geninin elektroforez görüntüsü.	106
Şekil 3.6. <i>S. aureus</i> izolatlarında sec (257 bp) geninin elektroforez görüntüsü.	106
Şekil 3.7. <i>S. aureus</i> izolatlarında sed (278 bp) geninin elektroforez görüntüsü.	107
Şekil 3.8. <i>S. aureus</i> izolatlarında see (209 bp) geninin elektroforez görüntüsü.	107
Şekil 3.9. <i>S. aureus</i> izolatlarında mecA (163 bp) geninin elektroforez görüntüsü.	108

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Bazı stafilokok türlerinin özellikleri.	9
Çizelge 2.1. Tez çalışmasında kullanılan primerler.	88
Çizelge 2.2. Tez çalışmasında kullanılan antibiyotik diskleri.	90
Çizelge 3.1. Kuzu karkas örneklerinde koagulaz pozitif stafilokok ve <i>S. aureus</i> 'un varlığı.	103
Çizelge 3.2. <i>S. aureus</i> izolatlarında enterotoksin genlerinin varlığı.	107
Çizelge 3.3. <i>S. aureus</i> izolatlarının antimikrobiyal dirençliliği.	109

1. GİRİŞ

İnsanların sağlıklı olarak yaşaması için yeterli ve dengeli beslenmesi gereklidir. Proteinler insan vücudunun temel bileşenlerindendir. Sağlıklı beslenmede kişi başına günlük protein ihtiyacının % 40-50'si hayvansal proteinlerden karşılanmalıdır. İnsanlar için gerekli olan esansiyel aminoasitlerin tamamı sadece hayvansal proteinlerde yer almaktadır. Kuzu eti de dokuz temel aminoasidin tamamını barındıran yüksek kaliteli protein kaynağıdır. Kuzu koyunun bir yaşına gelmemiş yavrusuna denmektedir. Kuzu ve koyun eti dünyada ve Türkiye’de sıklıkla tüketilen kırmızı et türlerinden biridir. Özellikle kuzu eti Türk mutfağının vazgeçilmezi konumundadır. Dana etine göre daha yumuşak yapısı olan kuzu eti zengin vitamin ve mineral kaynağıdır. Koyun ve kuzu etinin karbonhidrat içermeyen kırmızı et çeşitlerinden olması nedeniyle de tercih edilmektedir (Alparslan ve Demirbaş, 2019; Anon, 2020; Hastaoğlu ve Şeker, 2020 ve Saçlı ve Doğan, 2020).

Türkiye’de 2019 yılında toplam koyun sayısı 37 276 050’dir. Yine 2019 yılında kesilen 5 057 026 koyundan 109.382 ton et üretimi gerçekleştirilmiştir (Anon, 2019). Türkiye’de kırmızı et tüketimi gelişmiş ülkelere göre daha düşüktür. Bunun nedenleri arasında kırmızı etin daha pahalı olması söylenebilir. Türkiye’de 2018 yılında kişi başı kırmızı et tüketimi 14,84 kg düzeyinde olup, bunun 13,3 kg’ını sığır eti, 1,5 kg’ını ise küçükbaş hayvan eti oluşturmaktadır (Anon, 2021).

Gıda kaynaklı hastalıklar, değişik yollardan gıdaya bulaşmış gıda patojenleri ve kimyasallarla kontamine olmuş gıdaların tüketimi sonrası ortaya çıkan hastalıkları ifade etmektedir (Ford ve ark., 2015). Gıda kaynaklı hastalıkların varlığı ve bununla ilgili var olan riskler, tüketicilerde gıdalara karşı güven sorununa neden olmuştur. Bu nedenle toplumda gıda güvenliği konusunda duyarlılığın artması ve buna yönelik beklentilerin oluşması nedeniyle ülkeler tarafından belirli tedbirler ve yasal düzenlemeler uygulamaya konulmuştur. Gıda güvenliği, et gibi gıdaların üretildiği adımlar olan “çiftlikten çatala” sürekliliğinin önemli bir bileşenidir. Hayvanın çiftlikteki süreci, mezbahada kesim aşaması, karkasın parçalanma aşaması, etin

işlenmesi ve üretim süreci, paketlenme, nakliyat, depolama, satış ve tüketim et ve et ürünleri sektöründeki üretim zinciridir. Bu aşamalarındaki hijyen eksikliği tüketicilerin sağlığını olumsuz etkileyebilir (Odetokun ve ark., 2021 ve Yaralı, 2019). Gıda kaynaklı hastalıklar ülkelerde önemli sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Ticaretin artması, endüstriyel büyüme, yeni gıda teknolojilerinin kullanılması, insanların yaşam tarzındaki değişiklikler, seyahatin dünya genelinde yaygın olması, hayvancılık faaliyetlerindeki değişiklikler gıda kaynaklı hastalıkların artmasına katkıda bulunmaktadır (Bhaskar, 2017). Kontamine gıdaların tüketimi sonucu her yıl 600 000 000 kişi gıda kaynaklı hastalıklardan etkilenmekte ve 420.000 kişide de ölüm görülmektedir. Diğer bir deyişle dünya nüfusunun % 7,69'u her yıl gıda kaynaklı hastalıklara maruz kalmaktadır ve dünyada yıllık ölümlerin % 7,5'i gıda kaynaklı hastalıklardan kaynaklanmaktadır. Avrupa'da ise gıda kaynaklı hastalıklar her yıl 23 000 000 kişiyi etkilemekte ve yaklaşık 5.000 kişide de ölüme neden olmaktadır (Lee ve Yoon, 2021).

Gıda kaynaklı hastalıklar et endüstrisi için kontrolü zor olan temel problemlerden biridir (Fegan ve Jenson, 2018). Hayvansal gıdalar arasında et ve et ürünleri gıda kaynaklı hastalıklar açısından oldukça önemlidir. Meydana gelen gıda kaynaklı hastalıkların büyük oranı et ve et ürünlerinden kaynaklanmaktadır. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority, EFSA) ve Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC) raporlarına göre 2017 yılında salgınların % 60'ı et ve et ürünleriyle ilişkilendirilmiştir (Anon, 2018a).

Hayvanlarda bulunan patojen mikroorganizmalar insanları çeşitli yollar ile infekte edebilir. İnsanlar için tüketime sunulan hayvanlardan elde edilen etler de bu yollardan biridir. Ancak patojen mikroorganizmalarla etin kontaminasyonu hayvanın kesim aşamasında ve etin işlenmesi sırasında insanlar tarafından meydana gelebilir (Fegan ve Jenson, 2018). Gıdaların işlenmesi sırasındaki kontaminasyon riskinin gıdaların üretim aşamasındaki kontaminasyon riskine göre daha fazla olduğu bilinmektedir (Thakali ve MacRae, 2021).

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) farklı ortam türlerine uyum sağlayabilen çok yönlü fırsatçı bir patojendir. Konağın dışında canlılığını koruyabilir ya da hem insanlarda hem de hayvanlarda derinin normal florasında, burunda, nazofarenkste kolonize olup fırsatçı patojen olarak bulunabilir. *S. aureus* insanlarda ve hayvanlarda ciddi sistemik infeksiyonlar meydana getirerek önemli ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Hem enterotoksijenik özelliklere sahip hem de antibiyotiklere karşı dirençli *S. aureus* suşlarının gıdalarda varlığı da toplum sağlığı açısından oldukça risk teşkil etmektedir. *S. aureus* sıklıkla protein yönünden zengin gıdalarda izole edilebilir ve önceden oluşan stafilokokal enterotoksinlerin (SE) bulunduğu gıdaların tüketilmesiyle stafilokokal gıda zehirlenmelerinin neden olduğu salgınlar görülebilir. Oluşan gıda zehirlenmelerinde semptomlar kısa süre içerisinde şekillenmektedir (Pal ve ark., 2020). Gıda kaynaklı hastalıkların önemli bir etkeni olarak kabul edilen *S. aureus*, et ve et ürünlerinde sıklıkla izole edilmesiyle birlikte gıda zehirlenmelerine, hastalıklara ve ölümlere neden olmaktadır. Kore’de 2001-2006 yılları arasında stafilokokal gıda zehirlenmelerinin yaklaşık % 30’u et ve et ürünlerinden kaynaklanmıştır (Kim ve ark., 2009).

Bakterilerdeki antimikrobiyal direnç halk sağlığı için büyük risk teşkil etmektedir. Hayvancılıkta antibiyotiklerin aşırı ve yanlış kullanımı antibiyotik dirençliliğin yayılmasında etkili olmaktadır. Özellikle ABD’de çiftlik hayvanlarında antibiyotik kullanımı oldukça yaygındır. İnsanlar için tıbbi olarak önemli olduğu düşünülen antibiyotiklerin üçte ikisi gıda amaçlı yetiştirilen hayvanlarda kullanılmak üzere satılmaktadır. ABD’de tarım ve hayvancılıkta yılda yaklaşık 13 000 000 kg antibiyotik kullanılmaktadır. Antibiyotikler çiftlik hayvanlarının tedavisinin yanı sıra hastalıklardan korunma amacıyla da tercih edilmektedir. Küresel olarak çiftlik hayvanlarında antibiyotik kullanımı insan sağlığı için ciddi sonuçlar ortaya koymaktadır ve bu hayvanlardan elde edilen etler ile antimikrobiyal direncin yayılması konusunda toplumda büyük bir kaygı bulunmaktadır. Antibiyotiklere dirençli patojenler hayvanlardan temas yoluyla, kontamine gıda ve suların tüketilmesiyle insanlara geçebilmektedir. İnsanlarda kolonize olan antibiyotiklere dirençli mikroorganizmalar diğer insanlara da bulaşabilmektedir. Ayrıca tarım ve hayvancılıkta oluşan direnç genleri mikroorganizmalar arasında gen transferi yoluyla

insanda bulunan mikroorganizmalara geçebilmektedir (Chang ve ark., 2015; Di Ciccio, 2021; Patel ve ark., 2020 ve Watkins ve Bonomo, 2016). *S. aureus* çevrede yaygın olarak bulunması nedeniyle antibiyotiklere devamlı maruz kalmış ve bakteri canlılığını koruyabilmek için antibiyotiklere karşı direnç geliştirmiştir (Hardy ve ark., 2004). Özellikle Metisiline Dirençli *S. aureus* (Methicillin Resistant *S. aureus*, MRSA) hastanede, toplumda, çiftlik hayvanlarında ve dolayısıyla gıdalarda potansiyel bir tehdit olmaktan çıkmış, dünya çapında hızla gelişen ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir. MRSA kesimhanelerde ve gıda üretim merkezlerinde çevrede ve insanlarda bulunarak karkaslara ve gıdalara bulaşabilir (Grema ve ark., 2015). Özellikle MRSA'nın çeşitli antibiyotiklere olan direnci de tedavi sürecini oldukça zorlaştırmaktadır (Lentino ve ark., 2008).

Türkiye'de tüketilen kırmızı etler arasında sığır etinden sonra en fazla tercih edilen et kuzu etidir. Kuzu eti üretim zincirinde önemli bir gıda kaynaklı patojen olan *S. aureus*'un kontaminasyonunun engellenmesi, toplumda meydana gelebilecek stafilokokal gıda salgınlarının da önüne geçilmesinde önemli bir rol oynayacaktır.

1.1. Tarihçe

S. aureus'un henüz tanımlanmadığı 1830'lu yıllarda, stafilokokal gıda zehirlenmesine benzer kayıtların bulunmasıyla birlikte, insanların stafilokokların gelişebileceği gıdaları tükettikleri sürece, bu hastalığa yakalanmış olmaları muhtemeldir (Bergdoll ve Lee Wong, 2006). Robert Koch tarafından 1878 yılında mikroskopta Gram pozitif koklar olarak tanımlanan stafilokoklar, İskoçyalı cerrah Alexander Ogston tarafından 1881 yılında insan cerahatinden izole edilmiştir. Bakteri, üzüm demetine benzediği için *Staphylococcus* adı verilmiştir (Ogston, 1881).

Anton J. Rosenbach 1884 yılında izole ettiği iki *Staphylococcus* suşunu pigment renklerine göre isimlendirmiştir. Bu suşlardan birinin sarı pigmentli olmasından dolayı Latince'de altın rengi anlamına gelen aureus kelimesi kullanılarak

Staphylococcus pyogenes aureus ismi verilmiştir (Parisi, 1985). Diğer suş ise beyaz renkli olmasından dolayı *Staphylococcus pyogenes albus* olarak isimlendirilmiştir. *Staphylococcus albus*'un 1908 yılında ismi *Staphylococcus epidermidis* olarak değiştirilmiştir (Behling ve ark., 2010).

Stafilokokların gıda zehirlenmesi ile olan ilişkisi 1884 yılında kontamine peynirin tüketilmesi sonucu ABD'de Vaughan ve Sternberg; 1894 yılında kontamine et tüketilmesi sonucu Denys ve 1907 yılında kurutulmuş sığır etinin tüketilmesi sonucu Owen tarafından keşfedilmiştir. Barber 1914 yılında mastitisli hayvanın sütünü bilinçli tüketerek stafilokokların gıda zehirlenmesine neden olduğunu ilk kez kanıtlamıştır (Hennekinne ve ark., 2012). Dack ve ark. (1930), tarafından yapılan çalışmada 11 kişinin zehirlenmesine stafilokoklar tarafından üretilen toksinlerin neden olduğu saptanmıştır. Denison (1936), lise öğrencilerinin bozuk kremalı pasta tüketmesini takiben 122 kişide, tipik stafilokokal gıda zehirlenmesi olduğunu belgelemesinden sonra birçok benzer salgın tanımlanmıştır.

Zopf 1885 yılında stafilokok ve mikrokokları *Micrococcus* cinsine yerleştirmiştir. Flügge tarafından 1886 yılında *Staphylococcus* cinsi jelatini parçalama ve patojenitesinden dolayı *Micrococcus* cinsinden ayrılmıştır. *Staphylococcus*, *Micrococcus* ve *Planococcus* daha sonra 1920 yılında Wislow tarafından *Micrococcaceae* familyasına dahil edilmiştir (Baird-Parker, 1990 ve Götz ve ark., 2006). *Staphylococcus* cinsi içindeki ilk farklılaşma 1925 yılında, koagulaz pozitif stafilokok (orijinal adı "*S. aureus* grubu") ve koagulaz negatif stafilokok olmak üzere iki ayrı grubun eklenmesiyle oluşmuştur (Gherardi ve ark., 2018). Much (1908), tavşan ve at plazması üzerinde bakterinin koagülasyon yeteneğini araştırmıştır. *S. aureus*'un koagulaz varlığının patojenite ile ilişkili olduğu 1920'li yıllarda saptanmış olup; koagulaz testinin patojenik stafilokokların tanısında önemli bir gelişme olduğu 1930'lu yıllarda kabul edilmiştir (Grace ve Fetsch, 2018).

Evans ve ark. (1955), fakültatif anaerob olan kokları *Staphylococcus* cinsine, obligat aerobik olan koklar ise *Micrococcus* cinsine ayırmışlardır. Evans 1957 yılındaki sınıflandırmada anaerob ortamda glikozu fermente edebilmesi nedeniyle

Staphylococcus cinsini mikrokoklardan ayrı tutmuştur (Baird-Parker, 1990). Baird-Parker (1963), fizyolojik ve biyokimyasal testlere göre *Micrococcaceae* familyası Grup I (*Staphylococcus*) ve Grup II (*Micrococcus*) olarak sınıflandırmıştır. Bu gruplar pigmentasyon, koagulaz ve fosfataz reaksiyonları, asetoin üretimi, glikozdan ve diğer şekerlerden aerobik ya da anaerobik olarak asit üretimi özelliklerine bakılarak *Staphylococcus* cinsinde altı, *Micrococcus* cinsinde ise yedi alt gruba ayrılmıştır. Silvestri ve Hill (1965), stafilokok ve mikrokokları DNA baz kompozisyonuna göre ayırmışlardır. *Staphylococcus* cinsi DNA G+C içeriği % 30-40 mol iken; *Micrococcus* cinsi DNA G+C içeriği % 70 mol olduğunu saptamıştır.

Staphylococcus cinsindeki üç tür olan *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus aureus*'un birbirinden ayırt edilmesi koagulaz üretimi, mannitolü aerobik ve anaerobik olarak fermente etmesi, ısıya dayanıklı endonükleaz üretimi ve hücre duvarı yapısı gibi özelliklerine bakılarak yapılmaktadır (Baird-Parker, 1974). Stafilokokları mikrokoklardan ayırt etmek için hücre duvarı kompozisyonu, sitokrom profili, lizostafin, eritromisin, basitrasin ve furazolidon duyarlılıklarına göre çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Götz ve ark., 2006).

Çok sayıda SE'nin bulunmasıyla, belirli bir sınıflandırmanın oluşturulması gerçeği zamanla ortaya çıkmıştır. İlk başta gıdalardan elde edilen enterotoksijenik izolatların sadece F toksini ürettiği düşünülmüştür. Ancak bazı enterotoksijenik izolatların F toksinin yanı sıra, E toksini de ürettiği anlaşılmıştır. Yeni izolatlar ortaya çıktıkça bu sistemin yetersiz kaldığı görülmüştür. Böylece 1962 yılında alfabetik isimlendirme sistemi geliştirilmiştir. Bu sistemde SE'ler keşif sırasına göre alfabenin bir harfi ile isimlendirilmiştir. Bunun sonucunda F ve E toksinleri SEA ve SEB olarak adlandırılmıştır. Daha sonra 1962 ile 1972 yılları arasında SEC, SED ve SEE olmak üzere üç SE daha tespit edilmiştir (Sandel ve McKillip, 2004).

1.2. *S. aureus*'un Sınıflandırılması

Taksonomik olarak daha önce *Micrococcaceae* familyasında yer alan *Staphylococcus* cinsinin moleküler analiz, filogenetik ve kemotaksonomik veriler sonucunda önemli farklılıklara sahip olduğu ortaya çıkmıştır. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* 2004 yılında tekrar güncellenerek *Staphylococcus* cinsi *Staphylococcaceae* familyası altında yeniden sınıflandırılmıştır. 16S *rRNA* sekans analizine dayanarak, *Staphylococcaceae* familyası *Bacillaceae* ve *Listeriaceae* familyaları ile birlikte yer almaktadır (Garrity ve ark., 2004 ve Gherardi ve ark., 2018).

Güncel taksonomide *S. aureus* *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*'e göre, *Bacilli* sınıfında, *Bacillales* takımında *Staphylococcaceae* familyasında yer almaktadır. *Staphylococcaceae* ailesinde *Staphylococcus*, *Jeotigalicoccus*, *Macrococcus* ve *Salinicoccus* cinsleri yer almaktadır. *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*'e göre *Staphylococcus* cinsinde 39 tür 21 alt tür bulunmaktadır. Stafilokok türleri arasındaki filogenetik ilişkilerin tanımlanmasında fenotipik yöntemlerin yetersiz kalmaktadır. Bunun sonucunda stafilokok türleri belirli gen dizilerinden (*rpoB*, *soda*, *tuf*, *gap*, *16S rRNA*, *hsp60*) yararlanılarak farklı gruplara ayrılmaktadır. Stafilokok türleri arasında *S. aureus* deri infeksiyonlarına, solunum yolu hastalıklarına hem de enterotoksin üreterek insanlarda gıda zehirlenmesine neden olmaktadır (Gherardi ve ark., 2018; Liu, 2015 ve Schleifer ve Bell, 2009).

1.3. *S. aureus*'un Ayırt Edici Özellikleri

Staphylococcus cinsinde *S. aureus* haricinde birçok tür bulunmaktadır. Türlerin ayırt edilmesinde hücre duvarı yapısı, koloni morfolojisi, pigment oluşturma özellikleri, ürettikleri çeşitli enzimlerin moleküler özellikleri ve aktiviteleri, karbonhidratları kullanarak asit oluşturma, çeşitli antibiyotiklere direnci, besin ve oksijen gereklilikleri, sitokrom yapısı, yağ asitleri kompozisyonu, lizostafin ve

furazolidon duyarlılığı, asetil metil karbinol (asetoin) oluşturma gibi özellikleri incelenmektedir (Cengiz ve Cengiz, 2004 ve Schleifer ve Bell, 2009).

S. aureus ortalama 1 µm çapında, mikroskop altında üzüm salkımı gibi görünen tek, çift, dördü ve zincir şeklinde koklar halinde düzensiz kümeler oluşturan, küresel, sporsuz, genellikle kapsülsüz ama bazen sınırlı bir kapsüle sahip olan hareketsiz bir mikroorganizmadır. Taze kültürlerde koklar Gram pozitif olarak boyanırken; eski kültürler Gram negatif kok görünümünde olabilmektedir (Brooks ve Carroll, 2007 ve Que ve Moreillon, 2015). Fakültatif anaerob ortamda üreyen *S. aureus*, aerob koşullarda da hızlı bir şekilde üremektedir. Görünümleri streptokoklara benzeyen stafilokoklar katalaz testi ile ayırt edilmektedir. Stafilokok türleri arasında sadece *S. saccharolyticus* ve *S. aureus* subsp. *anaerobius* katalaz negatif olup; obligat anaerob olarak üremektedir. *S. aureus* oksidaz negatiftir (Becker ve ark., 2015 ve Castro ve ark., 2018). *S. aureus*'un identifikasyonunda koagulaz enzimi üretimi önemli bir yer tutmaktadır. Ancak *S. aureus* haricinde *S. aureus* subsp. *anaerobius*, *S. intermedius*, *S. pseudintermedius*, *S. hyicus*, *S. delphini*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans*, *S. leei*, *S. lutrae* türleri de koagulaz üretmektedir. Bunun yanında *S. aureus* ısıya dirençli nükleaz olan termonükleaz (TNase) üretmesi, identifikasyonda önemli bir parametre olarak kullanılmaktadır. Ayrıca Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR) testinde TNase geni olan *nuc* geninin tespiti de *S. aureus*'un identifikasyonunda önemli bir aşamadır (Castro ve ark., 2018; Somerville ve Proctor, 2009 ve Thapaliya, 2019). Ancak *S. pseudintermedius* ve *S. hyicus* subsp. *hyicus*'un da hem koagulaz hem de TNase pozitif olduğu unutulmamalıdır (Bennet ve ark., 2013). Aerobik olarak glikoz, mannitol, laktoz, maltoz, mannoz, sükroz, trehaloz gibi şekerleri fermente ederek gaz oluşturmada asit oluşturmaktadır. Ayrıca glikoz, laktoz, mannitol ve maltoz şekerlerini anaerob olarak da kullanarak asit meydana getirmektedir. Aerobik koşullarda glikoz metabolizması sonucu son ürün olarak asetoin üretmektedir. Ayrıca hücre duvarındaki peptidoglikan tabakası bir metalloendopeptidaz olan lizostafine karşı duyarlı, lizozime karşı dirençli olmasıyla mikrokoklardan ayırt edilmektedir. Stafilokoklar ayrıca basitrasine karşı dirençli iken; furazolidona karşı duyarlıdır (Bhunia, 2018; Brooks ve Carroll, 2007; Castro ve ark., 2018; Foster ve Geoghegan, 2015 ve Liu, 2015).

S. aureus 37 °C’de hızlı bir şekilde gelişmesine rağmen, pigment oluşumunu en iyi oda sıcaklığında (20-25 °C) gerçekleştirir. Katı agarda koloniler parlak, yuvarlak, pürüzsüz, konvektir. *S. aureus* gri renkten altın sarısı renge kadar koloniler oluşturmaktadır. Anaerob koşullarda ve sıvı kültürde koloni oluşumu gözlenmez. *S. epidermidis*’in birçok kolonisi uzun süreli inkubasyon sonucunda beyaz renkli pigment oluşturur (Brooks ve Carroll, 2007). Kanlı agarda *S. aureus* tipik olarak sarı pigmentli, pürüzsüz, hemolitik koloniler oluşturmaktadır. Ancak küçük koloni varyantları pigmentsiz, hemolitik olmayan ve genellikle normal boyutlu kolonilerle karıştırılan nokta koloniler oluşturmaktadır (Foster ve Geoghegan, 2015). Baird-Parker Agar’da *S. aureus*’un tellüriti kullanması ve yumurta sarısını lesitinaz aktivitesi sayesinde parçalaması sonucu, etrafında şeffaf zonlar olan siyah parlak koloniler oluşturarak, tipik özelliklerini göstermektedir. Mannitol, phenol red ve % 7,5 oranında tuz içeren ve selektif bir besiyeri olan Mannitol Salt Agar’da ise sarı zonlar ile çevrili sarı opak koloniler *S. aureus* kolonileri olarak yorumlanmaktadır. *S. aureus*’un doğrulanmasında tüpte koagülaz testi ile birlikte kullanılan biyokimyasal testlerden biri de DNase aktivitesidir. Bunun için DNA içeren DNase agar inkübasyondan sonra kolonilerin üzerine 1 N HCl döküldüğünde kolonilerinin etrafındaki berrak bölgeler, DNase pozitif kolonileri göstermektedir (Adam ve Moss, 2008; Bhunia, 2018 ve Kateete ve ark., 2010). Bazı stafilokok türlerinin özellikleri Çizelge 1. 1’de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Bazı stafilokok türlerinin özellikleri (Bennet ve ark., 2013).

Özellikler	Türler			
	<i>S. aureus</i>	<i>S. pseudintermedius</i>	<i>S. hyicus</i>	<i>S. epidermidis</i>
Pigmentasyon	+	-	-	-
Koagülaz	+	+	+/-	-
DNase	+	+	+/-	-
Hemoliz	+	+	-	+/-
Mannitol (anaerobik)	+	-	-	-
Asetoin	+	-	-	+
Clumping Faktör	+	+	+/-	-
Hyaluronidaz	+	-	+	-
Lizostafin	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Az duyarlı

Yaklaşık 2600 gen içeren *S. aureus* suşlarının genom boyutu % 33 mol G+C içeriği ise 2,8-2,9 Mb'dir. Toplam genomun yaklaşık % 75'ini temsil eden çekirdek genom canlı kalma, metabolizma ve gelişme için gerekli olan temel işlevleri içermektedir. Genomun geri kalan % 25'i transpozon, plazmid ve stafilokokal kaset kromozomu (staphylococcal cassette chromosome, SCC) gibi hareketli genetik unsurlardan oluşmaktadır. Genomun bu kısmında yardımcı komponentler ve tür içi gen transferi ile elde edilebilen yabancı genler de mevcuttur. Bununla birlikte yüzey proteinleri, salgılanan toksinler, enzimler gibi virülans genleri ve antibiyotik direnç ile ilişkili genleri de barındırmaktadır (Foster ve Geoghegan, 2015 ve Samanta ve Bandyopadhyay, 2020).

1.4. *S. aureus*'un Gelişmesi ve Toksin Oluşturması için Gerekli Olan Faktörler

Gıdalarda mikroorganizmaların gelişimi gıda ile ilgili iç faktörler, gıdaların saklandığı çevre ile ilgili dış faktörler ve işlemsel faktörlerden etkilenmektedir (Hennekinne, 2018). Enterotoksin üretimi her zaman bakterinin gelişmesine eşlik etmese de, *S. aureus*'un üremesi enterotoksin üretimi için gereklidir (Schelin ve ark., 2011).

Stafilokoklar üremeleri için uygun çevre şartlarına ve belirli organik besin maddelerine ihtiyaç duyarlar. Aminoasitleri nitrojen kaynağı olarak kullanırlar. B grubu vitaminlerinden olan Tiamin (B1 vitamini) ve niasine (B3 vitamini) gereksinimleri vardır. Anaerobik ortamda üreyebilmeleri için urasile ihtiyaç duyarlar (Jay ve ark., 2005 ve Mah ve ark., 1967). Onoue ve Mori (1997), yaptıkları çalışmada *S. aureus*'un gelişmesi için valine; üremesi ve enterotoksin oluşturması için de arginin ve sistine ihtiyaç duyduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca lizin, aspartik asit, glutamik asit, lösin ve tirozinin *S. aureus*'un üremesi için gerekli olmadığını, ama bu aminoasitlerden birinin eksik olması durumunda enterotoksin üretiminin azaldığını ve SEA üretiminin SEB ve SEC üretimine göre daha az etkilendiğini

vurgulamışlardır. Yapılan diğer bir çalışmada ise yüksek glikoz konsantrasyonunun SEA, SEB ve SEC üretimini azalttığı ifade edilmiştir (Jarvis ve ark., 1975).

S. aureus'un üremesi ve enterotoksin üretimi beslenme faktörlerinden etkilenmektedir. *S. aureus* rekabetçi flora varlığında iyi üreyemez. Asidik gıdalar, pH'nın düşmesi, H₂O₂ üretimi, antibiyotiklerin varlığı, uçucu bileşikler, diğer mikroorganizmaların varlığı ve sıcaklık bakterinin inhibisyonunda etkili olmaktadır. Peynir, ayran, yoğurt gibi fermente süt ürünleri üretiminde kullanılan starter kültürler *S. aureus*'un gelişimini ve enterotoksin oluşumunu engellemektedir. Ancak çeşitli durumlarla starter kültürlerin başarısız olması durumunda gıda kaynaklı zehirlenmeler meydana gelebilir (Genigeorgis, 1989; Haines and Harmon, 1973; Hennekinne, 2018 ve Smith ve ark., 1983).

1.4.1. Sıcaklık

S. aureus 6,7 °C gibi düşük sıcaklıklarda bile üreyebilmesine rağmen mezofil karakterdedir. Üreme 7-47,8 °C arasında gerçekleşirken, optimum üreme 35-37 °C'de olmaktadır (Jay ve ark., 2005). Normalde *S. aureus*'un üremesi düşük sıcaklıklarda daha yavaş olmaktadır. Enterotoksin üretimi de *S. aureus*'un üremesiyle ilişkili olduğundan dolayı bu sıcaklıklarda enterotoksin saptanabilmesi için daha uzun bir süre gereklidir (Bergdoll ve Lee Wong, 2006). Toksin üretimi ise 10-46 °C arasında; optimum olarak da 40-45 °C sıcaklıklar arasında gerçekleşmektedir. Bu belirtilen sıcaklık dereceleri diğer, parametrelerin koşullarına göre değişiklik gösterebilir (Jay ve ark., 2005).

1.4.2. pH-Değeri

S. aureus'un gelişimi için optimum pH-değeri aralığı 6,0-7,0 iken; çoğu suşu pH 4,2-10,0 aralığında da üreyebilmektedir (Landgraf ve Destro, 2013). Çevresel koşullar daha kısıtlı hale geldikçe *S. aureus*'un gelişmesi için pH-değeri aralığı da

değişmektedir (Gillaspy ve Iandolo, 2014). Anaerob ortamda ise pH 4,6'nın altında inhibe olmaktadır (Mossel ve Netten, 1990).

Enterotoksin üretiminde ise pH-değeri aralığı 4,8-9,0 ile sınırlıdır. SEA için optimum pH-değeri aralığı 5,3-6,8 iken; diğer enterotoksinlerin optimum pH-değeri aralığı 6,0-7,0 olarak belirtilmektedir (Adam ve Moss, 2008).

1.4.3. Su Aktivitesi (a_w)

S. aureus'un bir başka önemli özelliği ise diğer halofilik olmayan bakterilere göre daha düşük su aktivitesi değerlerinde üreyebilmesidir. İdeal koşullar altında üreyebilmesi için minimum a_w -değeri 0,83 ve toksin oluşturması için 0,86 olmalıdır. Optimum olarak üremesi ve toksin oluşturması için su aktivitesi değeri $> 0,99$ olmalıdır (Adam ve Moss, 2008 ve Bennett ve ark., 2013). SE üretimi için a_w -değeri koşulları, toksin tipine bağlı olarak bakteri büyümesi için gerekli olan koşullardan biraz farklıdır. SEA ve SED üretimi, diğer tüm koşullar optimal olduğu sürece *S. aureus*'un büyümesine izin veren hemen hemen tüm a_w -değeri koşulları altında gerçekleşmektedir. SEB üretimi, a_w 'deki azalmalara oldukça duyarlıdır ve aşırı büyümeye rağmen, $a_w \leq 0,93$ 'te neredeyse hiç üretilmemektedir. Yine a_w -değerinin SEC üretimi üzerindeki etkisi, SEB üretimi ile benzer şekildedir. SEE ise en düşük 0,92 a_w -değerinde oluşabilmektedir (Hennekinne, 2018).

1.4.4. Tuz ve Diğer Kimyasallar

S. aureus'un yüksek tuz konsantrasyonuna toleransı nedeniyle, tuz içeriği yüksek gıdalarda üremesinin kolay olması, gıda zehirlenmesi riskini artırmaktadır. Tuz içermeyen ortamlarda da iyi gelişebilen *S. aureus*, % 20 oranında tuz içeren ortamlarda dahi üreyebilen, tuza en dayanıklı mikroorganizmalardan biridir (Foster, 2002). Yapılan bir çalışma sonucunda, *S. aureus*'un enterotoksin oluşturabilmesi için tuz konsantrasyonunun en yüksek % 10 oranında olması gerektiği belirtilmiştir.

Üremenin ve enterotoksin oluşturmaının daha iyi olabilmesi için pH'nın yüksek; tuz konsantrasyonunun düşük olması gerektiği belirtilmiştir (Genigeorgis ve Sadler, 1966). Ayrıca, *S. aureus* tellürit, sodyum azit, neomisin, polimiksin, civa klorür gibi kimyasallara karşı yüksek toleransa sahiptir. Besiyerine ilave edilen % 7,5 oranında tuz konsantrasyonu ve kimyasallar *S. aureus*'un gelişmesi için selektif ortam oluşturmaktadır (Foster, 2002 ve Jay ve ark., 2005).

1.4.5. Oksidasyon-Redüksiyon Potansiyeli (E_h)

S. aureus <-200 mV ile >+200 mV aralığında gelişmektedir. Aerob koşullarda optimum oksidasyon redüksiyon potansiyeli gelişme ve toksin oluşturma parametresi ise >+200 mV'dir (Adam ve Moss, 2008 ve Cretenet ve ark., 2011).

1.4.6. Atmosfer

S. aureus en iyi oksijen varlığında üreyen fakültatif anaerob bir bakteridir. Ancak anaerob koşullarda büyümesi aerob ortamlara göre oldukça yavaştır (Hennekinne, 2018). Yapılan bir çalışmada, anaerob koşullarda *S. aureus*'un daha yavaş ürettiği ve daha az SEA ürettiği bulunmuştur (Belay ve Rasooly, 2002).

1.5. *S. aureus*'un Virulans Faktörleri

Stafilokok türleri arasında en patojen tür olan *S. aureus* insanlarda birçok enfeksiyona neden olmaktadır. Hücresel bileşenler, salgılanan enzimler ve toksinler gibi faktörler *S. aureus*'un enfeksiyon oluşturmaı için gereklidir. Bu faktörler virulans faktörleri olarak da bilinmektedir (Cheung ve ark., 2004 ve Costa ve ark., 2013). Virülans faktörleri bakterinin konakçıya tutunmasına, doku hasarına, yayılmasına ve konakçıya karşı korumasına yardımcı olmaktadır (Arvidson ve Tegmark, 2001).

1.5.1. *Staphylococcus aureus*'un Ekzopolisakkarit Yapıları

Bazı *S. aureus* suşlarında glikokaliks tabakası olarak da bilinen kapsül, slime tabakası gibi çeşitli ekzopolisakkarit yapılar tanımlanmıştır. Bu polisakkarit yapıdaki katmanlar hücre duvarını kaplamaktadır. Mikroorganizmanın konakçı ile etkileşmesinde rol oynamaktadırlar. Ayrıca bakterinin virülansında önemli rol oynamaktadırlar (Baselga ve ark., 1994).

1.5.1.1. Kapsül

Stafilokokal kapsül polisakkarit yapıdadır. Kapsül hücreyi fagositoza karşı korumaktadır. Ayrıca virülans faktörü olarak rol oynamaktadır (Samantha ve Bandyopadhyay, 2020). Bu kapsülün en az 11 farklı serotipi tanımlanmasına rağmen, kapsüller polisakkarit 1, 2, 5 ve 8 serotiplerinin biyokimyasal yapısı belirlenebilmiştir. Kapsüller serotip 5 ve 8 klinik açıdan önemli olan hayvan ve insanlardan elde edilen izolatların çoğunda görülmektedir ve çoğu MRSA suşunda serotip 5 görülmektedir (O'Riordan ve Lee, 2004 ve Thapaliya, 2019).

1.5.1.2. Slime Tabakası

Hem *S. aureus*'da hem de koagulaz negatif stafilokoklarda bulunabilen slime tabakası, yapısında % 40 oranında karbonhidrat ve % 27 oranında protein içermektedir. Suda çözünabilen, gevşek ve şekilsiz bir yapıdadır. Slime tabakası bakterinin plastik ve metal gibi yabancı cisimlere, ürediği kültürlerle ve konak hücreye adezyonu sağlamaktadır. Slime tabakasına sahip olan stafilokok suşlarının virülansı daha yüksektir. Ayrıca hücreyi fagositoza ve antibiyotiklere karşı da korumaktadır. Slime tabakası, konakçı organizmanın hücresel immun savunmasını baskılar. Biyofilm oluşturma yeteneği sayesinde ise bakterinin çevre şartlarına olan direncini artırmaktadır (Cengiz ve Cengiz 2004 ve Murray ve ark., 2016).

1.5.1.3. Biyofilm

Biyofilm canlı ve cansız bir yüzeye tutunan kendi ürettiği hücre dışı bir matrise gömülü, olumsuz çevresel koşullara karşı adaptasyona izin verilmiş fenotipik ve genotipik özelliklere sahip hücrelerin oluşturduğu sabit bir mikroorganizma topluluğudur (Dufour ve ark., 2012). Mikrobiyal adezyon ve toplanma, çoğalma, polisakkaritler, proteinler ve hücre dışı DNA'dan oluşan hücre dışı polimerik maddelerin üretimi, besinlerin, sinyal moleküllerinin ve atıkların uzaklaşmasını sağlayan kanalları içeren biyofilmin olgunlaşması ve tam yapıdan hücrelerin salınması biyofilm aşamalarını oluşturmaktadır. Biyofilmler bakteriye hayatta kalma avantajı sağladığı için, bir yaşam tarzı olarak kabul edilmektedir. *S. aureus* kolay biyofilm oluşturan bakteri gruplarından biridir ve biyofilm kritik bir virülans faktörü olarak bilinmektedir. Biyofilm oluşumu bakteriye aşırı sıcaklık, asitlik, nem gibi çevresel koşullara karşı hayatta kalma avantajı sağlamaktadır. Hastane ve gıda işletmelerinde biyofilmlerin varlığı oldukça önem teşkil etmektedir. *S. aureus* tarafından oluşturulan biyofilmler insan dokuları, kalıcı katater, yapay kalp kapakçıkları, kemik ve eklem protezleri gibi cansız yüzeylerde, çeşitli gıdalarda ve gıda işleme tesislerinde tespit edilmiştir. Mikroorganizmalar yüzeylerde biyofilmler şeklinde büyüyerek gıda ve suların kontaminasyonuna, metal yüzeylerin erozyonuna ve ekipmanların tıkanmasına neden olabilir. *S. aureus* polisitren, polipropilen, paslanmaz çelik, cam gibi endüstriyel tesislerin yüzeylerinde biyofilm oluşturabilmektedir. Özellikle gıda endüstrisinde biyofilmlerin oluşumu gıda işleme ortamlarında *S. aureus*'un kalıcılığına katkıda bulunmaktadır ve dolayısıyla çapraz kontaminasyon olasılığı da artarak insan sağlığı için ciddi bir risk ve gıda sektörü için ekonomik kayıp oluşmaktadır (Otto, 2019; Rozalska ve Sadowska, 2018 ve Vazquez-Sanchez ve Rodriguez-Lopez, 2018).

1.5.2. Hücre Duvarı

Bakteriler çeşitli ortamlarda bulunabilen tek hücreli mikroorganizmalardır. Hücre duvarı çeşitli fonksiyonlarıyla ve benzersiz bileşenleriyle hem bakterinin

canlılığını koruyan hem de bakteriye virölans özelliği kazandıran önemli bir yapıdır. Hücre duvarının fonksiyonları arasında bakteriyi çevresel faktörlere karşı koruması, bakterilere şekil ve esneklik kazandırması, ilaçlar ve virüsler için reseptör bölgelerinin olması, antibiyotikler için hedef bölgelere sahip olması yer almaktadır. Ayrıca hücre duvarı, sahip olduğu özelliklerine göre bakterilerin identifikasyonunda kullanılan Gram boyama yönteminde rol oynamaktadır (Rohde, 2019).

Stafilokokların hücre duvarının mikroskop görünümü ve kimyasal yapısı diğer Gram pozitif bakterilerin hücre duvarlarına oldukça benzerdir. Hücre duvarı genellikle 60-80 nm kalınlığında, homojen ve yoğun elektron içermeyen yapıdadır. Gram pozitif bakterilerin hücre duvarları, doğal bağışıklık sistemi tarafından tanınan birçok bileşen içermektedir. Peptidoglikan tabaka, teikoik asit ve yüzey proteinleri hücre duvarını oluşturan yapılardır (Götz ve ark., 2006 ve Shimada ve ark., 2010).

1.5.2.1. Peptidoglikan Tabaka

Hücre duvarının başlıca yapısını oluşturan peptidoglikan tabakası, stafilokoklarda hücre duvarı ağırlığının yaklaşık % 50-60'ını oluşturmaktadır. Mürein olarak da bilinen peptidoglikanın ilk tabakasında, β -(1,4) glikozid bağı ile bağlanan N-asetil glikozamin ve N-asetil muramik asidin tekrarlanan disakkarit birimlerinden oluşan heteropolimer bir yapı bulunmaktadır. N-asetil muramik asite bağlı L-alanin, D-glutamin, L-lizin, D-alanin, D-alanin şeklinde oluşan oligopeptit zincir ikinci tabakada bulunmaktadır. Üçüncü tabakada ise stafilokoklar için spesifik olan L-lizin amino asidinin, amino grubu ile N-asetil muramik asite bağlı oligopeptid zincirindeki alanin amino asidinin karboksil grubu pentaglisin zincirleri ile çapraz bağlanmaktadır. Çapraz bağ içeriğinin fazla olması, glikan ipliklerinin kısa olması ve pentaglisin köprülerinin varlığı, stafilokokal hücre duvarının daha esnek ve sert olmasını sağlamaktadır. Peptidoglikan hem hücreye şekil vermektedir hem de sitoplazmanın turgor basıncına karşı koyarak hücre canlılığını korumaktadır. Peptidoglikan çoğu teikoik asit ve Adeziv Matriks Moleküllerini Tanıyan Mikrobiyel Yüzey Bileşenlerini (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix

Molecules- MSCRAMM) sabitleyen bir yapı olduğu için bakterinin patogenezinde rol oynamaktadır. Peptidoglikan tabakasının biyolojik aktiviteleri arasında lökosit migrasyonunun engellenmesi, makrofajlardan sitokin salgılanması, kompleman aktivasyonu, trombositlerin agregasyonu ve lizisi yer almaktadır (Peacock, 2006; Sobral ve Tomasz, 2019; Sychantha ve ark., 2017 ve Vollmer ve ark., 2008).

Lizostafin de hücre duvarındaki peptidoglikan tabakasına hedef alan diğ er bir enzimdir. *S. aureus*'un da duyarlı olduğu lizostafin, peptidoglikan tabakasında pentaglisin köprülerine etki ederek, hücrelerin parçalanmasına neden olmaktadır (Sobral ve Tomasz, 2019).

1.5.2.2. Teikoik Asit ve Lipoteikoik Asit

S. aureus hücre duvarının önemli bir yapısı olan teikoik asitler ritibol fosfat (duvar teikoik asitleri) ve gliserol fosfattan (lipoteikoik asit) oluşmaktadır. Duvar teikoik asitleri peptidoglikan tabakasına kovalent bağ ile bağlanırken; lipoteikoik asitler plazma membranına diasilgliserol molekülleriyle bağlıdır. *S. aureus* ve diğ er Gram pozitif bakterilerin çoğ u her iki teikoik asit tipine de sahip iken; *S. epidermidis* ve bazı stafilokok türlerinde teikoik yapısındaki polimeri sadece gliserol fosfat birimleri oluşturmaktadır. Duvar teikoik asit suda çözünebilen bir disakkarit bağlantı birimi ve fosfodiester bağlarıyla bağlı tekrarlayan ribitol ünitelerinden oluş an zincire sahip bir polimerdir (Swoboda ve ark., 2010; Weidenmaier ve Lee, 2017 ve Xia ve ark., 2010).

Teikoik asitlerin çoğ u hem negatif yüklü fosfat gruplarının varlığı hem de pozitif yüklü amino gruplarına sahip D-alanin esterleri varlığı nedeniyle zwitter iyon özelliğ i sergilemektedir. Hücre zarfının ayrılmaz parçası olan duvar teikoik asit aynı zamanda *S. aureus*'un önemli bir yüzey belirleyici ajanıdır. Teikoik asit hücre duvarı muhafazasında, kolonizasyonda ve antimikrobiyal ajanlara olan duyarlılıklarda önemli rollere sahiptir (Weidenmaier ve Lee, 2017 ve Xia ve ark., 2010). *S.*

aureus'un nazal kolonizasyonu için teikoik asidin burundaki epitel hücreler ile spesifik olarak etkileşimi gereklidir (Weidenmaier ve ark., 2004).

1.5.2.3. Yüzey Proteinleri

Hücre duvarının uç kısmında bulunan yüzey proteinleri, patojenitenin belirlenmesinde etkili olmaktadır. Bu proteinlerin hücre dışı matriks ve plazma proteinlerine yapışabilme yeteneği konakçı dokunun kolonizasyonunda ve istilasında önemli rol oynamaktadır. Konakçı dokuya bağlanmasına MSCRAMM olarak bilinen yüzey proteinleri aracılık etmektedir. Bu protein grubunda fibronektin bağlayan protein, kollajen bağlayan protein, clumping faktör, elastin bağlayan protein, stafilokokal protein A gibi 24'den fazla yüzey proteini yer almaktadır. Bu adezinler peptidoglikan tabakasına kovalent olarak bağlıdır (Clarke ve Foster, 2006 ve Foster ve ark., 2014).

1.5.2.3.1. Protein A

Protein A, çoğu *S. aureus* suşlarında bulunan *spa* geni tarafından kodlanan, 42 kDa ağırlığında ve başlıca hücre duvarına bağlı olan bir yüzey proteindir. Protein A IgG3 haricindeki antikorların Fc (fragment crystallizable, kristalize olabilen fragment) kısmına bağlanmaktadır. Böylece Fc reseptör ile ilişkili bakteriyel fagositozu engellemektedir ve ayrıca kompleman sisteminin başlatılmasına müdahale etmektedir. Protein A hem endotelde bulunan von Willebrand faktörüne hem de tümör nekroz faktör α reseptörü olan Tümör nekroz faktör reseptör 1'e (Tumor Necrose Factor 1, TNFR1) bağlanabilmektedir. Protein A, TNFR1'e bağlanarak yangısal uyarımı azaltmaktadır. Bağlandığı bölgede endotel hasarı meydana getirerek trombosit yapışmasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda endovasküler hastalıkların patogenezinde rol oynadığı ifade edilmektedir. Protein A, B-hücresi reseptörlerine bağlanarak spesifik antikorların birleşme yeteneğini sınırlandırdığı için B-hücresi süperantijeni olarak bilinmektedir. Ayrıca biyofilm oluşumuna da yardımcı

olmaktadır. Protein A immünoloji laboratuvarında ve *S. aureus*'un identifikasyonunda kullanılan önemli bir yapıdır. *S. aureus*'da protein A varlığı koaglutinasyon testinin temelini oluşturmaktadır (Brooks ve Carroll, 2007; Chavakis ve ark., 2007; Clarke ve Foster, 2006; Lee ve Bohach, 2004; Procop ve ark., 2017 ve Samanta ve Bandyopadhyay, 2020).

1.5.2.3.2. Clumping Faktör

Clumping faktör A (ClfA) ve Clumping faktör B (ClfB) plazma varlığında *S. aureus*'un kümeleşmesine neden olan hücre duvarındaki önemli yapılardır (Foster ve H  k, 1998). Clumping faktör (bağlı koagulaz) plazmada fibrinojen ile doğrudan reaksiyona girerek,         fibrine dönüştürür ve *S. aureus*'un kümelenmesine neden olur. Clumping faktörün saptanması, *S. aureus*'un identifikasyonunda önemli bir uygulamadır (Kumar, 2016 ve Que ve Moreillon, 2015).

Yapısal olarak ClfA ve ClfB birbirine benzer olsa da ClfA fibrinojenin   zincirinin C terminaline; ClfB fibrinojenin   zincirine bağlanmaktadır. ClfB ekspresyonu sadece büyümenin eksponansiyel fazın başında ve *agr* quorum-sensing sisteminin kontrolünde olduğu için kümeleşmeye katkısı ClfA'nın gölgesinde kalmaktadır (Crosby ve ark., 2016).

1.5.3. Stafiloksantin

S. aureus'un hücre duvarına bağlı olarak bulunan, stafiloksantin bakteriye adını veren karakteristik olarak altın sarısı renginden sorumlu olan turuncu-kırmızı triterpenoid karotenoid pigmenttir. Rosenbach tarafından da stafilokoklar pigmentlerin kolonilere yansıtıkları renklere göre *S. aureus* ve *S. epidermidis* olarak ayırt edilmiştir. *S. aureus* optimum 37  C'de  rerken; *S. aureus* pigmentleri optimum 25  C'de oluşmaktadır. Çoğu bakterideki karotenoidler 40 karbon zincirine sahip olsa da *S. aureus*'da bulunan triterpenoid karotenoidler 30 karbonlu zincire sahiptir.

Stafiloksantin biyosentezi için nükleotid sekansı beş genden oluşan *crtOPQMN* operonu ve *sig B* operonu gereklidir (Clauditz ve ark., 2006; Marshall ve Wilmoth, 1981; Pelz ve ark., 2005 ve Somerville ve Proctor, 2009).

1.5.4. *S. aureus*'un Hücre Dışı Enzimleri

S. aureus enzimatik özelliklere sahip çok sayıda önemli virülans faktörleri üretmektedir. Enzimler farklı substratlara ve etki mekanizmalarına sahiptir. Enzimler *S. aureus* için ortamda bulunan makromolekülleri parçalayarak besinler sağlamaktadır. Ayrıca enzimler *S. aureus*'un canlı kalmasını ve yayılmasını desteklemektedir. Konak dokuların bileşenlerine etki ederek, *S. aureus*'un patojenitesine önemli katkıda bulunmaktadır (Arvidson, 2006 ve Tam ve Torres, 2019).

1.5.4.1. Katalaz

S. aureus hidrojen peroksidi suya ve oksijene dönüştüren katalaz enzimini üretmektedir. Fagositik hücreler tarafından yutulan *S. aureus*, katalaz enzimi ürettiği için miyeloperoksidaz sistem tarafından oluşturulan toksik hidrojen peroksit ve serbest radikallere karşı kendisini korumaktadır. Katalazın spesifik aktivitesi bakterinin büyümesinde eksponansiyel fazın başında düşük iken; durgunluk fazında en yüksek seviyeye ulaşmaktadır. Katalaz testi *S. aureus*'u streptokoklardan ayırmak için kullanılan testlerden biridir (Brooks ve Carroll, 2007; Das ve ark., 2008 ve Sandel ve McKillip, 2004).

1.5.4.2. Stafilokokal Koagulazlar

S. aureus'un çoğu suşu koagulaz enziminin yanısıra von Willebrand faktör bağlayan proteini de (vWbp) salgılamaktadır. Bu vWbp proteini üretimini sağlayan *vwb* genini oluşturan tüm *S. aureus* suşları, benzer şekilde koagulaz üretimini

sağlayan *coa* genini de oluşturmaktadır. Koagulaz ve vWbp insan ve tavşan plazmasını pıhtılaştırmada oldukça etkilidir (Bjerketorp ve ark., 2006; Bonar ve ark., 2018 ve Chmagh ve Al-Abbas, 2019).

Koagulaz pozitif stafilokoklar hücreye bağlı koagulaz ve serbest koagulaz olmak üzere iki farklı koagulaz üretmektedirler. Serbest koagulaz fibrinojeni bakteri hücrelerini çevreleyen ve bakteriyi fagositozdan koruyan bir katman olan fibrine dönüştürmektedir. Hücre duvarına bağlı olan koagulaz ise fibrinojeni doğrudan çözünmez fibrine dönüştürür ve *S. aureus*'un kümeleşmesine neden olur (Murray ve ark., 2016 ve Tam ve Torres, 2019). Stafilokokal koagulaz enzimleri patogeneze ve enfeksiyonun devamlılığını sağlayan; ayrıca sepsis ve endokarditi destekleyen bir virülans faktörü olarak bilinmektedir (Bonar ve ark., 2018 ve Peetermans ve ark., 2015).

1.5.4.3. Stafilokinaz

Stafilokinaz ya da diğer adıyla fibrinolizin, *S. aureus*'un eksponansiyel üreme fazının sonunda ürettiği, 136 aminoasitten oluşan hücre dışı proteindir. Stafilokinaz *sak* geni içeren profajları taşıyan *S. aureus*'un lizojenik suşları tarafından üretilmektedir. Stafilokinaz üç boyutlu kristal yapısında merkezi α -heliks, beş iplikli β -tabaka ve iki kısa β -ipliği içermektedir. α -heliks dimerizasyon işlemi sırasında iki stafilokinaz arasında ya da stafilokinaz ile plazminojen arasındaki başlıca etkileşim bölgelerini içermektedir. Bu bölgede oluşan mutasyonlar stafilokinazın plazminojeni aktive etme yeteneğini kaybetmesine neden olmaktadır. Trombolitik bir ajan olarak bilinen stafilokinaz ile plazminojen arasındaki etkileşim önemli bir konudur. Stafilokinaz serumda plazminojen ile 1:1 oranda kompleks oluşturmaktadır. Bu kompleks plazminojenin plazmine dönüştürülmesinde oldukça etkilidir. Ancak bu kompleks enzimatik olarak aktif değildir. Enzimatik aktiviteye sahip olabilmesi için, stafilokinaz-plazmin formuna dönüşmesi gereklidir. Stafilokinaz-plazmin kompleksi α 2-antiplazmin tarafından ayrışmaya duyarlıdır. Ancak fibrine bağlı stafilokinaz-plazmin kompleksi α 2-antiplazmine karşı koruyucudur. Fibrin bağlı kompleks IgG

ve C3b komplemanını parçalayarak bakterinin opsonizasyonunu önlemektedir (Bokarewa ve ark., 2006; Jin ve ark., 2004; Lijnen ve ark., 1991 ve Rooijackers ve ark., 2005).

Stafilokinaz α -defensin ve plazminojen ile etkileşimi nedeniyle virülans faktörü olarak belirtilmektedir. Stafilokinazın plazminojene bağlanması, konakçı dokuda bakterinin invazyonunu etkilemektedir. Stafilokinaz-plazminojen kompleksi enfeksiyöz odak ve apse çevresindeki fibrine bağlanarak, *S. aureus*'un konakçıda daha derin dokulara girmesine yol açabilir (Bokarewa ve ark., 2006).

1.5.4.4. Termonükleaz

Stafilokokal nükleaz ısı inaktivasyonuna olan direncinden dolayı termonükleaz (TNase) olarak da bilinmektedir. *S. aureus*'un % 95'inden fazlası bu enzimi üretmektedir. TNase diğer stafilokoklardan ayırt edilmesinde kullanılan önemli bir enzim olarak bilinirken; termonükleazı kodlayan *nuc* geni PCR yönteminde *S. aureus*'u saptamak için kullanılan bir gendir. Hem endo hem de ekzo-nükleaz olarak faaliyette bulunan TNase, fosfodiester bağlarını ayırarak, DNA ve RNA'yı parçalamaktadır (Tam ve Torres, 2019; Tang ve ark., 2006 ve Victor ve ark., 1969).

1.5.4.5. Deoksiribonükleaz

Çoğu *S. aureus* suşunun ürettiği Deoksiribonükleaz (DNase), nükleik asitleri 3'fosfomononükleik asitlere parçalayan ekstraselüler bir enzimdir. DNase aktivitesi uygun pH ve Ca konsantrasyonuna bağlıdır. *S. aureus*'un identifikasyonunda tüpte koagulaz testinden sonra, DNase testinin yapılması daha güvenilir sonuçlar alınmasını sağlamaktadır. DNase testinin duyarlılığının ve özgüllüğünün yüksek olduğu yapılan çalışma sonucu ifade edilmiştir. Ayrıca tüpte koagulaz testi ile uyumluluğu oldukça yüksektir. *S. aureus*'un deoksiribonükleaz aktivitesi DNA içeren bir agarda anlaşılmaktadır. İnkübasyondan sonra agara 1 N HCl asit

döküldüğünde deoksiribonükleaz üreten koloniler etrafında opak bölgeler görülmektedir. Ayrıca toludin mavisi ya da metil yeşili kullanılan modifiye DNase agar, *S. aureus*'un deoksiribonükleaz aktivitesini belirlemede kullanılabilir (Bayraktar ve ark., 2004; Cuatrecasas ve ark., 1967; Morton ve Cohn, 1972 ve Smith ve ark., 1969).

1.5.4.6. Proteazlar

S. aureus'un çoğu suşu ekstrasellüler proteolitik aktivite göstermektedir. Stafilokoklar serin proteazlar, sistein proteazlar ve metaloproteazlar olmak üzere üç proteaz grubu üretmektedir. Çoğu *S. aureus* suşu bir serin proteaz (V8 proteaz), bir metaloproteaz (aureolisin) ve iki farklı sistein proteazı olan stafopain A ve stafopain B'yi kodlayan genlere sahiptir. Bu proteazlar bakterinin beslenmesinde ve yayılmasında rol oynamaktadır (Karlsson ve Arvidson, 2002).

Aurolizin (proteaz III) stafilokinaz kaynaklı plazminojen aktivasyonuna sinerjik etki etmektedir ve fibrinolitik sistemin aktivasyonuna önemli katkı sağlamaktadır. Böylece bakterinin yayılmasına ve invazyonuna destek olmaktadır. Ayrıca plazma proteinaz inhibitörlerini (α_1 -antikemotripsin, α_1 proteinaz inhibitör) inaktive ederek *S. aureus*'un yayılmasını kolaylaştırabilir. Böylece konakçı koagülasyon sistemini manipüle etmektedir (Arvidson, 2006 ve Tam ve Torres, 2019).

S. aureus serin proteaz karakterize edilen ilk stafilokokal proteazdır. Glutamil endopeptidaz ya da V8 proteaz olarak da bilinmektedir. Enzimatik olarak inaktif olan V8 proteazın aktif olabilmesi için aurolizin enzimi gereklidir. Bu yüzden diğer proteolitik enzimlerle birlikte çalışmadığı sürece *S. aureus* serin proteaz'ın etkisi sınırlı olmaktadır. Enfeksiyonun sırasında, V8 proteaz bakterinin canlı kalmasına destek olabilir ve konakçı doku proteinlerini (α_1 proteinaz inhibitör) inaktive ederek bakterinin yayılmasını sağlayabilir. Ayrıca IgD, IgE, IgG ve IgM'ye ait zincirleri

parçalayarak bakteriye karşı konakçı savunmasını bozabilmektedir (Arvidson, 2006 ve Tam ve Torres, 2019).

S. aureus stafopain A, B ve C olmak üzere üç hücre dışı sistein proteaz salgılamaktadır. Stafopainler *S. aureus*'dan inaktif olarak salgılanmaktadır. Prostafopain B V8 proteaz tarafından aktive edilmektedir. Stafopain A ve B kollajen ve fibrinojeni parçalayabilmektedir. Böylece kanın pıhtılaşmasını geciktirerek kanamaya neden olabilir. Stofainler konakçı sistein proteaz inhibitörlerini degrade ederek o bölgedeki proteolitik dengenin bozulmasına sebep olmaktadır. Sonuç olarak katepsinlerin aktivitesini artırılır ve antimikrobiyal peptitlerin bozulmasına yol açarlar. Ayrıca stafopainler fagositik hücrelerin yüzey proteinlerinin yapısını bozarak hücrelerin apoptik ölümüne ve makrofajlar tarafından uzaklaştırılmasına neden olmaktadır. Stafopainlerin bu etkileri *S. aureus*'un yayılmasını teşvik ederek bakterinin infeksiyonunda rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Arvidson, 2006 ve Tam ve Torres, 2019).

1.5.4.7. Hyaluronidaz

İnsan dokularında hücre dışı matrisin önemli bir bileşen olan, hyaluronik asidi parçalayan enzim olan hyaluronidaz (hyaluronat liyaz) stafilokok türleri arasında sadece *S. aureus* ve *S. hyicus* tarafından üretilmektedir. Hyaluronik asit tekrarlayan D-glukuronik asit ve N-asetil-D glukozaminden oluşan doğrusal bir polisakkarittir. Hyaluronik asit hücrelerde ve dokularda homeostaz ve yapısal bütünlüğü sağlayan kritik bir yapıdır. Ayrıca immun sistemin regülasyonu için de önemlidir. Hyaluronidaz enzimi hyaluronidik asidin β -1-4 glikozidik bağlarını ayırmaktadır (Tam ve Torres, 2019). Hyaluronidaz enziminin aktivitesi ilk olarak 1933 yılında, tavşan derisi infeksiyonun yayılmasını sağlayan bir faktör olarak bildirilmiştir. Chain ve Duthie 1940 yılında hyaluronidazı yayılma faktörü olarak tanımlamıştır. Stafilokokal hyaluronidaz *hysA* geni tarafından kodlanmaktadır. Hyaluronidaz enzimi hücre dışı matrislerde ve biyofilmlerde hyaluronik asidi parçalayarak,

bakterinin yayılmasını sağlamaktadır (Chain ve Duthie 1940; Duran-Reynals, 1933; Makris ve ark., 2004 ve Tam ve Torres, 2019).

1.5.4.8. Lipazlar

Lipaz enziminin *S. aureus*'un virulansı ile olan ilişkisi yapılan çalışmalar sonucu tanımlanmıştır. Bununla birlikte lipazın *S. aureus*'un patogeneğine doğrudan katkı sağladığı belirtilmiştir (Hu ve ark., 2012).

S. aureus beta toksin ve Fosfatidilinozitol-Spesifik Fosfolipaz C (PI-PLC) olmak üzere iki fosfolipaz enzimi sentezlemektedir. Beta toksin hemolitik ve sitolitik aktivitelere sahip nötr bir sfingomiyelinazdır. PI-PLC fosfatidilinositolu (PI) digliserit ve inositol fosfata hidrolize etmektedir. PI-PLC'nin *S. aureus*'un insan kanında ve nötrofillerde canlı kalmasını teşvik ettiği belirtilmiştir (Tam ve Torres, 2019 ve White ve ark., 2014).

Derin doku infeksiyonlarını meydana getiren *S. aureus* izolatları yüzeysel infeksiyon oluşturan izolatlara göre daha fazla lipaz enzimi üretmektedir. Lipazlar granülositlerin toplanmasını sağlayarak fagositozu azaltmaktadır. Ayrıca bakterisit etkili lipazların da parçalanmasına neden olarak *S. aureus*'un canlı kalma ihtimalini artırmaktadır. Lipazlar bakteriyel beslenme için önemli bir işleve sahiptir (Arvidson, 2006; Rollof ve ark., 1987 ve Tam ve Torres, 2019).

İlk kez 1992 yılında tanımlanan yağ asidi modifiye enzimlerin (FAME, Fatty Acid-Modifying Enzyme) konakçı lipidlerin, bakterisit etkilerini inhibe ettiği belirlenmiştir (Mortensen ve ark., 1992). *S. aureus* ve *S. epidermidis* türlerinin % 80'i tarafından üretilmektedir. FAME bakterisit etkili serbest yağ asitlerini alkol substratı ile esterleştirerek stafilokok türlerinin hayatta kalmasına destek vermektedir. Lipazlar FAME'nin aktivitesini inhibe eden trigliseritleri parçalarken; FAME stafilokokları korumak için, lipazlar tarafından serbest kalan yağ asitlerini esterleştirmektedir. Lipaz üreten çoğu suşun da FAME ürettiği gözlemlenmiştir.

Yapılan alışmalar sonucunda FAME reten *S. aureus* suşlarının daha virülent olduğu anlaşılmıştır (Arvidson, 2006 ve Tam ve Torres, 2019).

1.5.4.9. Beta Laktamaz

Beta laktamaz enzimi, çeşitli beta laktam antibiyotiklerin yapısını bozan ve aktarılabilen bir enzimdir. Beta laktamaz enzimi antibiyotiklerdeki beta laktam halkasını hidrolize edip, penisilinik asit oluşturarak molekülün antimikrobiyal zelliliğini devre dışı bırakmaktadır. Beta laktamaz enziminin anormal retilmesi Borderline Dirençli *S. aureus* (Borderline-Resistant *S. aureus*, BORSA) oluşmasına etki etmektedir. Penislinaz plazmid kökenli genler tarafından kodlandığı için, bakteriler arasında kolayca yayılabilmektedir (Chambers, 1997 ve Foster, 2017).

1.5.4.10. Lesitinaz

Çoğu *S. aureus*'un lipolitik aktivite ile ilgili ürettiği enzimlerden biri de lesitinazdır. Baird-Parker Agar'a ilave edilen Egg-Yolk Tellürit emülsiyonu ile *S. aureus* kolonileri lesitinaz aktivitesini göstererek, koloni etrafında şeffaf zonların oluşmasını sağlarlar (Matos ve ark., 1995).

1.5.5. *S. aureus* Toksinleri

S. aureus hafif cilt infeksiyonlarından, yaşamı tehdit eden sistemik hastalıklara kadar çeşitli hastalıklara neden olan toksinler üretmektedir. *S. aureus* toksinleri sitolitik toksinler, ekzofoliyatif toksinler ve süperantijenler olmak üzere üç temel gruba ayrılmaktadır (Kim, 2019).

1.5.5.1. Sitolitik Toksinler

Hemolizinler (alfa, beta, gama, delta hemolizinler), Panton-Valentin Lökositin (PVL), LukAB / GH ve LukED gibi lökositinler ve fenolde çözünabilir modüller sitolitik toksinlerdir. Yapılan çalışmalar insan ve hayvanlarda görülen infeksiyonların *S. aureus* hemolizinleri ile ilişki içerisinde olduğunu göstermiştir (Larsen ve ark., 2002 ve Moraveji ve ark., 2014).

1.5.5.1.1 Hemolizinler

1.5.5.1.1.1 Alfa Hemolizin (*Hla*, α -toksin)

Alfa toksin, *S. aureus* suşlarının % 95'i tarafından salgılanan, suda çözünabilen, proinflamatuvar özelliklere sahip 33 kDa'lık bir polipeptittir (Grumann ve ark., 2014). Hücre yüzeyine bağlandıktan sonra alfa hemolizin monomerleri toplanarak hedef hücrenin zarında ön gözenek olan silindirik homoheptameri oluşturmaktadır. Daha sonra olgun 1-3 nm'lik beta fıçı por oluşmaktadır. Bu porlar 2 kD'dan küçük olan potasyum ve kalsiyum iyonlarının taşınmasına izin vererek hedef hücrenin lizisine neden olmaktadır (Berube ve Wardenburg, 2013 ve Vandenesch ve ark., 2012). Oluşan heptamerik porlar kırmızı kan hücrelerini, nötrofiller hariç lökositleri, epitel hücrelerini ve fibroblastları lize etmektedir (Kim, 2019). Alfa toksin için hücresel bir reseptör olan ADAM10 (A Disintegrin and Metalloprotease 10), çinkoya bağlı metaloproteazdır. Alfa toksin bağlantı proteini E-kaderinin ayrılması için ADAM10 proteazı aktive ederek epitel bariyerin bozulmasına yol açabilir. Böylece alfa toksin *S. aureus*'un hücre istilasına zemin hazırlayabilir (Oliveira ve ark., 2018).

Alfa toksin çeşitli memeli hayvanların eritrositlerine karşı aktif olmasıyla birlikte tavşan eritrositlerine karşı daha aktiftir. Toksin çeşitli hücre tipleri üzerinde sitotoksik etkiler uygulayarak hem insanlarda hem de hayvanlarda cilt nekrozu,

ölümcül infeksiyon ve nörotoksit etki nedeni olarak bilinmektedir (Divyakolu ve ark., 2019).

1.5.5.1.1.2. Beta Hemolizin (Beta toksin, Sfingomyelinaz C)

Beta toksin, 35 kDa'lık bir moleküler ağırlığa sahiptir ve bir sfingomyelinaz olarak işlev görmektedir. Alfa toksinin aksine beta toksin plazma hücre zarında porlar oluşturmaz. Bunun yerine plazma membran lipidi olan sfingomyelin hidrolize etmektedir ve apoptozu indüklemektedir (Kim, 2019). Beta toksinin hemolitik aktivitesi eritrositlerde bulunan sfingomyelin içeriğine bağlıdır. Beta toksin kaynaklı hemoliz ve sfingomyelin hidroliz aktivitesi, Mg^{+2} gibi iki değerlikli katyonlar ile daha etkili olmaktadır. Buna göre koyun, keçi ve sığır eritrositleri toksine oldukça duyarlı iken; köpek ve fare eritrositleri dirençlidir. İnsan ve tavşan eritrositleri ise daha az duyarlıdır. Ayrıca beta toksinin sfingomyelinaz aktivitesi insan keratinositleri, monositleri, T hücreleri ve sığır epitel hücrelerini de lize etmektedir (Tam ve Torres, 2019).

Beta toksinin enzimatik aktivitesi, hemolitik aktivite için gereklidir. Beta toksin, koyun kanlı agar üzerindeki benzersiz etkinliği nedeniyle sıcak-soğuk toksini olarak da bilinir. Beta toksin 37 °C'de koyun kırmızı kan hücreleri ile etkileşime girer ama tam parçalayamaz. Kan hücreleri 4 °C'ye yerleştirilirse hücreler parçalanır. Sonuç olarak 37 °C'de kanlı agarda hemoliz eksikliği ve 4 °C'de tam hemoliz görülmektedir (Huseby ve ark., 2007).

1.5.5.1.1.3. Delta Hemolizin (Delta toksin, δ -toksin)

Delta toksin alfa heliks yapısına sahip 26 aminoasitten oluşan küçük bir amfipatik peptittir. Hemen hemen tüm *S. aureus* suşları ve diğer birçok koagülaz negatif stafilokok türleri tarafından üretilmektedir. Delta hemolizini (*hld*) kodlayan gen, *S. aureus*'da bulunan *agr* (yardımcı gen düzenleyici) lokusunun bir parçasıdır.

Isıya dayanıklı olan delta toksin konakçının hücre zarını bozmak için yüzey aktif özelliklere sahiptir. Eritrositlere, diğer hücrelere ve organellere karşı litik özelliği bulunmaktadır (Divyakolu ve ark., 2019 ve Pontieri, 2018).

Delta toksin anti alfa ve beta hemolizinlerin eklendiği kanlı agarda dar bir tam hemoliz bölgesi oluşturduğu tespit edilmiştir. Delta hemolizin *S. aureus* tarafından salgılanan diğer hemolizinlerden daha geniş bir hemolitik aralığa sahiptir. Delta toksin, geniş bir hücre yelpazesine yönelik aktivite sergilediğinden, dokular için potansiyel olarak sitotoksiktir ve lökositler üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olabilir. At, tavşan, insan, domuz, buzağı, koyun, keçi, kedi ve tavuk eritrositlerine lize edebilmektedir. Beta hemolizin ve delta hemolizin koyun eritrositleri üzerinde sinerjik bir etki göstermektedir. Delta toksin hemolitik aktivitesini farklı mekanizmalar üzerinden gerçekleştirmektedir. Toksin hücre membranında kümeleşerek porlar oluşturabilmektedir. Ayrıca hücre yüzeyine bağlanarak plazma membranını dengesizleştirmektedir. Toksinin hücreyi lize etmesinde Triton X-100 ve deterjanlarla benzer etkiye sahip olduğu ifade edilmektedir (Pontieri, 2018; Vandenesch ve ark., 2012 ve Verdon ve ark., 2009).

1.5.5.1.1.4. Gama Hemolizin (Gama toksin, γ -toksin)

Gama toksini çoğu *S. aureus* suşu salgılamaktadır. Gama hemolizin PVL, LukED ve LukGH'den oluşan iki bileşenli bir sitotoksin grubu üyesidir. Gama toksin, birbiri ile ilişkisi olmayan ve suda çözünebilen S (Slow; Yavaş) komponentinden ve F (Fast; Hızlı) komponentinden oluşmaktadır. Gama toksinde S komponentini HlgA ve HlgC; F komponentini ise HlgB lokusu kodlamaktadır. Gama hemolizini meydana getiren HlgA 32 kDa, HlgB 34 kDa ve HlgC 32,5 kDa ağırlığındadır. Gama toksininin eritrositler üzerindeki etkisi HlgB (F) 'nin ilk bağlanması ve sonrasında HlgA (S) tarafından gözenek oluşmasıyla meydana gelmektedir. Gama toksin nötrofillerde, makrofajlarda ve birçok memeli hayvanların eritrositlerine karşı sitolitik aktivite göstermektedir. Ancak gama hemolizinin

hemolitik aktivitesi kanlı agarda saptanamaz (Divyakolu ve ark., 2019; Pontieri, 2018 ve Woodin, 1959).

1.5.5.1.2. Lökositidinler (Lökotoksinler)

1.5.5.1.2.1. Panton-Valentine Lökositidin (PVL)

Lökositotoksik aktivite, infeksiyonun ilk aşamalarında infeksiyona neden olan bakterilerin konakçı organizmada canlı kalmasını sağlamaktadır. PVL, iki bileşenli ve hetero-oligomerik gözenek oluşturuşu bir l kotoksindir. PVL LukF-PV ve LukS-PV olmak üzere iki alt birimden oluşur. Diğer ekzoproteinlere benzer şekilde PVL sentezi ve sekresyonu eksponansiyel büyüme fazı sonlarında ve durağan fazda gerçekleşir. LukF-PV ve LukS-PV ekspresyonunda, iki bileşenli ve çevresel sinyallere duyarlı *agr* düzenleyici sistem yer almaktadır. Bununla birlikte, PVL kodlayan gen ekspresyonunun düzenlenmesinde transkripsiyon faktörü, *MgrA* da rol oynayabilir. PVL polimorfonükleer nötrofilleri, monositleri ve makrofajları hedef alan sitotoksindir. PVL alt birimleri, LukF-PV ve LukS-PV, suda çözünür monomerler biçiminde salgılanır ve sonunda transmembran gözenek oluşturan proteinlere dönüşür. Toksin bulunduğu konsantrasyonlar hücre lizisin s resinde etkilidir. Daha yüksek konsantrasyonlar bir saat içinde hücre lizisine neden olmaktadır. Bununla birlikte, *in vivo* PVL seviyelerinin konakçı hücre lizisine neden olmak için yetersiz olduğu da belirtilmiştir. PVL sitolitik özellikleri, *in vitro* kapsamlı çalışmalardan iyi bilinmektedir (Nawrotek ve ark., 2018).

PVL genlerini taşıyan *S. aureus* izolatlarının nispeten düşük yüzdesine (% 2-5) rağmen, PVL ile insanlarda toplum kaynaklı MRSA (Community Associated MRSA, CA-MRSA) infeksiyonlarının ortaya çıkışı arasındaki ilişki için güçlü epidemiyolojik kanıtlar vardır. Ancak yapılan çalışmada PVL'nin CA-MRSA'nın başlıca vir lans faktörü olmadığı anlaşılmıştır (Voyich ve ark., 2006). Yine CA-MRSA suşları, hücre membranında bir gözenek oluşturarak lökositlerin (insan, sığır, tavşan) parçalanmasından sorumlu olan l kositidini üretir. PVL, sıklıkla apse oluşumu

ve şiddetli nekrotizan pnömoni ile bağlantılı bir *S. aureus* toksinidir. Yapılan klinik çalışma, PVL-pozitif *S. aureus* ile ilişkili pnömoninin, PVL-negatife kıyasla daha ölümcül olduğunu göstermiştir. Bu hastaların otopsis, PVL-pozitif *S. aureus* hastalarının ülser ve hemorajik akciğerlere sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır (Gillet ve ark., 2002; Oliveira ve ark., 2018 ve Seilie ve Wardenburg, 2017). Subklinik mastitisli hayvanlardan belirlenen *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus simulans* ve *Staphylococcus warneri* gibi koagulaz negatif stafilokoklardan *pvl* genleri tespit edilmiştir (Ünal ve Çınar, 2012). MRSA'nın insanlar ve hayvanlar arasında iki yönlü bulaşma olasılığı nedeniyle, PVL-pozitif MRSA hastalıklarının klinik yönleri, risk faktörleri ve epidemiyolojisi ile ilgili daha fazla araştırma yapılması, hem insan hem de veteriner hekimliği açısından oldukça önemlidir (Nawrotek ve ark., 2018).

1.5.5.1.2.2. LukED

LukED lökotoksini oluşturan lukE ve lukD alt birimlerinden oluşur ve bakterinin geç üreme fazında sentezlenir. Bu LukED toksini, tavşan ve insan eritrositlerine ve nötrofillere karşı sitolitik aktiviteye sahiptir. Fakat son yapılan çalışmalar bu toksinin, fare fagositlerine karşı da etkili olduğunu göstermektedir. Yine LukED toksini, nötrofiller, monositler, makrofajlar, dendritik hücreler, NK hücreleri, T-hücreleri ve kırmızı kan hücreleri üzerindeki G-protein-bağlı reseptörleri (CXCR1, CXCR2, CCR5 ve DARC) hedefleyerek geniş lökositidal aktivite gösterir (Tam ve Torres, 2019). Epidemiyolojik verilere göre Japonya'da klinik suşların % 87-93'ünde ve MRSA suşların % 88-99'unda LukED toksinleri tespit edilmiştir. Bu yüzden bu toksinin *S. aureus*'un patojenitesinde katkısı olduğu düşünülmektedir. Bu LukED toksini ile ilgili ilk çalışmalar, tavşan derisinin toksin kaynaklı dermonekrozuna sebep olduğunu göstermektedir (Gravet ve ark., 1998 ve Oliveira ve ark., 2018).

1.5.5.1.2.3. LukAB (LukGH)

S. aureus suşlarının % 99'unda *lukAB* lokusu bulunmaktadır. Toksin bakterinin geç eksponansiyel büyüme fazı boyunca bol miktarda bulunmaktadır. Bu LukA'nın C-terminal bölgesi, toksin aktivitesi için kritiktir, çünkü bu bölgenin yok olması veya mutasyonu toksini inaktif hale getirir. Monomer olarak salgılanan diğer lökositinlerin aksine, LukAB heterodimerler olarak salgılanmaktadır. Yine LukAB, insan ve primat hücrelerine karşı oldukça etkilidir. Bu LukAB toksini, lökotoxin grubu içinde keşfedilen en son toksindir ve bu toksinin *in vivo* infeksiyon sırasında rolü hala belirsizliğini korumaktadır. LukAB nötrofiller, monositler, makrofajlar, dendritik hücreler ve NK hücreleri dahil olmak üzere lökositlerde sitotoksisteye neden olduğu belirlenmiştir. Bu iki bileşenli lökotoxin, fagositlerden ve nötrofillerden korunmada rol oynadığı için *S. aureus*'un canlı kalmasını sağladığı bilinmektedir (Oliveira ve ark., 2018 ve Tam ve Torres, 2019).

1.5.5.1.2.4. LukMF'

LukMF' nadiren insan izolatları arasında bulunurken, yaygın olarak hayvan izolatlarında bulunmaktadır. Bu LukMF' toksini yüzey reseptörü sığır CCR1, CCR2 ve CCR5'i hedefleyerek, sığır nötrofillerine ve makrofajlarına karşı yüksek sitolitik aktivite sergilemektedir. Yine LukMF' toksini, sığır mastitis doku örneklerinden izole edilebilir, bu da bu toksinin hastalığın ilerlemesindeki rolünü gösterebilmektedir. Yapılan çalışmada 38 klinik ve 17 subklinik mastitisli süt örneklerinden elde edilen *S. aureus* izolatlarının % 96'sında LukMF' genine rastlanılmıştır (Hoekstra ve ark., 2018; Rainard ve ark., 2003; Vrieling ve ark., 2015 ve Vrieling ve ark., 2016).

1.5.5.1.2.5. LukPQ

Diğer lökositinler gibi LukPQ'de tür ve hücre tipine özgü özellikler göstermektedir. At nötrofilleri, LukPQ'nun litik etkisine en duyarlıyken, sığır ve insan nötrofilleri nispeten daha duyarsızdır. LukPQ, sitolizi başlatmak için at nötrofillerindeki G proteinine bağlı reseptörleri, CXCR4 ve CXCR2'yi hedeflemektedir. Diğer lökositinlerden farklı olarak, LukQ'nun F alt birimi, LukPQ'nun tür özgüllüğünü vermekten sorumlu olmasına rağmen, diğer lökositinlerde tür özgüllüğü S alt birimi tarafından belirlenmektedir (Koop ve ark., 2017).

1.5.5.1.3. Fenolde Çözünür Modüller

Fenolde çözünür modüller (PSM) ilk olarak 1999 yılında, içinde PSM α , PSM β ve PSM γ olarak adlandırılan üç peptit *S. epidermidis* kültüründe tanımlanmıştır. Ayrıca yapılan çalışmalar PSM'lerin *S. aureus*'da varlığını belirtmiştir. PSM'ler uzunluklarına göre sınıflandırılmaktadır. α tip PSM'ler tipik olarak 20-25 amino asit uzunluğundadır ve çoğu nötr veya pozitif bir net yüke sahiptir. Buna karşılık, β tipi PSM'ler daha uzun olup, 43-45 amino asit uzunluğundadır ve çoğu negatif bir net yüke sahiptir. Yapılan çalışmalarda, PSM'lerin *S. aureus*'un genomu tarafından üç farklı lokasyondan kodlanarak üretildiğini göstermiştir. Buna ek olarak, bazı metisiline dirençli stafilocoklar, stafilokokal kaset kromozom *mec*'de bulunan (SSC*mec*) *psm-mec* tarafından kodlanan PSM-mec taşımaktadır (Oliveira ve ark., 2018; Tam ve Torres, 2019 ve Wang ve ark., 2007).

1.5.5.2. Eksfoliyatif Toksinler

Eksfoliyatif toksinler (ET), keratinosit kaybı ve hücre-hücre yapışması ile ilişkili olan, konağın epidermisinde bazı *S. aureus* suşları tarafından üretilen, cildin

soyulmasına ve kabarcık oluşumuna neden olan ekzotoksinler olarak tanımlanmıştır. Cildin superfisyal tabakasındaki dezmozomal kaderinleri tanıyıp parçalamaktadır. *S. aureus*'un yanı sıra *S. hyicus* ve *S. chromogenes* deri infeksiyonları ile ilişkilidir ve eksfoliyatif toksin üretmektedir (Mariutti ve ark., 2017).

Daha önceden bilinen dört farklı eksfoliyatif toksinler ETA, ETB, ETC, ETD'dir (Oliveira ve ark., 2018). Ancak yeni bulunan eksfoliyatif toksin E (ETE) sıklıkla küçükbaş hayvanlardan izole edilen *S. aureus* izolatları ile ilişkilendirilen yeni virülans faktörüdür. Koyun mastitisinden izole edilen *S. aureus* O46 suşunda keşfedilmiştir. ETE'nin aminoasit dizisi ETA, ETB ve ETD ile sırasıyla % 40, % 53 ve % 59 oranında benzerlik göstermektedir. Bu yeni virülans faktörü, mastitis görülen ruminantlarda epitelde bakteriyel kolonizasyona katkıda bulunabilir (Imanishi ve ark., 2019).

1.5.5.3. Stafilokokal Süperantijenler

Süperantijenler (SAG'ler), *S. aureus* tarafından üretilen en büyük ekzotoksin ailesini temsil etmektedir. Başlangıçta, *S. aureus*'un SAG'leri oral alımdan sonra kusma ve ishal semptomları görülmesi nedeniyle SE'ler olarak adlandırılmıştır. Ancak daha sonra bazı SAG'lerin emetik aktivite göstermediği anlaşılmıştır. Bu nedenle, Uluslararası Stafilokok Süperantijenleri İsimlendirme Komitesi (International Nomenclature Committee for Staphylococcal Superantigens, INCSS) 2004 yılında, primatlarda kanıtlanmış emetik aktiviteye sahip SAG'leri (stafilokokal enterotoksinler; SE'ler), emetik özellikleri doğrulanmamış olan SAG'leri (stafilokokal enterotoksin benzeri toksinler; SEIs) ve toksik şok sendrom toksini 1 (TSST-1)'i yeniden isimlendirmiştir. Konakçı bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri ve lenfoid hücreler ile etkileşimleri göz önüne alındığında, SAG'ler, gıda zehirlenmesi ve TSS'yi indüklemeye kabiliyetine sahip pirojenik toksin süperantijenler olarak karakterize edilmektedir. Moleküler ağırlıkları 19 ila 30 kDa arasındadır. Bu SAG'ler ısıya, aside, proteolize ve kurutmaya karşı dirençlidir. Çevreye karşı istikrarlı ve yüksek toksik

etkisi nedeniyle SEB gibi bazı toksinler biyoterörizm amaçlı ajanlar olarak bilinmektedir (Lina ve ark., 2004, Liu, 2015 ve Spaulding ve ark., 2013).

Bu SAg'lerin etki mekanizması 1988 yılında tanımlanmasından beri, belirli T hücresi reseptörü V β alanlarını major histo-uyumluluk kompleksi sınıf II (MHC II) molekülleri üzerindeki korunmuş yapılarla doğrudan çapraz bağlayarak, eşzamanlı olarak büyük bir T lenfosit fraksiyonunu aktive ettiğine inanılmaktadır. Salınan SAg'ler çok sayıda T hücresini aşırı proinflamatuvar sitokinler (IL-2, IFN ve TNF) üretmek için tetikleyerek yüksek ateş, kızarıklık, deri hücrelerinin dökülmesi, kusma, diyare, düşük tansiyon, organ yetmezliği belirtilerinin görülmesine neden olmaktadır (Oliveira ve ark., 2018).

1.5.5.3.1. Toksik Şok Sendrom Toksin-1

Toksik Şok Sendrom Toksin-1 (TSST-1) öncelikle SEF olarak bilinmekteydi. Ancak emetik aktivite eksikliğini belirtmek ve toksik şok sendromu (TSS) ile ilişkisini vurgulamak için 1984 yılında yeniden adlandırılmıştır. Bu toksin hipotansiyon, ateş, ödem ve eritematöz semptomlarıyla seyrederek. İyileşme döneminde ise kusma, diare ile sıklıkla böbrekler ve akciğerler dahil olmak üzere üç veya daha fazla organ sisteminde işlevsel bozukluğu ile tanımlanan potansiyel olarak ölümcül akut sistemik bir hastalıktır (Liu, 2015; Tam ve Torres, 2019 ve Tong ve ark., 2015). Bu toksin *tst* geni tarafından kodlanmaktadır, 22 kDa ağırlığındadır, ısıya ve proteaz enzimine karşı dirençlidir (Samanta ve Bandyopadhyay, 2020).

Süperantijen aktivitesi olan TSST-1 çok sayıda T-hücresini büyük miktarlarda pro-inflamatuar sitokinleri (IL-1, IL-2, IFN-ve TNF- α) üretmek için tetiklemektedir. Bu sitokin fırtınasından sonra hücre ölümü gerçekleşmektedir ve toksik şok sendromuna neden olmaktadır. TSST-1, MHCII α -zincirini, bir V β TCR bağlanma alanını ve bir dodekapeptit bağlanma yerini hedefleyen yalnızca bir düşük afiniteli MHC bağlanma yerine sahiptir. Toksin bakterinin çoğalmasına ortam sağlamak için hücrel ve humoral bağışıklık seviyesini düşürmektedir. Bu dodekapeptid bağlanma

bölgesinin TSST-1'in epitel hücreleri ve bağışıklık uyarıcı moleküller olan CD40 ile etkileşimi için önemli olduğu öne sürülmüştür. Böylece toksinin daha derin mukozal tabakalara transitozuna aracılık etmektedir (Brosnahan ve Schlievert, 2011; Que ve Moreillon, 2015; Shupp ve ark., 2002 ve Silversides ve ark., 2010).

1.5.5.3.2. Enterotoksinler

SE'ler insanlarda ve primatlarda kusma ve ishale neden olmaktadır. Ekzotoksin olarak toksik şokun indüklenmesinde rol oynarlar ve süperantijen olarak ise bağışıklık sisteminin baskılanmasına yol açarlar (Liu, 2015). SE'ler yaygın olarak, gıda kaynaklı hastalıkların nedeni olarak kabul edilmektedir, ancak aynı zamanda kolonizasyon, deri ve yumuşak doku iltihabı ve dermatit ile sonuçlanan infeksiyonlardaki rolleri ile de ilişkilendirilmektedir (Hodille ve ark., 2017). SE'ler, çok çeşitli T-lenfosit haplotipleri için mitojenik aktiviteyi ve sitokin üretimini uyabilir. Bu aktivitenin infeksiyon sırasında üretilen veya toksinler sırasında mevcut olan stafilokok antijenlerine karşı konak yanıtını baskılayarak virülansı arttırdığı düşünülmektedir (Gillaspy ve Iandolo, 2014). Tanımlanmış klasik enterotoksinlerden SEA, SEB, SEC1, SEC2, SEC3, SED, SEE ve sonradan tanımlanan SEG, SEH, SEI, SEK, SEL, SEM, SEN, SEO, SEP, SEQ, SER, SES, SET enterotoksinlerin emetik aktiviteleri bulunmaktadır (Etter ve ark., 2020). Stafilokokal gıda zehirlenmeleri toksinlerin gıda ile birlikte alınmasını takiben 1-6 saat sonra ortaya çıkarlar. Enterotoksinler pepsin ve tripsine karşı dayanıklıdır. Enterotoksinler se(s) geni tarafından kodlanmaktadır (Samanta ve Bandyopadhyay, 2020).

1.5.5.3.3. Stafilokokal Enterotoksin Benzeri Stafilokokal Süperantijenler

Emetik olmayan toksinler veya henüz test edilmemiş olanlar SE benzeri olarak adlandırılmaktadır. Bu grupta bulunan toksinler aynı zamanda kusma ile ilişkili disülfid halkasından yoksun SEI'leri içermektedir ve kusmaya neden olmadığı

kanıtlanmıştır. Bu peptitlerin tümü pirojenik toksin süperantijenleri (SAG'ler) olarak sınıflandırılır ve büyük oranda T hücrelerini mobilize etme kabiliyetine sahiptir (Etter ve ark., 2020 ve Spaulding ve ark., 2013).

1.6. Stafilokokal Enterotoksinler

Stafilokokal enterotoksinler (SE) ve stafilokokal enterotoksin1'ler (SE1), gıda güvenliği bağlamında *S. aureus*'un en önemli virülans faktörleri olarak bilinmektedirler. Bu SE'ler ve SE1'ler ayrıca gıda zehirlenmesi salgınlarını, pirojenisiteyi, süperantijenisiteyi indükleyebilen ısıya dayanıklı ve çok işlevli proteinlerdir (Hu ve ark., 2018). Son yapılan çalışmalarla SE ve SE1'ler dahil toplam 27 farklı tip tanımlanmıştır (Etter ve ark., 2020 ve Zhang ve ark., 2018). Bu SE ve SE1'leri kodlayan genlerin çoğu plazmidler, bakteriyofajlar ve patojenite adaları gibi mobil elemanlar üzerinde bulunurlar. Bu nedenle, suşlar arasında gen transferleri de mümkün olabilir (Pinchuk ve ark., 2010).

S. aureus enterotoksinleri (SE'ler), bakterinin logaritmik fazı ve eksponansiyel fazdan durağan faza geçiş döneminde salgılanan güçlü gastrointestinal ekzotoksinlerdir. Enterotoksinler, bakterileri kolayca yok eden koşullara ve proteolitik enzimlere karşı oldukça dirençlidir. Dolayısıyla, sindirim sisteminde aktivitelerini ağızdan alındıktan sonra da korumaktadırlar (Thapaliya, 2019).

Enterotoksinler esas olarak *S. aureus* tarafından üretilse de *S. cohnii*, *S. xylosum*, *S. haemolyticus*, *S. pseudintermedius*, *S. hyicus*, *S. epidermidis* gibi diğer koagülaz pozitif ve koagülaz negatif türler de enterotoksin üretebilirler. *S. aureus* suşları bir veya birkaç enterotoksin geni bulundurabildiği gibi, stafilokokal gıda zehirlenmeleri de gıdalarda önceden oluşturulmuş bir veya birkaç SE'nin yeterli miktarda alınmasıyla meydana gelmektedir (Benkerroum, 2018; Fetsch ve Johler, 2018 ve Pinchuk ve ark., 2010).

1.6.1. Stafilokokal Enterotoksinlerin İsimlendirilmesi

INCSS, yeni saptanan toksinler için, standart isimlendirmeyi önermektedir. Bu bağlamda SE'lerin emetik aktivitelerine göre isimlendirilmeleri önerilmiştir. Bir primat modelinde oral uygulamadan sonra kusmaya neden olan SAg'ler SE olarak adlandırılmaktadır. SE'lerin mevcut terminolojisi, SE'nin saptanma sırasına göre alfabetik bir harf verilerek yapılır ve keşfedilen ilk beş SE'ye (SEA, SEB, SEC, SED, SEE) klasik SE'ler denmektedir. Bunun dışında sonradan emetik aktiviteleri doğrulanan yeni tip SEG, SEH, SEI, SEK, SEL, SEM, SEN, SEO, SEP, SEQ, SER, SES, SET gibi SE'ler tanımlanmıştır. Bu kuralın tek istisnası TSST-1'dir. Başlangıçta SEF olarak adlandırılan toksin, emetik aktivitesi bulunmamasından dolayı TSST-1 olarak adı değiştirildiği için mevcut alfabetik listede SEF eksiktir (Benkerroum, 2018; Etter ve ark., 2020 ve Fisher ve ark., 2018).

Bir primat modelinde yapılan kusma deneylerinde, emetik potansiyel görülüyorsa veya henüz kusma deneyleri yapılmamışsa, SAg'nin SE yapısı ile yakından ilişkili olduğu düşünülse bile bu toksine "SEI" adı verilmelidir. SEIJ, SEIU, SEIU₂, SEIV, SEIW, SEIX, SEIY, SEIZ ve en son tanımlanan SEI26 ve SEI27 SEI bu gruptadır (Etter ve ark., 2020 ve Zhang ve ark., 2018).

1.6.2. Stafilokokal Enterotoksinlerin Yapısı ve Özellikleri

Enterotoksinler yaklaşık 168-261 amino asitten oluşan, su ve tuz çözeltilerinde çözünen, kısa, basit tek zincirli proteinlerdir. Moleküler ağırlıkları 19-29 kDa arasında olup, lizin, aspartik asit, glutamik asit ve tirozin bakımından zengindirler. Enterotoksinlerin izoelektrik pH-değeri 7,0-8,6 aralığındadır. SE'lerin gıda zehirlenmesinin ortaya çıkışında önemli bir diğer özellikleri de, gastrointestinal kanalda bulunan proteazlara karşı dirençli olmalarıdır. Bu bağlamda tripsin ve pepsin gibi proteolitik enzimlere dirençli olup, bu da onların sindirim kanalından geçmelerine olanak sağlamaktadır. Özellikle düşük pH'lı bir ortamda pepsine direnç, *in vivo* ortamda SE aktivitesi için önemli bir gerekliliktir. Toksinler yüksek

konsantrasyonlarda üre veya guanidin hidroklorür ile denatüre olabilirler (Hu ve ark., 2018; Landgraf ve Destro, 2013; Park ve Seo, 2019 ve Thomas ve ark., 2007).

Tüm stafilokokal enterotoksinlerin üç boyutlu şekilleri birbirine benzerdir. Stafilokokal enterotoksinlerin ısıya dirençli olma özelliklerini veren üç boyutlu yapılarıdır. Toksinler ısıya karşı oldukça dirençli olup, bu nedenle konserve gıdalarda bulunduklarında potansiyel bir halk sağlığı tehlikesi oluştururlar (Bennet ve ark., 2013). Toksinlerle kontamine gıdaların hafif ısıtılması sonucu, tamamen denatüre edilemeyebilirler. Bununla birlikte, denatüre edici koşullar ortadan kaldırıldığında, SE'ler biyolojik aktivitelerini yeniden kazanabilir. Sonuç olarak kendilerini üreten bakterilerden kolayca daha uzun süre dayanabilirler. Enterotoksinler pirojeniktir (Pinchuk ve ark., 2010).

Bilinen birkaç istisna dışında SE'ler, potansiyel olarak bir molekül içi bağlantı ve bir aralayıcı disülfid halkası oluşturabilen tam olarak iki sistein kalıntısı içermektedir. Bir veya iki sistein kalıntısından yoksun toksinler genellikle emetik özelliğe sahip değildir veya zayıf emetik aktivite göstermektedir. Sistein halkası, doğrudan kusma ile bağlantılı değildir ve disülfid bağlantısının yakınında bulunan kritik kalıntıların uygun şekilde yönlendirilmesini sağladığına inanılmaktadır. Maymun besleme deneyinde yakın zamanda tanımlanmış SE ve SEI proteinlerinin analizlerinden elde edilen veriler, stabil bir disülfid bağının *in vivo* olarak bir kusturucu yanıtı kolaylaştırdığını göstermektedir (Park ve Seo, 2019).

Aminoasit sekansı karşılaştırmalarına göre enterotoksinler dört gruba ayrılmaktadır. SEA grubu, yakından ilişkili olan SEA, SEP ve SEE toksinlerinin yanı sıra, daha uzaktan ilişkili olan SEIJ, SED, SEIW, SEH, SES, SEN ve SEO'dan oluşur. SEB grubu SEB, SEC alt tiplerini ve SEG, SER, SEIU ve SEIZ moleküler varyantlarını içerir. SEI grubu SEI, SEL, SEK, SEM, SEIV ve SEQ toksinleri, SEIX grubu ise diğer toksinlerden molekül ağırlığı daha az olan SET, SEIY, SELX ve TSST-1'i içermektedir (Fisher ve ark., 2018 ve Park ve Seo, 2019).

1.6.3. Stafilokokal Enterotoksinlerin Etki Şekli

Stafilokokal gıda zehirlenmelerinde, ayırt edici semptom kusma olarak bilinmektedir. Kontamine gıda tüketilmesinin ardından birkaç saat içinde kusma gözlenir. Enterotoksinler, vagus ve sempatik sinirler yoluyla uyarıları ileten bağırsaktaki sinir reseptörlerini uyarak, beyin postrema ventrikül bölgesindeki kusma merkezinin uyarılmasına yol açarak kusmaya neden olurlar (Stewart, 2017).

Klinik belirtiler iyi belirlenmesine rağmen semptomların fizyopatolojisi ve SE'nin neden olduğu kusma mekanizmaları tamamen aydınlatılamamıştır. SE'lerin emetik aktivitesinin mekanizmalarını incelemede ilerleme olmaması, kısmen uygun hayvan modellerinin eksikliğinden kaynaklanabilir. Maymunlar birincil hayvan modelleri olarak kabul edilmiştir, ancak SE'lerin araştırılmasında kullanımı, yüksek maliyet, hayvanların bulunabilirliği ve etik hususlar nedeniyle ciddi şekilde kısıtlanmıştır. Fare, sıçan, tavşan ve kedi gibi diğer hayvanlar SE'lere daha az duyarlıdır veya SE'lere verdikleri yanıtlar da spesifik değildir (Benkerroum, 2018 ve Hu ve ark., 2018). Maymun kullanımına alternatif olarak Ev misk faresi (*Suncus murinus*) uygun bir hayvan modeli olarak tanımlanmıştır. Ev misk faresi yapılan çalışmalarda SEA için küçük bir emetik hayvan modeli olarak tercih edilmiştir. Bir fareye benzeyen bu küçük memeli, SE'lerin peroral veya intraperitoneal uygulamasından iki saat sonra kusarak yanıt vermektedir. Ev misk farelerinde SEA'nın emetik aktivitesinin doza bağlı olduğu ve hayvanlarda SEA ile indüklenen kusmanın anti-SEA antikoru ile nötralize edilebildiği bulunmuştur (Hu ve Nakane, 2014). Yapılan bir çalışmada ev misk farelerinin ince bağırsağı SEA'nın emetik eylem bölgesi olduğu ve orada bulunan submukozal mast hücrelerini hedef aldığı belirtilmektedir. Ayrıca mast hücrelerinden salınan serotonin (5-hidroksitriptamin) SEA tarafından meydana gelen kusmada önemli rol oynadığı öne sürülmüştür (Ono ve ark., 2012). Önemli bir sinyal aracı olan serotonin gastrointestinal sistemde enterik nöronları aktive edebilir, kas tepkilerini uyarabilir ve sekresyonu artırabilir. Çeşitli amino asit kalıntıların kusmaya aracılık etmeleri kesin olarak açıklanamasa da SE'ler arasında değişebileceği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda histidinin molekül içindeki konumu süperantijen ve kusma aktiviteleri için oldukça önemli

olduğu anlaşılmıştır (Benkerroum, 2018). Yine yapılan bir çalışmada SEA'nın 227. amino asit dizisinde aspartik asidin emetik aktivitede rol oynadığı, bu aminoasidin alanin ile değişimi sonucu molekülün emetik aktiviteden yoksun kalmasından anlaşılmıştır (Hu ve ark., 2009). Histamin ve kalsiyum kanal blokörlerinin, mast hücrelerinin enterotoksin ile indüklenen kusmaya dahil olduğunu düşündüren SE'lere verilen emetik yanıtı önlediği de anlaşılmıştır (Pinchuk ve ark., 2010). Hu ve ark. (2005), SEA'nın intestinal epitel hücrelerinde hücre içi kalsiyumda bir artışa neden olabileceğini ve artışın hücre içi kalsiyum depolarından kaynaklandığını ifade etmektedir. Bu sonuçlar, gıda zehirlenmesinin patogenezi için önemli çıkarımlar elde edilmesine olanak sağlamaktadır (Hu ve ark., 2018).

Son zamanlarda, bazı toksinlerin gıda zehirlenmesindeki rolü belirsiz kalmasına rağmen, birçok yeni SE ve SEI rapor edilmiştir. SEA, SEE ve SEI, diğer SE'lere göre ev misk faresinde daha yüksek emetik aktivite göstermiştir. SEB, SEC2, SED, SEG ve SEH'nin bu hayvan modelinde emetik aktivite oluşturmaları için yüksek dozların gerekli olduğu anlaşılmıştır (Hu ve ark., 2003). Yine yapılan bir çalışmada SEK, SEL, SEM, SEN, SEO, SEP, SEQ, SER, SES ve SET emetik aktiviteleri, maymunlar üzerinde değerlendirilmiştir. Test edilen tüm SE'ler farklı zamanlarda da olsa maymunlarda 100 µg/kg dozda emetik reaksiyonları tetiklediği belirtilmiştir. Bu sonuçlar, yeni SE'lerin stafilocokal gıda zehirlenmesinde de bir rol oynayabileceğini göstermektedir (Omoe ve ark., 2013 ve Ono ve ark., 2008).

Bir diğer semptom olan diyare stafilocokal gıda zehirlenmesinde daha az görülmektedir. SEA ve SEC gibi bazı enterotoksinlerin bağırsak segmentlerinde sıvı sızmasına ve dilatasyona neden olamamasından kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte, SEB intoksikasyonu ile bazen görülen diyare, ince bağırsakta su ve elektrolit geri emiliminin inhibisyonundan kaynaklanıyor olabilir (Fischer ve ark., 2018).

Enterotoksinlerin kusmaya neden olan aktivitesi bakterinin yeni konaklara yayılmasında rol oynamamaktadır. Enterotoksinler, bakteri için daha uygun virülans özellikleri olan ek biyolojik aktivitelere sahiptir. SE'lerin süperantijenik özelliği, onları diğer bakteriyel toksinlerden ayırmaktadır. Süperantijenler, T hücrelerini

(CD4+ ve CD8+ hücreleri) uyarak yüksek oranda sitokin salınım yeteneğine sahip moleküllerdir. Enterotoksinler epitel bariyeri geçerek kan dolaşımına katılmaktadır. Makrofajların yüzeyinde bulunan MHC sınıf II molükülünün α -zincirine bağlanmaktadır. Toksin V β taşıyan T hücrelerine sunulduğunda, T hücreleri çoğalarak büyük miktarlarda IL-2 ve IFN- γ üretmektedir. Yüksek IFN- γ seviyeleri ayrıca makrofajlarda ve diğer hücrelerde MHC sınıf II ekspresyonunun artmasına neden olmaktadır, bu da daha fazla süperantijeni bağlar ve daha fazla T hücrelerini aktive etmektedir. IL-1 ve TNF- α gibi enflamatuvar sitokinler, aktive edilmiş makrofajlar tarafından üretilmektedir. Sitokinler yaygın intravasküler pıhtılaşma, yüksek ateş, düşük kan basıncı, büyük şok ve ölüm ile tipik toksik şok sendromunu başlatmaktadır. Süperantijenler, gastrointestinal mukozada immünopatolojik tepki göstermektedir. Bağırsak mukozası, tüm ana Th (T yardımcı) hücre alt gruplarını (Th1, Th2, Th17) barındırmaktadır. Süperantijenler TCR'de yalnızca belirli V β dizileri tanımaktadır. Ancak bazı durumlarda diğer reseptörlerin de dahil olduğu açıklanmıştır. Örneğin, SEH V α zincirini hedeflemektedir. SEA, SEB ve TSST-1'de maksimum süperantijenik aktivitesi, sırasıyla T hücreleri ve antijen sunan hücrelerin (Antigen Presenting Cell, APC) üzerindeki ek ortak uyarıcı reseptörler olan CD28 ve B7-2'ye bağlıdır. SE, epitel hücre bağlantılarında TJ ve AJ protein ekspresyonunu azaltarak epitel geçirgenliğini ve bağırsak sekresyonunu arttırmaktadır. Epitel geçirgenliğine, lenfositlerden IFN- γ ve TNF- α 'nın artan salgılanması aracılık etmektedir. SE'ler gastrointestinal T hücrelerini aktive etmektedir. Böylece Th1, Th2, Th17 sitokinleri serbest bırakarak, sitokin fırtınasına neden olmaktadır. Sitokinler ayrıca epitel hücre fonksiyonlarında öncelikle iyon ve su taşınmasını etkilemektedir (Bhunia, 2018 ve Fisher ve ark., 2018).

Her enterotoksin, farklı bir V β taşıyan T hücresi setine bağlanır ve bu alt gruba özgü amplifikasyon yanıtı, teşhis laboratuvarında spesifik enterotoksin maruziyetini belirlemek için bir parmak izi olarak kullanılabilir. Her enterotoksin tipi, antikorlar kullanılarak diğer toksinlerden ayırt edilmek için yeterli antijenik farklılığa sahiptir (Montville ve ark., 2012).

1.6.4. Stafilokokal Enterotoksin Üretiminde Moleküler Regülasyonu

S. aureus'da virülans faktörlerinin ekspresyonunu kontrol eden ana düzenleyici mekanizma *agr* (accessory gene regulator) gen regülatörü olmasına rağmen, tüm SE'ler veya SEI'ler *agr* sistemi kontrolü altında değildir (Bhunja, 2018). Bu *agr*, *S. aureus*'da iyi karakterize edilmiş iki bileşenli bir quorum-sensing sistemidir. İki bileşenli sistemde, bir protein sensör görevi görmektedir ve hücre içi aktivatörü fosforile ederek sinyali iletmektedir. Diğeri ise yanıt düzenleyici olarak adlandırılan yanıtı sağlamak için genleri düzenlemektedir. Enterotoksin üretimi, iki bileşenli düzenleyici sistem *agrAC* tarafından düzenlenmektedir. *S. aureus*'da en az 24 gen regüle ettiği için küresel düzenleyiciler olarak da bilinen *agr* ve *sar* (staphylococcal accessory regulator) genleri özellikle SEB, SEC, SED toksinlerinin üretiminde anahtar rol oynamaktadır. Bu *agr* gen regülasyonu, transkripsiyonel veya translasyonel olabilir. SEB ve SEC transkripsiyonel seviyede regüle edilmektedir. Ayrıca posteksponansiyel üreme fazında SEB, SEC ve SED üretilmektedir. Toksin üretiminin düzenlenmesini inceleyen çalışmalar, mRNA'daki varyansın hücre dışı toksin seviyeleri ile doğrudan ilişkili olduğunu bulmuştur, bu da toksin üretiminin düzenlenmesinin esas olarak transkripsiyon seviyesinde gerçekleştiğini göstermektedir. Yine bu *agr* operonu, RNAI, RNAII ve RNAIII transkriptlerini kodlamaktadır. RNAII, quorum-sensing sistemini oluşturan proteinleri kodlar (AgrA, B, C ve D). Bu durum bakteri popülasyonunun yoğunluğuna bağlı olarak RNAIII'in transkripsiyonu için sinyaller sağlamaktadır. Aynı şekilde RNAIII, *agr* sisteminin bir düzenleyici sinyali ve aktivite göstergesi olarak işlev görmektedir. Yine *agr* lokusu tarafından kodlanan efektör RNA molekülü olan RNAIII'in artması toksin seviyelerinde artışa yol açmaktadır (Park ve Seo, 2019 ve Seo ve Bohach, 2013).

SEA ekspresyonunun ve düzenlenmesinin quorum sensing'den bağımsız olduğu keşfedilmiştir. Bu *agr* gen lokusundaki mutasyonlar toksin ekspresyonunu azaltmaktadır. Ancak SEA ekspresyonu logaritmik fazda da üreyebildiği için, *agr* mutasyonlarından etkilenmemektedir. Bunun yerine regülasyon SEA taşıyan profajlara bağlıdır. SEE ise defektif profaj üzerinde yer almaktadır ve bakteri

büyümesinin SEE ekspresyonu üzerinde hiçbir etkisi bulunmamıştır (Schelin ve ark., 2017 ve Seo ve Bohach, 2013).

Bu *agr* sistemi en fazla nötr pH'da aktif olmaktadır. Glikoz metabolizması pH'ı düşürerek SEC üretimini olumsuz etkilemektedir. Glikoz içeren ortamın ise hem hücre dışı SEC miktarını hem de mRNA miktarını azalttığı görülmüştür. Bu da, diğer çevresel koşullarda olduğu gibi toksin sentezinin katabolit baskılanmasının transkripsiyonel seviyede gerçekleştiğini göstermektedir. Ayrıca *agr* içermeyen suşların SEC ekspresyonunu glikoz azaltmaktadır. Bu da *agr*'den bağımsız ve pH'dan etkilenmeyen diğer bir glikoza bağlı mekanizma varlığını göstermektedir (Montville ve ark., 2012).

Toksinlerin sentezini sağlayan diğer düzenleyiciler ise *sar* sistemi ve homologları, *MgrA* (a global regulator of autolysis and virulence), *rot* (repressor of toxins), exoprotein expression system (*sae*) ve ayrıca sigma faktör olarak bilinmektedir. *SarA* *agr*, *hla*, *spa* ve *fnbA* dahil olmak üzere birkaç hedef destekleyiciye bağlanmaktadır. RNAIII ekspresyonunu yukarı regüle eden *agr* promotörleri P2 ve P3 arasındaki intergenik bir bölgeye bağlanarak *agr* tarafından düzenlenen genlerin ekspresyonunu etkilemektedir. Transkripsiyonel gen füzyon analizi, *sarA*'nın hem *tst* hem de *seb* genlerini olumlu regüle ettiğini ortaya çıkarmıştır. *Rat* olarak da bilinen *MgrA*, *SarA* regülatör ailesi ile ilgili küçük bir transkripsiyonel düzenleyicidir. *MgrA* salgılanan toksinlerin ve proteazların üretimini etkinleştirir. Bu paralelliklerin, *agr* aktivasyonu sırasında indüklenen proteinlerle örtüştüğü belirtilmektedir. *Rot*, *SarA* transkripsiyonel faktörler ailesinin bir üyesidir. Genlerin sentezlenmesini hem negatif hem de pozitif yönde düzenleyebilmektedir. *seb* ve *sed* genlerinin transkripsiyonel düzenlenmesi *rot*'un varlığına bağlıdır. Ayrıca SEB'nin ekspresyonunu baskılamaktadır. Sigma B, Gram-pozitif bakterilerde hücre dışı stres tepkisi ile ilişkili alternatif bir sigma faktörüdür. Sigma B çevresel uyarılara (yüksek sıcaklık, alkali pH, yüksek seviye NaCl, glikoz, galaktoz, süktroz, maltoz ve gliserol gibi katabolitler) verilen ana tepkidir. Yine *SigB*, *agr* sistemini olumsuz etkileyerek salgılanan toksinlerin ve proteazların üretimini azaltırken, yüzey proteinlerinin ve pigment üretiminin transkripsiyonunu etkinleştirmekten

sorumludur. Diğer taraftan SEB üretimini *SigB* tarafından olumsuz etkilenmektedir. Bu *SigB*, stres kaynaklı koşullar tarafından aktive edildiğinde, SEB'nin ekspresyonu azalmaktadır. *SaeRS* iki bileşenli sistem, *S. aureus*'un in vivo şartlarda hayatta kalması için oldukça önemlidir. *SaeRS* hücre içi *S. aureus* tarafından nötrofillerin yok edilmesini destekleyen hemolizinleri ve lökositinleri kodlayan genleri içererek konakçıya karşı yanıt oluşturmaktadır. Bu *Sae* sisteminde meydana gelen mutasyonlar RNAlII üretimine karşı etkili değildir. *SrrAB agr* fonksiyonunun bir başka potansiyel düzenleyicisi olarak bilinmektedir. Hatta *agr* aktivasyonunu da engellediği görülmektedir. *srrAB* (*srhSR*), özellikle mikroaerobik koşullar altında stafilokokal virulans ekspresyonunda görev almaktadır. Ayrıca *srrAB* enerji metabolizmasına dahil olan birçok geni ve açık bir şekilde anaerobik koşullar altında enerji transdüksiyonunu düzenlemektedir (Haag ve Bagnoli, 2017; Jenul ve Horswill, 2018; Park ve Seo, 2019; Seo ve Bohach, 2013 ve Thoendel ve ark., 2011).

1.6.5. Stafilokokal Enterotoksin Gen Lokasyonları

SE'ler ve SE'leri kodlayan genler *S. aureus* patojenite adaları (SaPI'ler), genomik adalar, profajlar ve plazmidler dahil olmak üzere çok sayıda mobil genetik eleman tarafından barındırılmaktadır. Bunların çoğu, *S. aureus* izolatları arasında horizontal olarak transfer edilebilen, böylelikle virülanslarını değiştiren ve patojenik evrime katkıda bulunan hareketli genetik elemanlardır (Park ve Seo, 2019).

S. aureus patojenite adaları (SaPI) boyut olarak 15 ila 17 kilobaz (kb) arasında değişen mobil patojenite adalarıdır. TSST-1 ile bir veya daha fazla SE'yi kodlayan genleri taşımaktadır. Ayrıca *sek* ve *seq*, *tst* ile birlikte SaPI1'de; *sel* ve *sec*, SaPIbov1'de; *seb*, *seq* ve *sek* SaPI3'de rapor edilmiştir. Bir SaPI indüksiyonunun, toksin genlerinin kopya sayısındaki artışa ve dolayısıyla toksin üretiminde artışa neden olması muhtemeldir (Hu ve ark., 2018).

Diğer genomik adaları, yalnızca *S. aureus*'da bulunan genomik adalardır. Tüm *S. aureus* genomlarında iki büyük ν Sa genomik adası olan ν Sa α ve ν Sa β

bulunmaktadır. VSaα ve vSaβ, horizontal gen transferiyle elde edilmiş olsa da, aslında hareket edebildiklerine dair kanıt bulunmamaktadır. Hem vSaα hem de vSaβ, bilinen veya varsayılan virölans faktörlerini kodlayan gen kümelerini içermektedir. Bu vSaβ'de çeşitli SE ve SEI genleri içeren enterotoksin gen kümesi (enterotoxin gene cluster, *egc*) bulunmaktadır. İlk *egc* (*egc1*) 2001 yılında saptanmıştır ve *seg*, *sei*, *sem*, *sen* ve *seo* genlerini barındırmaktadır. Diğer *egc2* kümesinde *selu* geni tanımlanmıştır. Aynı şekilde *egc4*'de ise *selw* ve *selv* genleri mevcuttur (Benkerroum, 2018 ve Hu ve ark., 2018).

SEs genleri profajlar tarafından taşınabilir. SE genlerini (*sea*, *sek*, *sep* ve *seq*) taşıyan fajlar, Siphoviridae ailesine aittir. Diğer taraftan *sea*, *sek* ve *seq* genleri, φSa3ms ve φSa3mw'de birlikte bulunurken, (*sea* veya *sep*) φMu3A, φSa3a ve diğer profajlar tarafından taşınmaktadır. Bu fajların *S. aureus* kromozomuna entegrasyonu, faj genomundaki *attP* bölgesi ile bakteriyel kromozomdaki beta hemolizin geninde yer alan *attB* bölgesi arasındaki bölgeye özgü bir rekombinasyon olayı ile gerçekleşmektedir (Hu ve ark., 2018).

Plazmidler horizontal gen transferi yoluyla direnç ve virölans etkenlerinin yayılması için etkili araçlar olarak kabul edilmektedir. *S. aureus*'da SE ve SEI genlerini taşıyan iki tür plazmid (pIB485, pF5) karakterize edilmiştir. Bu plazmidlerden pIB485 plazmidi 27,6 kb molekül ağırlığındadır ve *sed*, *selj*, *ser* genleri Japonya'da laboratuvar suşlarında, gıda zehirlenmesinden elde edilen suşlarda ve sağlıklı insan izolatlarında belirlenmiştir. Bu nedenle, SED üreten stafilokoklar ayrıca potansiyel olarak SEII ve SER geni üretmektedir. Bu *ser* geninin, pF5 ve pF5 benzeri olarak adlandırılan Fukuoka plazmidleri ile yakından ilişkili plazmidler üzerinde bulunduğu da görülmüştür. Ayrıca, Fukuoka plazmidlerinde iki yeni SE geni de (*ses* ve *set*) belirlenmiştir (Hu ve ark., 2018; Omoe ve ark., 2003 ve Ono ve ark., 2008).

1.6.6. Stafilokokal Enterotoksin Tipleri

Stafilokokal enterotoksin A: Stafilokokal enterotoksin A (SEA) tuz konsantrasyonu, sürfektanlar, pH-değeri, antimikrobiyal ajanlar gibi çeşitli faktörlere rağmen, bakterinin büyüme fazının başında oluşması nedeniyle, gıda toksikasyonlarında en sık karşılaşılan enterotoksin olarak bilinir. İnsanlar için minimum toksik dozu 20-100 ng'dır. SEA Japonya'da 2000 yılında süt ürünlerinin tüketilmesi nedeniyle oluşan salgının dışında, çeşitli salgınlarda da görülmüştür. Ayrıca çiğ ve pişmiş sığır etlerinde, domuz etlerinde ve konserve jambonda da SEA tespit edilmiştir. SEA üretiminde sıcaklık ve inokulum boyutu önemli rol oynamaktadır. Sıvı besiyerinde SEA üretimi 10-50 °C aralığında saptanmıştır (Tetsuya ve ark., 2005; Tsutsuura ve Murata, 2012 ve Xu ve ark., 2016). Ancak Tatini (1973), *S. aureus*'un 10 °C'de pişmiş kıyma, jambon ve Bologna sosisinde yeterli miktarda üreyerek SEA ürettiğini bildirmiştir.

Bakteriyofajda bulunan 771 baz çiftinden oluşan genler tarafından kodlanan SEA, 27 kDa molekül ağırlığındadır. SEA, Zn^{+2} bağımlı iki MHC-II bağlanma bölgesi içermektedir ve bu nedenle T-hücre aktivasyonu için, güçlü süperantijeniteye sahiptir (Balaban ve Rasooly, 2000).

Stafilokokal enterotoksin B: Stafilokokal enterotoksin B (SEB) üretimi *S. aureus*'un eksponansiyel üreme fazından durağan faza geçişte en üst seviyededir. SEB ısıya ve proteolitik enzimlere dirençli olup, geniş bir pH-değeri aralığında sentezlenirler. Toksinin çok küçük bir doz (0,004 µg/kg) alınımı semptomların çıkışında etkili olup, 0.02 µg/kg'lık bir doz alınması ise ölüme neden olabilir. Düşük dozda SEB'nin insanları etkisiz hale getirmek için yeterli olması, onu potansiyel bir silah yapan başka faktördür. SEB'nin inhalasyonundan birkaç saat sonra nefes darlığına ve göğüs ağrısına neden olabilir. SEB'ye ağır maruziyet sonucu yüksek ateş, pulmoner ödem, olası akut solunum sıkıntısı sendromu veya septik şok gibi daha ciddi semptomlar ortaya çıkabilir (Pinchuk ve ark., 2010). Gıda toksikasyonlarında SEB'nin SEA'dan çok daha fazla miktarlarda üretildiği ve suşlar

arasında daha çeşitli olduğu bildirilmiş olmasına rağmen, SEA daha fazla sayıda gıda zehirlenmesi vakasında rol oynamaktadır (Xu ve ark., 2016).

Hem kromozomda (FRI-243, FRI-277 veya S6 suşları) hem de plazmidde (DU-4916 suşu) bulunan *seb* 705 bp uzunluğundadır. Ağırlığı 28 kDa olan SEB 239 amino asit kalıntısından oluşmaktadır. SEB aynı zamanda SEC1 ile % 67 düzeyinde amino asit benzerliğine sahiptir (Fries ve Varshney, 2013 ve Xu ve ark., 2016).

Stafilokokal enterotoksin C: Stafilokokal enterotoksin C (SEC) spesifik olarak 239 aminoasit dizilimine sahip olup, varyantına bağlı olarak 27,5-27,6 kDa molekül ağırlığındadır. Kromozomda (SaPI'ler) bulunan *sec* ile ilgili genler 801 bp'den oluşur. SEC, sekansı ile ilgili olarak en çok SEB'ye benzemektedir. Antijenik olarak SEC'nin SEC1, SEC2, SEC3 alt tipleri keşfedilmiştir. Klasik SEC alt tiplerinin yanı sıra en az % 95 benzer aminoasit dizisine sahip SEC-bovine ve SEC-ovine gibi varyantların varlığı da rapor edilmiştir (Etter ve ark., 2020).

SEC, mastitisli hayvanlarda en sık izole edilen toksindir. Ek olarak, tek başına SEC'in meme bezlerinde iltihaplanma, proinflatuar sitokin üretimi ve doku hasarına neden olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle SEC, *S. aureus* enfeksiyonu ile ilişkili mastitis gelişiminde önemli bir rol oynayabilir. Ayrıca SEC'nin insanda da doğum sonrası mastitiste bulunduğu raporlarda mevcuttur. Kontamine süt, *S. aureus* ve toksinleri için uygun bir gıda ortamına sahiptir. Mastitis ve gıda intoksikasyonuna ek olarak, enfektif endokardit ve atopik dermatitin gelişiminde kritik rol oynayabilir. SEA ile birlikte SEC, süt ve süt ürünlerinde en fazla görülen enterotoksinlerdir. SEC miktarının ancak 100 °C ve üzerinde ısı ile azalabileceği saptanmıştır (Etter ve ark., 2020 ve Fang ve ark., 2019).

SEC için kodlama yapan genler, genellikle bir *S. aureus* patojenite adalarında (SaPI'ler) bulunur. Bununla birlikte *sec* taşıyan plazmidler de tanımlanmıştır. Ayrıca *sec* geni SaPIbov1, SaPI_n1 / m1, SaPI_{mw}2, SaPI_{ov}1 ve SePII'de kodlandığı belirtilmiştir. Genellikle TSST-1 kodlayan gen olan *tst-1* ile aynı yerde bulunur. SEC'nin üretimi geç eksponansiyel üreme fazından durağan faza geçişte daha

fazladır. SEC *agr* quorum-sensing sistemi tarafından regüle edilmektedir. Buna ek olarak *rot*, *SarA*, *SarB*, ve *SaeRS* çevresel faktörler değiştiğinde SEC'nin regülasyonunda rol oynamaktadır. Glikoz ve NaCl gibi gıda ile ilgili stres faktörlerinin SEC ekspresyonunu etkilediği gösterilmiştir (Etter ve ark., 2020; Schelin ve ark., 2017 ve Xu ve ark., 2016).

Stafilokokal enterotoksin D: Stafilokokal enterotoksin D (SED) gıda zehirlenmeleri ile ilişkilendirilen ikinci en yaygın enterotoksin olarak bilinmektedir. SED 27,6 kb'lık penisilinaz plazmidi (PIB485) tarafından kodlanmaktadır ve 228 aminoasit dizilimine sahiptir. Bu 228 amino asitli olgun polipeptit, diğer stafilokokal enterotoksinlere yüksek derecede sekans benzerliği gösterir. SED geç eksponansiyel üreme fazında *agr* sistemi tarafından regülasyonu artmaktadır. Bununla birlikte, SED sadece kısmen *agr* tarafından düzenlenir ve yüksek konsantrasyonlar *agr* sistemden bağımsız olarak oluşabilir. SED süperantijeni, sınıf II MHC molekülleri ile etkileşimlerinde katkısı olan Zn^{+2} bağlanma bölgesine sahiptir. Toksinin gıda zehirlenmesine neden olabilmesi için, küçük miktarın yeterli olabileceği bilinmektedir (Park ve Seo, 2019; Pinchuk ve ark., 2010 ve Xu ve ark., 2016). Yapılan bir çalışmada çiğ süttten elde edilen peynirlerde SEA ve SED varlığı stafilokokal gıda zehirlenmesine neden olmuştur (Johler ve ark., 2015). Yine % 4.5'lik tuz ve glikoz stresinin *sed* ekspresyonunu azaltabildiği ve laktik asit stresinin *sed* ekspresyonu üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı yapılan çalışmalar sonucu bulunmuştur (Sihto ve ark., 2015 ve Sihto ve ark., 2016).

Stafilokokal enterotoksin E: Faj üzerinde bulunan Stafilokokal enterotoksin E (SEE) 771 bp'den oluşmaktadır ve 26 kDa olgun hücre dışı forma sahiptir. Tek bir polipeptid zincir içeren SEE sırasıyla NH₂- ve COH- terminal amino asitler olarak serin ve treonin olmak üzere 259 amino asitten oluşmaktadır. Isıl işlemin yanı sıra düşük pH (2,0) ve yüksek pH (12,0) koşulları altında emetik ve antijenik aktivitesi muhtemelen üç boyutlu yapı değişikliğine bağlı olarak yok olmaktadır. SEE, SEA ve SED ile % 70-90 oranında sekans benzerliğine sahiptir. SEE, yapısal olarak % 81 SEA'ya benzemektedir (Balaban ve Rasooly, 2000 ve Xu ve ark., 2016).

Fransa’da 2009 yılında, pastörize edilmemiş süttten yapılmış yumuşak peynir tüketimine bağlı olarak, SEE’den kaynaklanan bir salgın ortaya çıkmıştır. Bu salgın Fransa’da SEE’nin neden olduğu ilk salgın olarak bildirilmiştir (Ostyn ve ark., 2010).

Stafilokokal enterotoksin G: Stafilokokal enterotoksin G (SEG) 1998 yılında tanımlanmıştır. SEG’nin emetik aktivitesi ve süperantijenitesi de doğrulanmıştır. SEG 777 nükleotitten oluşmaktadır. Ayrıca 233 amino asit ve 27 kDa molekül ağırlığına sahiptir. SEG en fazla SEB ve SEC’ye benzerlik gösterir (Munson ve ark., 1998 ve Xu ve ark., 2016). SEG ile ilgili gıda zehirlenmeleri, diğer toksinler kadar çok çalışılmamasına rağmen; Tayvan’daki gıda zehirlenmelerinden birinde SEH ve SEI ile birlikte sorumlu tutulmuştur (Chen ve ark., 2004).

Stafilokokal enterotoksin H: Transpozonlar tarafından kodlanan *seh* geni tarafından eksprese edilen stafilokokal enterotoksin H (SEH) 27,3 kDa molekül ağırlığına sahiptir. SEH SEA, SED ve SEE ile yaklaşık %35 amino asit benzerliği taşımaktadır. SEH, insan MHC-II için yüksek afinite sergileyen güçlü bir süperantijendir. SE’lerin çoğu T hücresi reseptörünün V β bölgesini uyarmasına rağmen, SEH T hücresi reseptörü V α bölgesi ile etkileşime girmektedir. SEH üretimi pH koşullarından ve aerob ya da anaerob ortamda bakterinin inkübasyonundan etkilenmiştir. SEH üretimi pH 7,0 ve aerob inkübasyonda daha fazla üretilmektedir (Pettersson ve Forsberg, 2002 ve Xu ve ark., 2016). Gıda zehirlenmeleri ile ilgili toksin olan SEH geç eksponansiyel üreme fazında üretilmektedir. SEH, 2000 yılında Japonya’nın Osaka kentinde, süt tüketimiyle ilişkili büyük gıda zehirlenmesinin nedenlerinden biri olarak tanımlanmıştır (Ikeda ve ark., 2005). Norveç’de yapılan çalışmada ise hem patates püresinde hem de süt toplama tanklarından alınan çiğ sütte SEH’ye rastlanılmıştır (Jorgensen ve ark., 2005).

Stafilokokal enterotoksin I: Stafilokokal enterotoksin I (SEI), SEG ile birlikte tanımlanmasına rağmen, SEG’den farklı olarak SEA, SED ve SEE ile % 26-28 oranında aminoasit benzerliğine sahiptir. SEI 729 nükleotitten oluşmaktadır. SEI farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda çeşitli gıdalardan izole edilmiştir. SEI *egc*

operonlarında sentezlenmektedir ve eksponansiyel üreme fazının ilk dönemlerinde en yüksek seviyededir (Chen ve ark., 2004; Munson ve ark., 1998 ve Xu ve ark., 2016).

Stafilokokal enterotoksin benzeri toksin J: Stafilokokal enterotoksin benzeri toksin J'i (SEJ) kodlayan plazmidin (pIB485) SED'yi de kodladığı belirtilmektedir. SEIJ 269 amino asitten oluşmaktadır ve SEA, SED ve SEE ile % 64-69 oranında sekans benzerliğine sahiptir. SEIJ süperantijenik aktiviteye sahip olup, emetik aktivitesi yoktur (Zhang ve ark., 1998).

Stafilokokal enterotoksin K, L, M, N, O: Stafilokokal enterotoksin K, L, M, N ve O'dan (SEK, SEL, SEM, SEN, SEO), SEK ve SEL 26 kDa molekül ağırlığına sahip olup, SEK'nin izoelektrik pH-değeri 7,0-7,5 aralığında, SEL'nin izoelektrik pH-değeri ise 8,5 olarak bilinmektedir. SEK, SEL, SEM, SEN ve SEO süperantijenik özelliklere (T-hücreleri aktivasyonu) sahiptirler. SEK toplum kaynaklı metisilin dirençli *S. aureus* (CA-MRSA) suşlarının birkaç klonal soyu ile önemli ölçüde ilişkili olan bir toksindir. SEB ile birlikte eksprese edildiğinde, SEK sekresyonunda da bir artış elde edilmiştir. SEK ve SEL SaPI'ler üzerinde tanımlanmıştır. SEM, SEN ve SEO'nun ise *egc*'ler üzerinde bulunduğu bildirilmiştir (Aguilar ve ark., 2014; Orwin ve ark., 2001 ve Xu ve ark., 2016).

SEK, SEL, SEM, SEN ve SEO toksinlerinin ev misk farelerine intraperitoneal uygulama ile emetik aktivitelerinin varlığı belgelenmiştir (Ono ve ark., 2017). Maymunlar üzerinde yapılan bir çalışmada toksinlerin emetik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak SEA ve SEB'den etkilenen maymunların sayısı diğer toksinlerden etkilenen maymunların sayısından fazla olduğu ifade edilmiştir (Omoe ve ark., 2013). Çeşitli epidemiyolojik araştırmalar, özellikle SEK, SEL, SEM, SEN ve SEO genlerinin, gıda zehirlenmesi olan hastalardan izole edilen suşlarda tespit edildiğini göstermiştir (Chao ve ark., 2015).

Stafilokokal enterotoksin P: Stafilokokal enterotoksin P (SEP) ilk olarak, MRSA N315 genomundan tespit edilmiştir. SEP'nin süperantijenik ve emetik aktivitesi bulunmaktadır. SEP'nin olgun formu 233 aminoasitten oluşmaktadır. SEA

ile % 78, SEE ile % 79 oranında aminoasit benzerliğine sahiptir. SEP Sa3n projafında bulunan *sep* geni tarafından sentezlenmektedir. Bir çalışma sonucunda, *sep* geni taşıyan MRSA suşlarının bakteriyemi gelişiminde önemli düzeyde etkili oldukları saptanmıştır (Calderwood ve ark., 2014 ve Omoe ve ark., 2005).

Stafilokokal enterotoksin Q: Stafilokokal enterotoksin Q (SEQ) süperantijeniteye, pirojeniteye ve endotoksin şokunu artırma yeteneğine sahiptir. Moleküler ağırlığı 26 kDa ağırlığında, izoelektrik pH-değeri ise 7,5-8,0 aralığındadır. SEQ profaj ve SaPI'da bulunan genlerden üretilmektedir. Isıya ve sindirim enzimlerine karşı dirençlidir. Hatta klasik toksinlerden SEA'ya göre, pepsine karşı daha dirençli olduğu görülmüştür. SEQ'nun maymunlarda ve ev misk farelerinde emetik aktiviteye sahip olduğu yapılan çalışmalar sonucunda tespit edilmiştir (Hu ve ark., 2017). SEQ, başka bir klasik toksin olan SEC'den daha yüksek, SEA kadar güçlü önemli emetik aktivite göstermiştir (Hu ve ark., 2003).

Stafilokokal enterotoksin R, S, T: Stafilokokal enterotoksin R, S ve T'lerden (SER, SES, SET) SER 1997 yılında, Japonya'nın Fukoka şehrinde meydana gelen gıda zehirlenmesinde mide bulantısı, kusma ve diare gibi semptomlar gösteren hastalardan izole edilen 4 farklı *S. aureus* suşunda (Fukuoka 5, 6, 7 ve 8) tespit edilmiştir. SET ise Fukoka 5 suşundan izole edilmiştir. SER kodlayan *ser* geni pIB485 ve pF5 plazmidlerinde, SES ve SET kodlayan *ses* ve *set* genleri pF5 plazmidinde keşfedilmiştir. Nükleotid dizi analizine göre *ser* genini *seg* geni ile en yakından ilişkili olduğunu anlaşılmıştır. SER, SES ve SET'nin süperantijenik aktiviteleri ve emetik aktiviteleri yapılan çalışmalar sonucu belirlenmiştir (Omoe ve ark., 2003 ve Ono ve ark., 2008).

1.7. *S. aureus*'a Karşı Gelişen Antibiyotik Dirençlilikleri

İnsanlarda ve hayvanlarda çeşitli enfeksiyonlara neden olan *S. aureus*'un tedavisi için antibiyotiklere ihtiyaç vardır. Kullanılan antibiyotikler bakteri hücresinde hücre duvarı sentezini, transkripsiyonu, translasyonu ve DNA sentezini

hedeflemektedir. Antibiyotik direnci, bakterilerin bir veya daha fazla antibiyotiğe maruz kaldıktan sonra hayatta kalma yeteneğidir. *S. aureus* çeşitli antibiyotiklere direnç geliştirmede oldukça başarılıdır. Antibiyotiklere direnç tedavilerde başarısızlıklara ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Al-Mebairik ve ark., 2016 ve Vestergaard ve ark., 2019). Antibiyotik direnç, bir antibiyotiğin klinik bir enfeksiyona karşı etki etmediği anlamına gelmektedir. Mikrobiyolojik direnç, fenotipik testlerde eşik değerin belirlenmesine bağlı uygulamalarla, patojenin dirençli ya da duyarlı olarak sınıflandırılmasıyla, genetik olarak belirlenmiş ya kazanılmış ya da mutasyona uğramış direnç mekanizmalarının varlığıdır (MacGowan ve Macnaughton, 2017 ve Scott, 2009).

Antibiyotik direnci doğal (intrinsik) veya kazanılmış olabilir. *S. aureus*'un antibiyotik direnç mekanizmaları arasında ilaç hedeflerinin değiştirilmesi, enzimatik ilaç inaktivasyonu, ilacın hedefe ulaşımının engellenmesi ve efflux pompasının aktivasyonu ile antimikrobiyal bileşenlerin dışarı atılması yer almaktadır (Vestergaard ve ark., 2019). Kazanılmış direnç doğal olarak duyarlı bakterilerin aynı ya da farklı türden bakterilerden genetik materyalin transferi ile oluşmaktadır. Mobil genetik elemanlar DNA'nın genomlar içindeki veya bakteri hücreleri arasındaki hareketine aracılık eden enzimleri ve diğer proteinleri kodlayan DNA segmentleridir (Alibayov ve ark., 2014). Bakteriyofajlar, patojenite adaları, plazmidler, transpozonlar, integratif konjugatif elementler, integronlar ve stafilokokal kaset kromozomları (SCC) antibiyotik direnç genlerini taşıyan mobil genetik elemanlardır (Haaber ve ark., 2017). Gen aktarımları konjugasyon (plazmid transferi doğrudan hücreden hücreye temas), transdüksiyon (bakteriyel DNA'nın faj ile taşınması) ve transformasyon (ortamdan DNA alınımı) yöntemiyle gerçekleşmektedir (MacGowan ve Macnaughton, 2017). Bir bakteri bir antibiyotiğe dirençli hale geldiğinde, önceki o antibiyotiğe karşı savunmasız durumuna dönememektedir. Ayrıca direnç, mikroorganizmanın tüm yavru hücrelerine de aktarılmaktadır (Al-Mebairik ve ark., 2016).

1.7.1. Beta laktam Antibiyotiklerine Karşı Direnç

Beta laktam antibiyotikleri, hücre duvarı üzerinde etkilidir. *S. aureus* infeksiyonlarına karşı tercih edilen antimikrobiklerin bel kemiği olarak bilinmektedir. Beta laktam antibiyotikleri hücre duvarı peptidoglikanlarının çapraz bağlanmasından sorumlu olan transpeptidaz ya da transglikozilazı inaktive etmektedir. Bu da hücre duvarı sentezine dolayısıyla yapısına, hücre duvarı esaslı metabolizmaya ve hücre bölünmesine zarar vermektedir (Smith ve Jarvis, 1999). *S. aureus*'un beta laktamlara dirençli hale gelmesi genellikle iki temel mekanizma ile gerçekleşmektedir. Birinci mekanizma, *blaZ* geni tarafından beta laktamazın kodlanmasıyla olan enzimatik inaktivasyondur. İkinci mekanizma ise *mecA* ve *mecC* genlerinin ürünleri yoluyla hedef bölgenin değişimidir (Wendlandt ve ark., 2013). Beta laktamaz enzimini kodlayan plazmid, aynı zamanda gentamisin ve eritromisin gibi antibiyotiklerinde direnç genlerini içerebilir (Schito, 2006).

1.7.1.1. Penisilin Direnci

Penisilinler 1940'ların başında piyasaya sürülmesi ile birlikte stafilokok infeksiyonlarına karşı oldukça etkili olmuştur. Bununla birlikte, 1942 gibi erken bir tarihte, penisiline dirençli stafilokoklar, önce hastanelerde ve ardından toplumda tanımlanmıştır. Penisilin direncine, beta laktamaz kodlayan gen olan *blaZ* aracılık etmektedir. Stafilokoklar beta laktam antibiyotiklere maruz kaldığında sentezlenen bu hücre dışı enzim, beta laktam halkasını hidrolize ederek inaktif hale getirir. *blaZ*, antirepresör *blaR1* ve baskılayıcı *blaI* düzenleyici genlerin kontrolü altındadır (Lowy, 2003).

1.7.1.2. Metisilin Direnci

S. aureus'da penisilin direncinin ortaya çıkması, 1950'lerde streptomisin, tetrasiklin, eritromisin ve kloramfenikol gibi yeni antibiyotiklerin geliştirilmesini

tetiklemiştir. Ancak yeni bulunan antibiyotikler geliştirilip kullanıldıkça bu antibiyotiklere karşı direnç gelişimi de ortaya çıkmıştır. Penisiline dirençli *S. aureus*'a karşı kullanılabilecek antibiyotiklerin sürekli araştırılması metisilin gelişimine de yol açmıştır. Metisilin, penisilinaza direnç sağlayan penisilin yapısının değiştirilmesiyle 1950'lerin sonlarında geliştirilen yarı sentetik bir penisilin türevidir. Metisilin, diğer penisilinlere benzer bir etki mekanizması olan bakteriyel hücre duvarı sentezini inhibe ederek, bakterileri öldürmektedir (Boswihi ve Udo, 2018). Ancak İngiltere'de 1961 yılında MRSA'nın ortaya çıkması ilacı klinik olarak etkisiz hale getirmiştir (Jevons, 1961). Sağlık tesislerinde yüksek oranda antibiyotik kullanımı nedeniyle, MRSA suşları beta laktam antibiyotiklere ek olarak birçok antibiyotik sınıfına karşı direnç kazanmıştır (Doyle ve ark., 2012).

En yaygın nozokomiyal infeksiyonların başında MRSA gelmektedir (Uhlemann ve ark., 2014). MRSA suşları ilk ortaya çıktığında, genellikle sağlık tesislerine kabul edilen, özellikle de daha önce antibiyotik kullanan yaşlı hastalarda görülmüştür. Bununla birlikte, 1980'li yıllardan itibaren MRSA suşlarının sağlıklı bireylerde de izole edilmesiyle birlikte, önemli bir epidemiyolojik değişime neden olmuşlardır. Bunu, hayvanlardan ortaya çıkan yeni bir MRSA türü olan çiftlik hayvanları kaynaklı MRSA (Livestock Associated MRSA, LA-MRSA) izlemiştir (Boswihi ve Udo, 2018). Hayvanlarda ilk olarak 1972'de mastitisli bir inekten izole edildiği zamana kadar, MRSA insan kaynaklı bir hastalık olarak görülmüştür (Devriese ve ark., 1972). Ancak LA-MRSA ilk olarak 2005 yılında tanımlanmıştır. Ağırlıklı olarak Hollanda, Danimarka, Belçika ve çevre ülkelerde bulunmasına rağmen dünyanın birçok yerine hızla yayıldığı görülmektedir (Lindsay, 2010). Ayrıca LA-MRSA'nın gıda zinciri yoluyla yayılımı büyük endişeye neden olmaktadır. Domuz ve sığır etleri LA-MRSA ile kesim sırasında kontamine olabilmektedir (Boost ve ark., 2013 ve Weese ve ark., 2010). Yapılan çalışmalar gıdalarda MRSA'nın varlığını açıkça göstermekte olup, bu halk sağlığı için büyük bir risk oluşturmaktadır. Hayvansal orijinli gıdalardaki antibiyotiklere dirençli mikroorganizmalar, hayvanlardan insanlara ya da insanlardan hayvanlara doğrudan temas yoluyla ve gıda zinciri yoluyla direnç aktarımına neden olabilmektedir (Lakhundi ve Zhang, 2018 ve Umaru ve ark., 2011).

Penisilin bağlayan proteinin (PBP) afinitesinin azalması sonucu metisilin direnci 1981 yılında tanımlanmıştır (Hartman ve Tomasz, 1981). Moleküler ağırlıklarına göre sınıflandırılan PBP'ler, hücre duvarının peptidoglikan çapraz bağlanmasına izin vererek, transpeptidasyon reaksiyonlarını katalize etmektedir. β -laktam grubu antibiyotikler PBP'lere kovalent olarak bağlanarak oldukça kararlı kompleksler oluşturmaktadır. Böylece PBP'ler hücre duvarı sentezi için gerekli reaksiyonları katalize edemez. Metisiline karşı ana direnç mekanizması, β -laktam molekülleri için düşük affiniteye sahip PBP'nin (PBP2a) sentezini destekleyen *mecA* geni olarak bilinen, spesifik gen varlığından kaynaklanmaktadır. MRSA suşları β -laktam grubu antibiyotiklerine maruz kaldıklarında, düşük affiniteye sahip PBP2a'nın transpeptidaz aktivitesi nedeniyle hücre duvarı sentezine devam ederek, bakterinin parçalanması önlenmektedir. Dirençten sorumlu *mecA* geni Stafilokokal Kaset Kromozom *mec* (SCC*mec*; Staphylococcal cassette chromosome *mec*) olarak bilinen hareketli genetik materyal üzerinde taşınmaktadır. SCC*mec*, çok özel bir konumda (*attB_{scc}*) *S. aureus*'un kromozomuna entegre edilmiştir. Sadece *S. aureus* arasında olmayıp, tüm stafilokok türleri arasında transfer olabilen bu genetik eleman *mec* gen kompleksini, kaset kromozom rekombinazları (*ccr*), entegrasyon bölgesi sekanslarından (ISS) oluşmaktadır. *mecA* geni ve onun düzenleyici elemanları *mecI* ve *mecR1* *mec* kompleksi oluşturmaktadır. *mecI*, *mecR1* ve *mecA*'yı baskılayan bir protein, *mecR1* sinyal uyarıcı bir protein düzenleyerek *mecA* sentezi gerçekleşir ve PBP2a sentezlenir. Ayrıca *mecI* ve *mecR1*'in *bla* gen kompleksiyle (*blaI*, *blaR1*) yapısı oldukça benzerdir. Ancak *mecA* genini başka genlerde düzenlemektedir. Dolayısıyla *mecA* genini *mecI* ve *mecR1*'e yapısı oldukça benzediği için *bla* sisteminin kontrolü altında da olduğu düşünülmektedir. Kromozomal direnç tipi olarak da bilinen bu direnç tipinin fenotipik ifadesi homojen ya da heterojen yapıda olabilir. Homojen dirençteki izolatlar çok sık görünmese de tamamında *mecA* geninin varlığı ve aktif olmasıyla yüksek düzeyde direnç görülmektedir. Homojen direnç çevresel faktörlerden etkilenmemektedir. Çoğu MRSA izolatı β -laktam antibiyotiklere karşı heterojen direnç göstermektedir. Bu izolatlarda görülen direnç çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Bazı koşullar yerine getirildiğinde heterojen direnç homojen dirence dönüşebilir. Ancak değişiklik, koşulların ortadan kalkmasıyla geçici olmaktadır ve fenotiptir. Heterojen direnç görülen izolatlarda

mecA varlığına rağmen fenotipik olarak direnç çok nadir görülmektedir. Bunu *mecA* geninin fonksiyonunu denetlediği düşünülen, peptidoglikanın çarpaz bağlanmasında rolü olan *fem* genlerinin (factor essential for resistance to methicillin resistance) metisilin direncinin heterojen olmasında katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Ayrıca, *aux* (auxiliary factors), *hmt* (high methicillin resistance) ve X faktör gibi ek faktörlerin de metisilin direncine katkıda bulunduğu görülmektedir. Ancak X faktör, *femA* ve *femB*'deki mutasyonların dirence olan katkısı oldukça fazladır (Berger-Bachi ve Rohrer, 2002; Carretto ve ark., 2018; Chambers, 1997; Chongtrakool ve ark., 2006 ve Peacock ve Paterson, 2015).

Modifiye edilmiş PBP2a sentezinin yanı sıra, metisiline stafilokok direnci başka mekanizmalarla da belirlenebilir. Sporadik olarak oksasiline duyarlılığı azalmış *mecA* geni bulunmayan *S. aureus* suşları da rapor edilmiştir. Bu suşların direnç mekanizmaları MRSA suşlarından farklıdır ve BORSA olarak tanımlanmıştır. BORSA suşları metisiline dirençli veya metisiline duyarlı olarak sınıflandırılmamaktadır. Ayrıca *mecA* geni bulunan oksasilin MIC değerine göre sınıflandırılan BORSA izolatlarında eğer MIC değeri 0,5-2 µg/mL ise Oksasilin-Duyarlı Metisilin-Dirençli *S. aureus* (Oxacillin-Susceptible Methicillin-Resistant *S. aureus*, OS-MRSA) izolatı olarak ifade edilmiştir. Ancak MIC değeri 4-8 µg/mL ise oksasilin dirençli MRSA izolatı adı verilmiştir (Zehra ve ark., 2020). BORSA'nın neden olduğu infeksiyonların semptomları MRSA infeksiyonlarına benzer ve metisiline duyarlı *S. aureus* (Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus*, MSSA) infeksiyonlarından daha şiddetli olma eğilimindedir. BORSA'nın direnç mekanizması β-laktamazın aşırı üretiminden kaynaklanabilir. β-laktamaz enzimi aşırı sentezlenmesiyle birlikte β-laktam grubu antibiyotiklerin önemli kısmı parçalanmaktadır. Ayrıca bu suşlarda PBP2a oluşmamaktadır. BORSA'nın prevalansı sadece insanlarla sınırlı değildir. Sığır, at, domuz, tavuk, hindi gibi hayvanlar da bulunmaktadır. Ayrıca gıdalardan da izole edilmektedir (Hryniewicz ve Garbacz, 2017).

Diğer *mecA* bağımsız direnç biçimi ise doğal PBP'lerde modifikasyonlar görüldüğü için Moderately Resistant *S. aureus* (MODSA) olarak adlandırılan

izolatlar tarafından görülmektedir. Bu izolatlarda PBP2 ve diğer PBP'lerde β -laktam antibiyotikler tarafından hedeflenen transpeptidaz alanında çeşitli nokta mutasyonlar görülmektedir. Dolayısıyla PBP'lerin β -laktam antibiyotiklere karşı ilgisi azdır. PBP4'ün aşırı sentezlenmesi MODSA'nın direnç mekanizmasıdır. Nadir olarak görülen bu direnç tipi *mecA* tarafından oluşturulan direnç tipine göre direnç seviyeleri düşüktür. Ayrıca MODSA izolatlarında β -laktamaz enzimi sentezlenmemektedir (Argudin ve ark., 2018 ve Peacock ve Paterson, 2015).

İngiltere'de 2007 yılında süt toplama tankından izole edilen fenotipik olarak oksasilin ve sefoksitine dirençli *S. aureus* LGA251 izolatı keşfedilmiştir. Bu izolatta *mecA* geni ve PBP2a negatif bulunmuştur. *mecC* geni keşfedildikten sonra MODSA olarak tanımlanan izolatların bazılarının *mecC* pozitif MRSA izolatı olabileceği anlaşılmıştır. İlk keşfedildiğinde *mecA* genine % 70 benzerliği ile *mecA* geninin homoloğu *mecA*_{LGA251} olarak adlandırılmıştır. *mecA*_{LGA251} tarafından kodlanan PBP PBP2a'ya % 63 benzerlik gösteren bir aminoasidik diziye sahiptir. *mecA*_{LGA251} 2012 yılında *mecC* olarak adlandırılmıştır. Rekombinant PBP2a_{mecC} proteini oksasiline sefoksitinden daha çok yakınlık göstermektedir. PBP2a_{mecC}'nin 37 °C'de PBP2a_{mecA}'ya göre daha az kararlı olduğu görülmüştür. PBP2a_{mecA} direnç gösterebilmesi için PBP2'nin transglikosilaz aktivitesi gereklidir. PBP2a_{mecC} ise diğer *S. aureus*'da indüklenen monofonksiyonel glikotransferazlardan biri ile interaksiyona girerek direnç göstermektedir (Carreto ve ark., 2018 ve Paterson ve ark., 2014).

1.7.2. Aminoglikozid Direnci

Bakterisidal etkili olan aminoglikozidler sadece ribozomu hedef alan antibiyotiklerdir. Bakterisit etkinin hücre zarına dahil olabilen, permeabilitenin artması sonucunda aminoglikozidlerin alımını artıran proteinlerin üretimi ile gerçekleştiği düşünülmektedir. Sıklıkla tercih edilen aminoglikozidlerden biri olan gentamisin, ribozomun 30S alt biriminin 16S rRNA'sının A bölgesine bağlanarak, protein sentezine müdahale etmektedir. Gentamisin, *S. aureus*'un neden olduğu ciddi

nozokomiyal infeksiyonlarla mücadele etmek için, 1970'lerde piyasaya sürülmüştür. Ancak antibiyotiğin kullanımı, mobil genetik unsurlar tarafından kodlanan yüksek seviyeli direncin ortaya çıkmasıyla tehlikeye girmiştir (Foster, 2017).

S. aureus'un aminoglikosidlere direnci, aminoglikozid ajanlarının enzimatik modifikasyonu ve 30S ribozomal alt biriminin hedef modifikasyonları olmak üzere çeşitli mekanizmalar tarafından sağlanır. MRSA suşlarında aminoglikozid direnç belirleyicileri bulunmaktadır. Böylece gentamisin bu suşlara karşı etkinliği ortadan kalkmaktadır (McCallum ve ark., 2010).

1.7.3. Glikopeptid Direnci

Glikopeptid antibiyotikler, Gram pozitif bakterilerin hücre duvarı sentezini inhibe eden siklik ya da polisiklik ribozomal olmayan peptidlerdir. Bu ajanlar substrat bağlayıcı olarak hareket etmektedir. Glikopeptidlerin önemli üyeleri arasında vankomisin ve lipoglikopeptid yapıda olan teikoplanin bulunmaktadır. Vankomisin ve teikoplanin D-alanil-D-alanin terminaline bağlanarak bakteri hücre duvarı peptidoglikan tabakasının çapraz bağlanmasını önlemektedir. Böylece peptidoglikanın uzamasını bloke ederek transglikosilaz reaksiyonu inhibe edilmektedir (Zeng ve ark., 2016).

ABD'de görülen vankomisine orta düzeyde duyarlı *S. aureus* (Vancomycin Intermediate-Resistant *S. aureus*, VISA) izolatları teikoplanine de dirençli olduğu için, glikopeptide orta düzeyde duyarlı *S. aureus* (Glycopeptide Intermediate-Resistant *S. aureus*, GISA) terimi ile ifade edilmiştir. GISA teknik olarak hem vankomisin hem de teikoplanin için orta düzeyde duyarlı olan suşlar için daha doğru bir terim olmasına rağmen; VISA terimi vankomisine dirençli ve teikoplanine orta düzeyde duyarlı suşları tanımlamak için kullanılmaktadır. VISA'da görülen direnç ise oluşan mutasyonlar sonucu hücre duvarı kalınlığının artması, hücre duvarı sentezinin artması, hücre yüzey yükündeki değişiklik, peptidoglikanın çapraz bağlanmasının azalması ile ilişkilendirilmektedir (Appelbaum, 2007).

İlk olarak Japonya’da 1996 yılında gözlemlenen VISA suşları, Avrupa, Asya ve ABD’de giderek daha fazla tanımlanmıştır ve 2002’de ABD’de vankomisine dirençli *S. aureus* (Vancomycin Resistant *S. aureus*, VRSA) suşları bildirilmiştir. VRSA suşlarında *vanA* geninin izole edilmesi VRSA izolatu ile birlikte izole edilmiş bir Vankomisine dirençli enterokok suşundan Tn1546 transpozonu ile *vanA* geninin türler arası transferi yoluyla gerçekleşmiştir. VRSA suşlarının peptidoglikan tabakasında D-alanin-D-laktat sentezlenmesi sonucu vankomisin bağlanamamaktadır (Appelbaum, 2007).

1.7.4. Kinolon Direnci

Gram negatif bakteriyel infeksiyonların tedavisi amacıyla, 1980’li yıllarda ilk olarak nalidiksik asit kullanılmıştır. Ancak ilaca karşı direnç hızla gelişerek ilacın kullanım dışı kalmasına neden olmuştur. Bu antibiyotığın yerine siprofloksasin, levofloksasin ve moksifloksasin gibi daha yeni ve daha aktif kinolonlar kullanılmaya başlanmıştır. Yeni üretilen kinolonlar iki halkalı kinolon çekirdeğinin değiştirilmesiyle florokinolon olarak adlandırılmaktadır. Bu antibiyotikler Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı oldukça etkili olmaktadır. Ancak direnç *Pseudomonas*, oksasiline dirençli stafilokok ve enterokoklarda hızla gelişebilir (Lowy, 2003 ve Murray ve ark., 2016). Florokinolonlar genellikle *S. aureus*’a karşı yüksek aktiviteye sahiptir. Bu nedenle klinik direnç sınır noktasını aşmak için, hedef bölgeyi değiştiren ve efflux pompası sistemlerinin aşırı ekspresyonunu sağlayan çoklu mutasyonların oluşması gerekmektedir (Foster, 2017 ve Vestergaard ve ark., 2019).

Florokinolonlar, bakteriyel DNA replikasyonunun bloke edilmesinden dolayı etkilidirler. *S. aureus*’daki birincil hedefin topoizomeraz IV (*griA* ve *griB*) ve ikincil hedefin DNA giraz (*gyrA* ve *gyrB*) olduğu iki moleküler hedefleri vardır. Direnç için DNA giraz geni olan *gyrA* ve topoizomeraz tip IV geni olan *griA*’daki robosomal mutasyonlar aracılık etmektedir. Aminoasitler enzim-DNA kompleksinin hassas bölgelerini (kinolon direnç-belirleyen bölge, QRDR) değiştirerek, kinolon ilgisini her

iki hedef için azaltmaktadır. Ayrıca hem topoizomeraz IV ve hem de DNA girazda görülen mutasyonlar, hedeflerin herhangi birinde tek bir mutasyona göre daha yüksek direnç seviyeleri üretebilir. *S. aureus*'daki diğer bir direnç mekanizması, çoklu ilaca dirençli efflux pompasının indüksiyonudur. *S. aureus*'un *NorA*, *NorB* ve *NorC* olmak üzere üç kromozom olarak kodlanmış efluks pompasının aşırı ekspresyonu, florokinolonlara duyarlılığın azalmasına yol açmaktadır. *NorA* siprofloksasin ve norfloksasine ek olarak beta laktam, kloramfenikol ve tetrasiklin direncine neden olmaktadır (Fluit ve ark., 2001; Lowy, 2003; McCallum ve ark., 2010; Smith ve Jarvis, 1999 ve Vestergaard ve ark., 2019).

1.7.5. Tetrasiklin Direnci

Tigesiklin dahil tetrasiklinler, 70S ribozomun 30S alt birimine etki ederek protein sentezinin uzamasını engellemektedir (Smith ve Jarvis, 1999). Tetrasiklin direncinin yayılması için mobil genetik elemanların katkısı da bulunmaktadır. Tetrasiklinlere direnç genellikle ya aktif efflux pompası mekanizması ya da ribozom koruyucu proteinler aracılığıyla olmaktadır (Feßler ve ark., 2018). Tetrasiklin direnci plazmid kaynaklı *tetK* ve *tetL* genleri yardımıyla aktif efluks pompası ile ilacın hücre dışına atılmasıyla oluşmaktadır. Ayrıca tetrasiklin efluks proteini olan *Tet38*, baskılayıcı protein *MgrA* inaktive edildiğinde tetrasiklin direnci vermektedir. Ribozom koruyucu proteinler aracılığıyla oluşan direnç *tetM* ve *tetO* tarafından meydana gelmektedir. Bu *tetM* ve *tetO* ribozoma bağlanarak yapısını değiştirip tetrasiklinlerin bağlanmasını engellemektedir. *TetM* ve *tetO* gen ürünleri, minosiklin dahil tüm tetrasiklinlere karşı dirence aracılık eden ribozom koruyucu proteinleri temsil etmektedir (Feßler ve ark., 2018 ve McCallum ve ark., 2010).

Tetrasiklinlere karşı direncin ortaya çıkması nedeniyle, tetrasiklinlerin eski versiyonlarına karşı ortak direnç mekanizmalarının üstesinden gelen yeni analogların geliştirilmesi devam etmektedir. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA), 2005 yılında glisilsiklin sınıfına ait olan tigesiklini onaylamıştır. Tigesiklin yapısındaki farklılıktan dolayı tetrasiklinlere göre aktivite

spektrumunu genişletmektedir ve ribozomal korunma ile efflux mekanizmasının üstesinden gelmektedir. Önceki tetrasiklinlere göre daha yüksek ribozom bağlama afinitelerine sahiptir ve tetrasiklin efflux pompaları tarafından tanınmaz ve taşınmazlar (McCallum ve ark., 2010; Vestergaard ve ark., 2019 ve Zhanel ve ark., 2006).

1.7.6. Kloramfenikol Direnci

Kloramfenikol, 50S ribozomal alt üniteye bağlanarak, peptidiltransferaz aşamasında protein sentezini engelleyen bakteriyostatik bir antibiyotiktir. *S. aureus*'daki fenikollere direnç enzimatik inaktivasyon, aktif efflux pompası veya hedef bölge modifikasyonundan kaynaklanabilir. Asetilasyon yoluyla enzimatik inaktivasyona sıklıkla, plazmidte bulunan *cat* geni tarafından sentezlenen üç tip kloramfenikol asetiltransferazdan biri aracılık ederek, antibiyotiğin ribozoma bağlanmasını engellemektedir. Kloramfenikolün aktif efflux pompası direncine *FexA* veya *LmrS* aracılık etmektedir. Son olarak, kloramfenikol direnci, *cfr* geni tarafından kodlanan bir rRNA metilaz tarafından A2503 pozisyonunda 23S rRNA'nın hedef bölge modifikasyonu yoluyla meydana gelebilir (Feßler ve ark., 2018 ve Vestergaard ve ark., 2019).

1.7.7. MLS Antibiyotiklerine Karşı Direnç

MLS (Makrolid, Linkozamid, Streptogramin) antibiyotikleri, 50S ribozomal alt birimin peptidil transferaz merkezini hedef alarak, protein sentezini önlemektedir. Makrolidler ve streptogramin B, çıkış tüneli içinde peptidil transferaz merkezine bitişik olarak bağlanarak peptid zincirinin uzamasını önlemektedir. Model makrolid antibiyotiklerden olan eritromisin polipeptit uzamasını bloke eden 50S ribozomal alt birimine bağlanarak etkilerini göstermektedir. Linkozamidler (klindamisin) ise peptidil transferaz merkezinde, tRNA'ların aminoasile edilmiş uçlarının doğru

konumlanmasını önleyerek peptid bağı oluşumunu inhibe etmektedir (Schito, 2006 ve Vestergaard ve ark., 2019).

MLS antibiyotiklerine karşı direnç hedef bölge mutasyonu, enzimatik hedef bölge modifikasyonu, antibiyotiğin enzimatik inaktivasyonu ve aktif efflux pompasıyla görülebilir. 23S rRNA'nın metilasyonu, bakteriyel direncin kaynağıdır. Hedef bölge modifikasyonu, 23S rRNA'daki bir adenin kalıntısına metil grupları ekleyen *ermA*, *ermB*, *ermC* genleri ile gerçekleşmektedir. Böylece antimikrobiyal ajanların ribozomal hedef bölgelerine bağlanması önlenmektedir. Ribozomal metilasyon hem eritromisin hem de klindamisine karşı çapraz dirence neden olmaktadır. Ayrıca, *cfr* geni tarafından kodlanan 23S rRNA metiltransferaz, linkozamidler ve streptogramin A'ya karşı direnç sağlarken; makrolidlere direnç sağlamamaktadır. Antibiyotik dirence L4 ve L22 ribozomal proteinlerin mutasyonları MLS antibiyotiklerine karşı dirence katkı sağlamaktadır. Stafilokoklar, MLS antibiyotiklerinden bir veya daha fazlasını hücre dışına atabilen efflux pompalarını kodlayan genleri de edinebilir. Bu *msrA* geni özellikle makrolidlere ve streptogramin B'ye karşı direnci sağlayarak hücre içi konsantrasyonu korumaktadır (Foster, 2017; Schito, 2006 ve Vestergaard ve ark., 2019).

1.7.8. Trimethoprim-Sülfametoksazol Direnci

Sülfonamidler 1935 yılında klinikte kullanılan ilk antibiyotik sınıfıdır. Sülfametoksazol sülfonamidler arasında kullanılan en yaygın antibiyotiktir. Trimetoprim ise 1962 yılında piyasaya sürülmüştür. İki antibiyotik 1968 yılından beri kombinasyon olarak kullanılmaktadır. Sülfonamidler, para-aminobenzoik asit (PABA) analogları olduğu için PABA ile rekabet ederek dihidrofolat oluşumunu katalize eden dihidropteroat sentetaz enzimini inhibe etmektedir. Trimetoprim ise dihidrofolattan tetrahidrofolat oluşumunu katalize eden dihidrofolat redüktazı (*dfrB*) inhibe etmektedir (Smith ve Jarvis, 1999 ve Vestergaard ve ark., 2019).

S. aureus'da sülfonamid direncinin, ya artan bir para-aminobenzoik asit üretiminden ya da dihidropteroat sentetaz enzimini kodlayan kromozomal gendeki mutasyonlardan kaynaklandığına inanılmaktadır. Trimetoprim direnci, dihidrofolat redüktaz enzimini kodlayan *dfrB* genindeki kromozomal mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. İki antibiyotik, direnç gelişimini engellemek için sıklıkla kombinasyon halinde kullanılmaktadır (Feßler ve ark., 2018; Smith ve Jarvis, 1999 ve Vestergaard ve ark., 2019).

1.7.9. Linezolid Direnci

Protein sentezi inhibitörü olarak etki eden bakteriyostatik bir ajandır. Ribozomun 50 S alt birimine bağlanarak protein sentezini engellemektedir (Stryjewski ve Corey, 2009).

Linezolid direnci ile ilgili çeşitli raporlar olmasına rağmen, *S. aureus* suşlarının % 98'inden fazlası duyarlıdır. Bununla birlikte, MRSA enfeksiyonu olan hastalarda linezolid ile tedavi sırasında ortaya çıkan direnç bildirilmiştir. Bu direnç, tipik olarak, 23S ribozomal RNA'yı kodlayan genlerin tek nükleotid değişiklikleri ve ribozomal proteinler L2, L3 ve L22'nin genlerindeki mutasyonlar ile ilişkilendirilmiştir. Linezolide karşı direnç esas olarak 23S rRNA geninin mutasyonudur. *S. aureus*'un linezolide dirençli hale gelebileceği bir başka mekanizma, ribozomal metiltransferaz *cfr* geninin plazmid yoluyla edinilmesidir. *Cfr* geni 23S rRNA'nın A2503 bölgesinde adeninin metilasyonuna neden olmaktadır. Bu değişiklik sonucu fenikoller, oksazolidinonlar, linkozamidler, streptogramin A ve plöromutilin antibiyotiklerinin hedef bölgeye bağlanması engellenmiş olmaktadır (Feßler ve ark., 2018 ve Vestergaard ve ark., 2019).

1.7.10. Daptomisin Direnci

Daptomisin, *Streptomyces roseosporus*'un fermentasyon ürünü sonucu oluşmuştur. Daptomisin başta MRSA'ya karşı bakteri hücre ölümüne yol açan lipopeptid bir antibiyotiktir (Enoch ve ark., 2007 ve Stryjewski ve Corey, 2009). Daptomisin hücre membranına bağlanma sonucunda, kalsiyuma bağlı hücre membranı depolarizasyonuna neden olur. Oluşan depolarizasyona bağlı olarak DNA ve RNA sentezinin engellenmesi sonucu hücre ölümleri gerçekleşir (Carpenter ve Chambers, 2004).

Stafilokokların tamamında olmasa da, bazılarında görülen genetik değişiklikler duyarlı olmayan fenotipin ortaya çıkmasıyla ilişkilendirilmiştir. Bunlardan ilki pozitif yüklü lizilfosfatidilgliserolün sentezini katalize eden multipleptid direnç faktörünün (*mprF*) aktivitesini artıran mutasyonlardır. İkincisi, teikoik asidin alanilasyonundan sorumlu *dlt* operonunun aşırı üretimidir. Üçüncü olarak, histidin kinaz geni olan *yycG* geninin mutasyonudur, bu genin hücre duvarı döngüsüyle ilişkisi bulunmaktadır. Dördüncü mekanizma ise RNA polimeraz alt birimlerini kodlayan genler olan ve daptomisin duyarlı olmayan fenotip ile ilişkisi net olmayan *rpoB* ve *rpoC* mutasyonları olduğu düşünülmektedir. Bu genetik değişikliklerle tutarlı olarak, daptomisine dirençli *S. aureus* suşları için bildirilen fenotipik değişiklikler, hücre membranının artan pozitif yükünü ve kalınlaşmış bir hücre duvarı sonucu meydana geldiği belirtilmiştir (Nannini ve ark., 2010 ve Vestergaard ve ark., 2019).

1.8. *S. aureus*'un Patogenezi ve Oluşturduğu Semptomlar

S. aureus'un patojenitesi toksinlere, yayılmaya ve antibiyotik direncine bağlıdır. *S. aureus* nozokomiyal ve toplum kaynaklı infeksiyonların başlıca nedenlerinden biridir. *S. aureus*'un neden olduğu geniş hastalık yelpazesi, birçok yüzeye bağlı ve hücre dışı virülans faktörünün üretilmesinden kaynaklanmaktadır. Bunlar, konak dokulara yapışan, konakçı savunmasını engelleyen veya hücreleri

parçalayan molekülleri içermektedir (Hatem ve ark., 2017). *S. aureus* infeksiyonlarının patogeneğinde ilk adım, hasarlı konakçı dokularla ilişkili memeli hücrelerine, plazma proteinlerine ve hücre dışı matris proteinlerine adezyonudur. İnfeksiyon durumunda, ökaryotik hücrelere, hücre dışı matriks bileşenlerine ve serum proteinlerine adezyonu *S. aureus*'un konakçı ile etkileşmesinde oldukça önemlidir. Protein A, fibronektin bağlayan proteinler, fibrinojen bağlayan proteinler, kollajen bağlayan proteinler, elastin bağlayan proteinler gibi adezinler adezyonda etkili olmaktadır. *S. aureus* normal deri ve mukozalarda bulunmasına rağmen; deride çatlakların oluşması veya immün sistemin zayıfladığı durumlarda bakterinin kolonizasyonu ile infeksiyon oluşturabilir. *S. aureus* çeşitli virülans faktörlerini devreye sokarak burun deliklerine kolonizasyonu ve enfekte bölgelere zarar vermesini ve ciddi kan dolaşımı infeksiyonlarına neden olmasını sağlamaktadır. Teikoik asit bakterinin kolonize olmasını kolaylaştırmaktadır. *ClfB* de bakterinin nazal kolonizasyonunda önemli bir belirleyicidir. Kolonizasyonun korunmasında önemli olan bir diğer etken ise kapsüldür (Lee ve Bohach, 2004 ve Pal ve ark., 2020).

S. aureus doku içinde kolonizasyon sonrası eksfoliyatif toksinler ve hemolizinler salgılayarak, deride gözenekler oluşturup deri bütünlüğünün bozulmasına ve konakçı içinde yayılırlar. Ayrıca çeşitli enzimler üreterek dokuyu tahrip ederler. Bu enzimler, konakçı bağışıklık tepkilerine karşı besin ve savunma sağlamaktadır (Lee ve Bohach, 2004 ve Pal ve ark., 2020).

S. aureus konakçının bağışıklık tepkisinden korunmak için strateji de geliştirmektedir. İnvazyon *S. aureus*'un konakçıya izinsiz giriş başarısının anahtarı olarak bilinmektedir. *S. aureus* hücrelerinin yüzeyinde bulunan protein A'da antifagositik özelliklere sahiptir. Antifagositik mikrokapsül ile de infeksiyon sırasında konakçı bağışıklık sisteminden kaçabilmektedir. İki bileşenli (hetero-oligomerik) gözenek oluşturucu lökotoxinler, immün kaçışı için önemli olduğu düşünülen monositler, makrofajlar ve nötrofiller gibi hücreleri lize edebilir. Yine lökositleri parçalayarak immün sistem üzerine etki gösteren PVL'yi de salgılamaktadır (Pal ve ark., 2020). *S. aureus* konakçılarında, hayatta kalmaya uyum sağlar. İnsan konakta bu, doğuştan gelen ve adaptif bağışıklığın üstesinden gelmek

için çeşitli virülans stratejileri geliştirdikleri anlamına gelir. Genellikle şekerlerden oluşan inert bir kapsül üreterek, bağışıklık tanınmasını önlemek için mikrobiyal yüzeyi kamufle etmektedir. Ayrıca bağışıklık hücrelerinde veya diğer hücrelerde hücre içi bir yaşam tarzına uyum sağlayarak, bağışıklık sisteminden korunmaktadır (De Jong ve ark., 2019).

S. aureus'un biyofilm üretimi de patogeneze önemli katkı sunmaktadır. Biyofilm bakteriyi antibiyotiklerin etkisine karşı koruyabilmektedir. Buna ek olarak konakçı nötrofillerin ve makrofajların fagositozuna karşı direnç sağlamaktadır (Foster ve Geoghegan, 2015).

S. aureus insan ve hayvanlarda çok çeşitli hastalıklara neden olabileceği için klinik olarak en önemli türdür. *S. aureus*, toplumda ve hastane ortamlarında hem toksin aracılı hem de toksin aracılı olmayan mekanizmalar yoluyla hastalıklara neden olan, önemli bir patojendir. Enfeksiyonlar deri ve yumuşak dokulardan, invaziv, yaşamı tehdit eden hastalıklara kadar çeşitlilik göstermektedir. *S. aureus*'un neden olduğu enfeksiyonları yüzeysel lezyonlar ve yara enfeksiyonları, toksinlerin neden olduğu hastalıklar ve sistemik enfeksiyonlar olmak üzere üç kategoride toplamak mümkündür (Fontana ve Favaro, 2018). *S. aureus* saprofit olarak insan deri florasının ortak bir bileşeni olduğu için, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının ana ajanlarından biridir. Apse, selülit, folikülit, çıban, karbunkül (kan çıbanı), erisipel (yılancık hastalığı), mastitis, konjunktivit gibi cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olabilir. Yara enfeksiyonlarının daha derin dokulara yayılması halinde lenfadenit ve lenfanjit ile sonuçlanabilir. Toksinler stafilokokal gıda zehirlenmesine ve toksik şok sendromuna neden olmaktadır. Ayrıca stafilokokal antijenler atopik dermatit gibi cilt bozukluklarıyla, romatoid artrit, multiple skleroz, Kawasaki hastalığı, idiyopatik pulmoner fibroz ve kronik rinosinüzit gibi otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilebilir. *S. aureus* sepsisemiye neden olduktan sonra endokardit, perikardit ve prostetik kalp endokardit gibi endovasküler hastalıklara, menenjit, omurilik apseleri gibi merkezi sinir sistemi hastalıklarına, osteomyelit, septik artrit gibi invaziv enfeksiyonlar, trakea iltihabı, pnömoni, akciğer apseleri gibi

solunum yolu infeksiyonlarına neden olabilmektedir (John, 2004 ve Que ve Moreillon, 2015)

Büyükbaş ve küçükbaş hayvanlarda ise *S. aureus*'un neden olduğu bilinen başlıca hastalık gangrenöz ve subklinik mastitis olarak bilinmektedir. Ayrıca *S. aureus* toksik şok sendromu, apse, dermatit, furunküloz, gastroenterit, osteomyelit, menenjit, pnömoni, endokardit ve yara infeksiyonları gibi başka hastalıklara da neden olabilmektedir. *S. aureus* domuzlarda eksudatif dermatite yol açmaktadır. Tavuklarda da toksik şok sendromu, sepsis, septik artrit ve osteomyelitise neden olabilmektedir (Haag ve ark., 2019 ve Marsilio ve ark., 2018).

En yaygın gıda kaynaklı hastalıklardan biri olan stafilokokal gıda zehirlenmesi, infeksiyondan ziyade bir zehirlenmedir. Hastalığa, organizmaların hasta üzerindeki doğrudan etkisinden ziyade, gıdalarda bulunan bakteriyel toksin neden olmaktadır (Murray ve ark., 2016). Genellikle *S. aureus*'un hastalığa neden olacak kadar yeterli toksin üretmesi için gıdada 10^5 kob/g'dan seviyelerinde olması gerektiği kabul edilmektedir (Hennekinne ve ark., 2010). Enfektif doz hasta duyarlılığına göre değişebilmesine rağmen, yaklaşık 0,1 µg'ı insanlarda stafilokokal gıda zehirlenmesini indükleyebilir. Gıda zehirlenmelerinin şiddeti bir bireyin enterotoksinlere olan duyarlılığına, yenen kontamine gıda miktarına, yutulan gıdalardaki toksin miktarına ve kişinin genel sağlığına bağlıdır (Seo ve Bohach, 2010). Toksin tipi ayrıca hastalığın olasılığını ve ciddiyetini etkileyebilir. Örneğin, SEA neden olduğu infeksiyonlar daha yaygın görülmesine rağmen, SEB'ye maruz kalan kişiler daha şiddetli semptomlar gösterirler. Enterotoksinler oldukça güçlü olmasına rağmen, semptomları indüklemek için gereken enterotoksin miktarı, kontamine gıda yoluyla edinilen diğer birçok ekzotoksininkine kıyasla nispeten fazladır. Genelde kontamine olmuş gıdalarda yaklaşık 1 µg düzeyindeki SE'ler gıda zehirlenmesine ilişkin semptomların çıkışı için yeterlidir. Ancak çok hassas kişilerde hastalığa neden olmak için 100-200 ng doz yeterlidir (Bennet ve ark., 2013 ve Park ve Seo, 2019).

Stafilokokal gıda zehirlenmesi yeterli düzeyde *S. aureus* tarafından üretilen bir veya daha fazla toksin ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesiyle oluşmaktadır. Enterotoksin alımını takiben semptomların çıkışı oldukça hızlı olup, genellikle 0,5-8 saattir. Şiddetli kusma, mide bulantısı, karın krampları ve diyare tipik bulgulardandır. Terleme, baş ağrısı, halsizlik, hipotansiyon ve düşük dereceli ateş çok nadir de olsa görülebilir. Diyare sulu ve kansızdır. Dehidratasyon diarenin şiddetine göre, sıvı kaybına bağlı olarak görülebilir. Çoğu durumda, iyileşme birkaç saat ile 24-48 saat arasında görülmektedir. Hospitalizasyon çoğuklukla gerekli değildir ve ölüm oranları düşüktür (doğrulanmış vakaların % 0,03'ü), ancak bebekler ve yaşlı hastalar daha büyük risk altındadır (Murray ve ark., 2016; Stewart, 2017 ve Thapaliya, 2019).

Genelde gıda artıklarında stafilokokal enterotoksinlerin tespit edilmesi ile birlikte *S. aureus*'un hasta kusmuklarıyla birlikte dışkıda ve sorumlu gıdada izole edilmesi ve sayısının gıdada 10^5 kob/g'dan fazla olması, stafilokokal gıda zehirlenmelerinin teşhisinde önemlidir (Hennekinne ve ark., 2010).

Kusmaya neden olan enterotoksinler için hücresele reseptörler abdominal viserada bulunmaktadır. Yapılan araştırmalar, enterotoksinlerin karın bölgesindeki sinir reseptörlerini uyardığını, bu reseptörlerin vagus ve sempatik sinirler yoluyla uyarıları ilettiğini ve sonuçta merkezi kusmayı uyardığını göstermektedir. Ev misk faresini kullanan bir çalışmada, SEA'nın bağırsakta bir 5-hidroksitriptamin (5-HT) salımına neden olduğunu ve vagal afferent nöronlardaki 5-HT₃ reseptörlerinin SEA kaynaklı kusma için gerekli olduğu belirtilmektedir. Stafilokokal gıda zehirlenmelerinde, gastrointestinal sistem inflamatuvar değişikliklere uğramaktadır. Toksin kaynaklı inflamasyonun kusmaya yol açtığı varsayılmaktadır. Gıda zehirlenmeleri seyrinde histamin, prostaglandin E₂, lökotrienler B₄, 5-hidroksiieikosatetraenoik asit, lökotrien E₄ (sisteinil lökotrienler) gibi çeşitli inflamatuvar mediatörleri üretilmektedir. Gıda zehirlenmeleri sırasında inflamatuvar araçların mast hücreleri tarafından salındığı ileri sürülmektedir. Emetik aktivitede belirlenen hipotezlerden birincisi, enterotoksinlerin mast hücre reseptörlerine doğrudan bağlanması; ikincisi ise duyu sinirlerinden salınan nöropeptitlerin, mast hücrelerini aktive etmesidir (Thapaliya, 2019).

1.9. *S. aureus*'un Hayvansal Gıdalara Geçişinde Kontaminasyon Kaynakları

Stafilokoklar havada, tozda, kanalizasyonda, suda, çeşitli gıdalarda ve gıda ekipmanlarında, çevrede, yüzeylerde, insanlar ve hayvanlarda bulunabilmektedir (Bennet ve ark., 2013).

İnsanlar *S. aureus* için ana rezervuarlardır. Etkenin kolonize olduğu bireyler taşıyıcı rol oynayarak, etkenin gıdalara transferinde önem taşırlar. İnsanlarda ön burun bölgesi kolonizasyonun fazla görüldüğü bölge iken, *S. aureus* deri ve perineum gibi bölgelerde de kolonize olabilir. *S. aureus*'un gerek insanlar arasında gerekse insanlardan gıdaya geçişi, doğrudan temas sonucu deri yoluyla veya damlacık yoluyla gerçekleşebilir. *S. aureus*'un gıdalara bulaşmasında, gıda işletmelerinde çalışan personel önemli rol oynamaktadır (Park ve Seo, 2019). Özellikle gıda işletmelerinde çalışan personelin hijyen kurallarına uymaması ve oluşan çapraz kantaminasyonlar nedeniyle *Salmonella* spp., *S. aureus* ve *Escherichia coli* gibi gıda kaynaklı patojenlerin yayılmasında önemli bir yeri vardır (Baş ve ark., 2006 ve Woh ve ark., 2016). Nitekim bu bağlamda yapılan bir çalışmada personel ellerinden alınan 50 örneğin 18'i ile 50 burun örneğinden 32'sinde *S. aureus* saptanmıştır (Castro ve ark., 2016). Ayrıca Uzunovic ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada, personelden alınan örneklerde MRSA suşlarına da rastlandığını bildirmişlerdir. Yine yapılan birçok çalışmada, bu durumun MRSA salgınlarını başlatabileceği rapor edilmiştir (Jones ve ark., 2002; Kluytmans ve ark., 1995 ve Soares ve ark., 1997). Yapılan başka bir çalışmada ise sadece *S. aureus*'un değil koagulaz negatif stafilokokların da gıda işletmelerinde çalışan kişilerin ellerinde ve burun boşluklarında önemli düzeyde bulunduğu ve bunların çeşitli enterotoksin genleri taşıdığı tespit edilmiştir (Rall ve ark., 2010). Personel haricinde et işletmeleri ile süt işletmelerinde kullanılan çeşitli alet ve ekipmanın da, *S. aureus* kontaminasyonunda rol oynadığı belirlenmiştir (Gutierrez ve ark., 2012; Kadariya ve ark., 2014 ve Syne ve ark., 2013). Stafilokokal gıda zehirlenmeleriyle yetersiz soğutma, gıdaların tüketilmeden çok önce hazırlanması, yetersiz personel hijyeni,

gıdaların yetersiz ısıtılması ve gıdalar servis edilirken ısıtıcı plakların uzun süre kullanılması ile ilişki bulunduğu anlaşılmıştır (Bennet ve ark., 2013).

S. aureus'un önemli bir kaynağı da hayvanlardır. Yapılan bir çalışmada rastgele seçilen 47 sığırdan 17'sinin (% 36,2) ve rastgele seçilen 28 domuzdan 20'sinin (% 71,4) burun boşluklarında *S. aureus* bulunmuştur (Zehra ve ark., 2017). Bakterinin hayatta kalmasını kolaylaştıran faktörler, gıda amaçlı yetiştirilen hayvanların bakımında ve ürünlerinin işlenmesinde önemli endişeler yaratmaktadır. Enterotoksin üreten *S. aureus*'u taşıyan veya subklinik mastitten etkilenen evcil hayvanlar başka bir potansiyel kontaminasyon kaynağıdır. *S. aureus* klinik ve subklinik mastitisin ana etkenlerinden biridir (Ewida ve Al-Hosary, 2020). Ayrıca süt ve süt ürünlerinin depolanması, taşınması ve işlenmesi sırasında kullanılan alet ve ekipmanlar da kontaminasyonda rol oynarlar (Abunna ve ark, 2016; Basanisi ve ark, 2016 ve Park ve Seo, 2019).

Et ve et ürünlerinin *S. aureus* ile kontaminasyonunda, kesim hijyeninin uygun olmaması etkilidir. Kasaplık hayvanlar özellikle derileri ile kesimhaneye çeşitli mikroorganizmaları taşırlar. Kesim işleminin kan akıtma, deri yüzme ve iç organ çıkarma aşamalarında karkasla oluşan temaslar kontaminasyon riskini oldukça artırmaktadır. Ayrıca kesim sırasında zemin, duvar, bıçak, testere, masat, personel önlüğü, personelin kullandığı eldiven, personel eli önemli kontaminasyon kaynaklarıdır (Bakhtiary ve ark, 2016; Collins ve Huey, 2014; Gill, 2007; Moon ve ark., 2015; Schlegelova ve ark, 2004; Soepraniondo ve Wardhana, 2019 ve Zweifel ve Stephan, 2014). Kesimhaneler haricinde et işleme tesisleri ve perakende satış mağazalarında çalışan personelden ve kullanılan bıçaklar, doğrama tahtalarından, kesme makinelerinden de kontaminasyon şekillenebilir (Kim ve Yim, 2017). *S. aureus* tavukların deri yüzeylerinde bulunabilir. Kanatlı hayvanların kesim aşamalarında da, kontaminasyon ihtimali oldukça yüksektir. Özellikle tüy yolma işlemi, kontaminasyonun başlıca kaynağı olarak kabul edilmektedir. Genelde kanatlı ürünlerinde *S. aureus*'un bulunması temas, taşıma, işleme, ambalajlama ve depolamaya bağlı kontaminasyonlar sonucu oluşmaktadır. Ayrıca kanatlı karkaslarının parçalanmış olarak satılması da, kontaminasyon ihtimalini artıran

etkenlerdendir (Ibrahim ve ark., 2015; Perez-Arnedo ve ark., 2021 ve Wang ve ark., 2013).

Kaynağı ne olursa olsun *S. aureus* birçok gıdada başlangıçta 10^2 kob/g düzeyinde bulunabilir. Daha sonra etken uygun koşullarda üremeye devam ederek, sayısal olarak 10^6 kob/g'ın üzerine ulaştığında, oluşturduğu toksinlerle gıda zehirlenmesine neden olurlar (Montville ve ark., 2012).

1.10. *S. aureus*'un Gıdalarda Varlığı

Yüksek protein içerikli gıdalar *S. aureus*'un üremesi için oldukça uygundur. Çiğ et ve işlenmiş et ürünleri, kanatlı etleri, balık, deniz ürünleri, yumurta, çiğ süt, çeşitli süt ürünleri, muhallebi, kremalı turtalar, çikolatalı tatlılar, pasta ve krema dolgulu hamur işleri gibi unlu mamüller, ton balığı, tavuk, makarna ve patates salataları, perakende satılan gıdalar, sandviç, hamburger gibi tüketime hazır gıdalar, mayonez gibi çeşitli gıdalarda sıklıkla *S. aureus* bulunmaktadır (Ali ve ark., 2020; Can ve ark., 2017; Mohammed ve ark., 2021; Organji ve ark., 2018; Rahman ve ark., 2018 ve Shylaja ve ark., 2018).

Stafilokokal gıda zehirlenmesinin meydana gelmesi için, öncelikle *S. aureus* ile kontamine olmuş gıdaların uygun sıcaklık ve sürede bekletilmesi gerekir. Daha sonra bu gıdada yeterli seviyede toksin oluşmasından sonra, tüketilmesi gerekmektedir (Liu, 2015).

1.10.1. Et ve Et Ürünlerinde *S. aureus*'un Varlığı

Et kolay bozulan bir gıdadır. Kesim sırasında canlı hayvanların deri gibi doğal koruyucu bariyerleri ve antimikrobiyal peptitler gibi doğal savunma mekanizmaları bozulduğu için, gıda kaynaklı mikroorganizmalar etlerin mikroflorasında bulunurlar (Xu ve ark., 2021). Et insan beslenmesinde önemli olmasına rağmen nötr pH ve

yüksek su aktivite değerine sahip olması ayrıca yüksek protein içeriği nedeniyle bakterilerin çoğalması ve hayatta kalması için uygun koşullara sahiptir. Bu özellikleri nedeniyle etler, gıda kaynaklı hastalıkların yayılmasında önemli rol oynarlar (Jaja ve ark., 2018).

Wu ve ark. (2018), yaptıkları çalışmada domuz etlerinde % 47,7 (114/239), sığır etlerinde % 50,4 (63/125), kanatlı etlerinde % 67,9 (108/159), koyun etlerinde % 54,9 (12/22) ve bacon/sosis örneklerinin % 18,6'sında (11/59) *S. aureus* bulduklarını belirtmişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada, hızlı dondurulmuş domuz etlerinde % 50 (5/10), sığır etlerinde % 31,4 (11/35), kanatlı etlerinde % 60,9 (154/253), koyun etlerinde % 30,9 (21/68) ve buharda pişirilmiş mantıda % 29,4 (69/235) düzeyinde *S. aureus* identifiye edilmiştir. Ruban ve ark. (2018), satılan koyun etlerinde *S. aureus*'un prevalansının % 66,2 düzeyinde olduğunu belirtmişlerdir. Pekana ve Green (2018), ise çalışmalarında sığır karkaslarında % 20,4; koyun karkaslarında % 3,3 ve domuz karkaslarında % 14 oranında *S. aureus* bulunduğunu bildirmişlerdir.

Aynı şekilde Bantawa ve ark. (2018), tarafından yapılan çalışmada ise marketlerden alınan tavuk, domuz, bufalo ve keçi etlerinde *S. auerus*'u sırasıyla % 53,3, % 73,3, % 80 ve % 70 düzeyinde bulmuşlardır. Yapılan başka bir çalışmada ise Brezilya'dan gelen dondurulmuş etin % 27'sinde, Hindistan'dan gelen dondurulmuş ette % 26,67'sinde ve yerel kesilmiş ette % 22'sinde *S. aureus* saptandığı rapor edilmiştir (Saleh ve ark., 2016). Osman ve ark. (2017), ithal dondurulmuş sığır etlerinde *S. aureus*'un % 3 düzeyinde bulunduğunu belirtmişlerdir. Haskell ve ark. (2018), tarafından yapılan başka bir çalışmada ise 36 sığır örneğinin birinde (% 2,8), 49 tavuk eti örneğinin 14'ünde (% 28,6), 39 domuz eti örneğinin 12'sinde (% 30,8) ve 35 hindi eti örneğinin dokuzunda (% 25,7) *S. auerus* izole edilmiştir. Tang ve ark. (2017), perakende satılan tavuk etlerinin % 75'inde, domuz etlerinin % 60'ında ve hindi etlerinin % 52'sinde *S. aureus* saptamışlardır.

Yine yapılan başka bir çalışmada da kasap ve marketlerden alınan kıymaların % 20'sinde, sosislerin % 20'sinde, dana burgerlerin % 12'sinde, kasap ve market

alışanlarının el srntlerinin % 32'sinde, burun örneklerinin ise % 28'inde *S. aureus* izole edilmiştir (Nossair ve ark., 2018). Benzer şekilde Shylaja ve ark. (2018), yaptıkları çalışmada herbirinden 30'ar adet aldıkları tavuk eti, sığır eti, koyun eti, domuz eti, hindi eti, tavuk nugget, sosis ve burger örneklerinin sırasıyla 21 (% 70), 17 (% 56,6), 19 (% 63,3), 15 (% 50), 19 (% 63,3), 18 (% 60), 16 (% 53,3) ve 17'sinde (% 56,6) *S. aureus* tespit etmişlerdir. Ge ve ark. (2017), 3.520 perakende et örneğinin 982'sinde (% 27,9) *S. aureus* saptamışlardır. Bu alışmada, *S. aureus* prevalansı en yüksek hindi eti (% 50,9), ardından sığır eti (% 24,5), domuz eti (% 22,6) ve tavuk etinde (% 13,5) bulunmuştur.

Tavuk ve hindi karkasları üzerine yapılan bir çalışmada, tavuk karkaslarının % 40,6'sında, hindi karkaslarının % 45,7'sinde *S. aureus* bulunmuştur (Mebkhout ve ark., 2018). Yine tavuk etleri üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise 200 tavuk eti örneğinden 94'ünde *S. aureus* saptanmıştır (Kim ve ark., 2018).

1.10.2. Süt ve Süt rnlerinde *S. aureus*'un Varlığı

Süt *S. aureus* gibi gıda kaynaklı patojenlerin gelişmesi için mkemmел bir gıdadır. Bu yüzden sütün çiğ olarak tüketilmesi toplum sağlığı açısından oldukça risklidir (Chieffi ve ark., 2020). Yapılan bir çalışmada 200 çiğ süt örneğinin % 45'inde *S. aureus* bulunmuştur (Bano ve ark., 2020). Bissong ve ark. (2020), yaptığı çalışmada çiftliklerden alınan 39 çiğ süt örneğinin 19'unda (% 48) *S. aureus*'a rastlamışlardır. Yapılan bir başka çalışmada 195 çiğ süt örneğinin % 46,2'sinde *S. aureus* izole edilmiştir (Wang ve ark., 2018). İnek, koyun ve keçi sütlerinin bulunduğu süt toplama tanklarından da *S. aureus* sıklıkla izole edilebilmektedir (Tegegne ve ark., 2019). Yapılan bir çalışmada üreticiden 49 keçi sütü rneği alınmıştır. Sütlerin tamamında *S. aureus* görülmüştür (Rebouças ve ark., 2020). Yapılan bir başka çalışmada 197 keçi sütü toplama tankının 85'inde (% 43,1) *S. aureus* pozitif olarak bulunmuştur (Cortimiglia ve ark., 2015). Halk sağlığı açısından süte uygulanan önemli bir ısı işlem olan pastörizasyon ile birlikte birçok patojen mikroorganizma elimine olmasına rağmen yapılan çalışmalarda pastörize

sütlerde farklı oranlarda (% 56,6; % 20,4; % 3,9) *S. aureus* izole edilmiştir (Dai ve ark., 2019; Gundogan ve ark., 2006 ve Rall ve ark., 2008). Ancak pastörizasyon sonrası sütte enterotoksinler biyolojik aktivitelerini koruyarak sütte kalabilir ve stafilokokal gıda zehirlenmelerine yol açabilir (Asao ve ark., 2003 ve Dai ve ark., 2019).

Sığırlarda *S. aureus* kaynaklı mastitisli sütlerin çiğ olarak ya da çiğ süttten elde edilen süt ürünlerinin tüketimi stafilokokal gıda zehirlenmelerine neden olabilir (Grispoldi ve ark., 2019; Hummerjohann ve ark., 2014; Jakobsen ve ark., 2011; Käppeli ve ark., 2019; Rall ve ark., 2014 ve Vaughn ve ark., 2020). Pastörize edilmemiş süttten üretilen peynirlerin genellikle mikrobiyolojik olarak güvenli olmadığı düşünülmektedir çünkü *S. aureus*'un peynir ile kontaminasyonu süt çiftliğinde, peynir üretim ve olgunlaşma aşamasında, peynir yapımından sonra olması mümkündür (Yoon ve ark., 2016). Hummerjohann ve ark. (2014), çiğ süttten elde edilen 78 peynirle yaptığı çalışmada elde edilen 623 koagulaz pozitif stafilokok izolattan 609 izolatu *S. aureus* olarak bulmuşlardır. Jakobsen ve ark. (2011), inek ve keçi peynirleri yapım aşamalarında numuneler alınarak *S. aureus* varlığı araştırmışlardır. Yapılan 122 peynirin % 67,5'inde *S. aureus* kontaminasyonu görülmüştür. En yüksek *S. aureus* kontaminasyon seviyelerine ilk preslemeden 5-6 saat sonra hem keçi hem de sığır peynirinde ulaşılmıştır. Jamali ve ark. (2015), toplam 2.650 çiğ süt ve süt ürünlerinde yaptığı çalışmada 328 (% 12,4) örneği *S. aureus* ile kontamine olduğunu bulmuşlardır. Kontamine gıdaların 162'sini çiğ inek sütü, 86'sını çiğ koyun sütü, 49'unu çiğ süttten elde edilmiş geleneksel peynir ve 31'ini kashk oluşturmuştur. Can ve Çelik (2012), 100 beyaz peynir ve 100 tulum peyniri üzerinde yaptığı çalışmada beyaz peynir örneklerinin beşinde, tulum peyniri örneklerinin yedisinde *S. aureus* izole etmişlerdir. Rola ve ark. (2016), toplam 244 peynirin 122 (% 50)'sinin *S. aureus* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Saka ve Terzi Gülel (2018), 100 çiğ bufalo sütü örneği, 50 bufalo süttünden elde edilen peynir ve 50 krema örneğinden sırasıyla 30 (% 30), dokuz (% 18), 17 (% 34) oranında *S. aureus* identifiye etmişlerdir. Toubar ve ark. (2018), 35 süt örneğinin 22'si (% 53,3), 35 peynir örneğinin 15'inde (% 40), 10 krema örneğinin üçünde (% 30), 10 tuzsuz

tereyağının üçünde (% 30), 30 yoğurt örneğinin 10'unda (% 35) *S. aureus* pozitif olarak bulmuşlardır.

1.10.3. Diğer Gıdalarda *S. aureus*'un Varlığı

S. aureus canlı balıklarda doğal olarak bulunmamasına rağmen, balık ve balıkçılık ürünlerinde depolama sırasında olabilecek çarpaz kontaminasyon ya da personelden kaynaklanan kontaminasyon sonucu *S. aureus*'a rastlanılmaktadır (Saklani ve ark., 2020). Balıkların *S. aureus* tarafından kontaminasyonu işleme ve paketlenme aşamalarından sonra artmaktadır ve yapılan bir çalışma sonucu işlenmiş balıklarda *S. aureus* prevalansının daha yüksek olduğu bulunmuştur. Trol ve olta ile tutulan balıkların hiçbirinde *S. aureus*'a rastlanılmamıştır (Saito ve ark., 2011). Yapılan bir çalışmada taze balık ürünleri (% 43), donmuş balık ürünleri (% 30), salamura balık (% 27), dumanlanmış balık (% 26), pişirmeye hazır balık ürünleri (% 25), surimi (% 20), balık yumurtası (% 17) ve diğer tüketime hazır balık ürünlerinde (% 10) *S. aureus* izole edilmiştir (Vazquez-Sanchez ve ark., 2012).

S. aureus kümes hayvanları ve yumurta üretim ortamında yaygın olduğu için yumurtalarda da bulunması olasıdır. Ev tavuğu yumurtaları üzerinde yapılan çalışmada (275), baskın türün *S. xylosus* (49/275; % 17,8) olduğu belirtilmesine rağmen sadece iki yumurtada *S. aureus* bulunmuştur (Syed ve ark., 2019).

Küresel bir trend haline gelen tüketime hazır gıdalar zayıf sterilizasyon, paketlenme eksikliğinden dolayı nakliye, depolama ve satış sırasında *S. aureus* tarafından kolayca kontamine olabilir. Yapılan bir çalışmada 2.160 tüketime hazır gıdadan 54 *S. aureus* izolatu elde edilmiş ve bunların dağılımı et ürünlerinde 31/1209 (% 2,6), süt ürünlerinde 6/200 (% 3), meyve ve sebzelerde 9/401 (% 2,2) ve tatlılarda 8/350 (% 2,3) oranında bulunmuştur (Lin ve ark., 2019). Yine tüketime hazır olan 645 gıdanın (domuz, sığır, kanatlı, koyun etleri) 79'unda (% 12,2) *S. aureus* bulunmuştur (Wu ve ark., 2018). Wang ve ark. (2019), yaptığı çalışmada 1.128 farklı gıda örneğinden 111 *S. aureus* izolatu izole etmişlerdir. *S. aureus* taze kesilmiş

meyve/sebzelerde % 20,5 (26/127), pirinç ürünlerinde % 11,5 (21/183), hayvansal ürünler % 10 (49/492), donmuş tatlılar (14/187) ve su aktivitesi düşük tatlılarda % 0,7 (1/139) oranında görülmüştür. Mohammed ve ark. (2021), 50 dana burgerin % 90'ında, 50 sosisli sandviçin % 86'sında *S. aureus* belirlemişlerdir. Beshiru ve ark. (2021), açık pazardan alınan tüketime hazır 720 karides örneğinde 53 *S. auerus* izolatu elde etmişlerdir. Dünya genelinde bilinen tüketime hazır gıdalar haricinde her ülkenin kendine özgü geleneksel tüketime hazır gıdaları da *S. aureus* ile kontamine olabilir (Lennox ve ark., 2018). Nijerya'da geleneksel tüketime hazır gıda örneklerinden 53 örnek alınmıştır. İzole edilen 70 *Staphylococcus* spp.'nin 65'i (% 92,8) *S. aureus* olarak saptanmıştır (Egege ve ark., 2020). Suşi ve saşimi üzerinde yapılan çalışmada toplam 200 örneğin 52'sinde (%26) *S. aureus* bulunmuştur (Puah ve ark., 2017). Shaltout ve ark. (2017), sığır köftesinin % 32'sinde, sığır karaciğerinin % 44'ünde, şavurmanın % 8'inde ve dana sosisinin % 16'sında *S. aureus* tespit edildiğini ifade etmişlerdir.

1.11. *S. aureus*'un Epidemiyolojisi

Epidemiyoloji farklı popülasyonlarda sağlık ile ilgili vakaların oluşumunu ve dağılımını araştırmaktadır. Bu disiplin, sağlığı etkileyen faktörleri ve meydana getirdiği etkileri inceleyerek elde edilen bilgiler sonucunda sağlık problemlerini kontrol etmeyi amaçlayan uygulamaları incelemektedir. İnsanlarda ve hayvanlarda enfeksiyona neden olan fırsatçı ve patojen mikroorganizmaların varlığı bilinmektedir. Duyarlı ve savunmasız konakları periyodik olarak kolonize etme özellikleri mikroorganizmaların hayatta kalma ve dağılımını belirleyen faktörler olarak bilinmektedir (Kosecka-Strojek ve ark., 2018). Epidemiyolojik çalışmalarda salgının nedeni olan mikroorganizmaların moleküler karakterizasyonunun yapılması salgının kaynağına ulaşılması yönünden oldukça önemlidir (Gallina ve ark., 2013).

S. aureus insanlarda burun mukozalarının ön bölümünde sıklıkla bulunmaktadır. İnsanların % 20'sinde *S. aureus* kalıcı olarak kolonize olmaktadır. Ayrıca insanların % 60'ında ise aralıklı olarak taşıyıcı olmaktadır (Kluytmans ve

ark., 1997). Kontamine insanların gıda işletmelerinde çalışmasıyla, gıdaların *S. aureus* ile kontamine olması şekillenmekte ve toplumda stafilocokal gıda intoksikasyonlarına neden olmaktadır (Gallina ve ark., 2013).

Stafilocokal gıda zehirlenmeleri ülkelerin gıda tüketim alışkanlıklarına göre çeşitli gıdalardan kaynaklanabilir (Le Loir ve ark., 2003). Türkiye Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde çeşitli gıdalarda *Staphylococcus* ile ilgili standartlar içermektedir. Yönetmeliğe göre gıda güvenliği kriterleri olarak çeşitli gıdalarda hem koagulaz pozitif stafilocoklar hem de stafilocokal enterotoksin varlığı kullanılmaktadır. Ancak bu çalışmada incelenen kuzu karkasları ya da diğer hayvanların karkasları ile ilgili kriterler arasında *S. aureus*, koagulaz pozitif stafilocok ya da stafilocokal enterotoksin yer almamaktadır (Anon, 2011).

Stafilocokal gıda zehirlenmesi tanısı, tüketilen gıdalarda stafilocokal enterotoksinlerin saptanmasıyla konmaktadır. Ancak tanıyı desteklemek için kusmukta *S. aureus*'un ve enterotoksinlerin varlığı, tüketilen gıdada enterotoksin üretimini sağlayacak sayıda *S. aureus*'un varlığı ve infeksiyondan etkilenen hastaların dışkılarında *S. aureus*'un varlığı önemlidir. Bazı durumlarda enterotoksijenik *S. aureus*'un gıdalarda varlığı izole edilemeyebilir. Çünkü enterotoksinler, mikroorganizmanın dayanamadığı koşullara karşı dirençlidir. Bu nedenle kesin tanı gıdalarda stafilocokal enterotoksinlerin varlığına dayanmaktadır (Castro ve ark., 2018). *S. aureus*'un tarafından meydana gelen stafilocokal gıda zehirlenmeleri sporadik olma eğiliminde olsa da, toplu yemek tüketilen yerlerde meydana gelen salgınlarda insandan insana bulaşma görülebilir. Salgınlara katkıda bulunan etmenler arasında gıdaların sıcaklık kontrolünün yetersizliği, enfekte gıda işleyicileri, kontamine ham maddeler, çapraz bulaşma ve yetersiz ısı işlem yer almaktadır (Paparella ve ark., 2018).

EFSA verilerine göre 2014 yılında AB'de 5.251 gıda kaynaklı salgın rapor edilmiştir. *Bacillus*, *Clostridium* ve *Staphylococcus* tarafından üretilen toksinler tüm salgınlarda % 16,1'inden sorumlu tutulmuştur. Bunlar arasında stafilocokal toksinlerin neden olduğu 393 gıda kaynaklı salgın bildirilmiştir (Anon, 2015). EFSA

verilerine göre 2015 yılında ise 434 gıda kaynaklı salgının nedeni stafilokokal gıda kaynaklı zehirlenmelerdir (Anon, 2016a). Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezi (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) verilerine göre de ABD’de ise 2014 ve 2015 yılında toplam 34 salgın stafilokokal gıda zehirlenmelerinden kaynaklanmıştır (Anon, 2016b ve Anon, 2018b).

Farklı ülkelerde gıda kaynaklı hastalıkların önemli bir kısmı et ve et ürünlerinden kaynaklanmaktadır. Birleşik Krallık’da 1969-1990 yıllar arasında stafilokokal gıda zehirlenmelerinin % 53’ü et ürünleri, etli yemekler ve özellikle jambon kaynaklıdır. Fransa’da 1999-2000 yıllarında vakaların % 22’sinden etler sorumlu tutulmaktadır. ABD’de 1975-1982 yılları arasında stafilokokal gıda zehirlenmelerinin % 36’sı kırmızı et kaynaklıdır (Paparella ve ark., 2018). Hollanda’da 2019 yılında gıda kaynaklı hastalıkların yaklaşık % 41’i kümes hayvanları, domuz eti, sığır eti ve kuzu etiyle ilişkilendirilmiştir. Ölümcül vakaların %33’üne etin neden olduğu belirtilmiştir (Pires ve ark., 2021).

Antibiyotik dirençli patojen bakterilerin neden olduğu gıda kaynaklı salgınlar hayvansal kaynaklı gıdaların tüketimi sonucu meydana gelmektedir. Bu patojenlerin ortaya çıkmasındaki başlıca faktörler hayvancılıkta antibiyotik kullanımındır. Hayvanlara temas ya da dirençli patojenler ile kontamine hayvansal kaynaklı gıdaların tüketilmesi sonucu insanlarda çeşitli enfeksiyonlara neden olabilirler (Oniciuc ve ark., 2017 ve Sergelidis ve Angelidis, 2017). *S. aureus*’un yüksek prevalansı ve perakende satılan etlerde insan orijinli MRSA varlığı halk sağlığı açısından oldukça endişe edilmesi gereken bir durumdur. *S. aureus* her ne kadar enterotoksinlerin üretimi sonucu gıda kaynaklı intoksikasyonlara neden bir mikroorganizma olarak bilinse de, MRSA’nın personel yoluyla ete bulaşması, halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlikedir (Pu ve ark., 2009). Çeşitli ülkelerde gıdalarda MRSA varlığının neden olduğu salgınlar da bildirilmiştir (Kluytmans ve ark., 1995). Bu salgınlarda MRSA suşlarının enterotoksin de oluşturduğu görülmüştür (Jones ve ark., 2002).

İtalya’da 2012 yılında iki kişide konserve ton balığından kaynaklanan stafilokokal gıda zehirlenmesi meydana gelmiştir. Bu olayda iki kişi konserveyi tükettikten üç saat sonra mide bulantısı, kusma, karın krampları ve ishal semptomları oluşmuştur. Araştırma sonucunda evde konserve edilmiş ton balığında 0,49 ng/g SEA ve 2,04 ng/g SED tespit edilmiştir. Gıda zehirlenmesindeki olası kaynağının, özellikle et parçalarını kavanozlara koyma aşaması başta olmak üzere, pişirme ve işleme sonrası kontaminasyondan olabileceği şüphelenilmiştir (Macori ve ark., 2016).

Viyetnam Gıda Kurumu’na göre 2014-2018 yılları arasında ülke çapında *S. aureus* ve stafilokokal toksinlerinin neden olduğu toplam 71 salgın görülmüştür, büyük ölçekli salgınlar toplam 3858 kişinin hastalanmasına ve 3615 hastaneye yatışa neden olmuştur. Viyetnam’da 2018 yılında okul kantininde servis edilen öğle yemeğinde meydana gelen zehirlenmede 6-10 yaş arasındaki 352 öğrenci hastaneye kaldırılmıştır. Çocuklarda bulantı, kusma, karın ağrısı, ateş ve ishal semptomları görülmüştür. *S. aureus* çocuklarda kusma, dışkı örneklerinde, donmuş tavuklarda, mutfak çalışanların dışkı örneklerinde görülmüştür. Menüde bulunan tavuk bazlı ana yemekte ve kızarmış karideslerde de *S. aureus* bulunmuştur. Ancak mutfak çalışanlarının el örneklerinde, domates çorbasında ve pişmiş pirinçte bulunamamıştır. Ancak sadece tavuk yemeğinde ve yemek için kantin deposunda bulunan dondurulmuş tavuklarda *sea* ve *sec* toksinine rastlanılmıştır. *S. aureus* suşlarının sadece penisilin ve tetrasikline dirençli olduğu anlaşılmıştır. Bulaşmanın mezbaha kaynaklı olduğu ve hazırlama sürecinde çiğ etten pişmiş ete çapraz kontaminasyon gerçekleştiği düşünülmüştür (Le ve ark., 2021).

İtalya’da 2017 yılında meydana gelen deprem sonrası yeniden yapılanmada çalışan 26 işçinin dahil olduğu salgın meydana gelmiştir. Bir catering firmasının getirdiği yemekleri yiyen işçilerin 23’ü gastrointestinal semptomları göstermesiyle hastaneye kaldırılmıştır. Etkilenen 26 işçi arasında kusma ile birlikte 24 işçide karın ağrısı, 21 işçide ishal, 11 işçide ateş ve dokuz işçide baş ağrısı semptomları görülmüştür. Jambon, domuz filetosu ve salam içeren karışık dilimlenmiş et, makarna salatası ve haşlanmış havuçtan oluşan menü, dilimleme bıçağı ve çelik

kaplar ile menüyü hazırlayanlardan alınan örnekler sonucunda zehirlenme nedeninin makarna salatası olduğu düşünülmektedir. Makarna salatasında 13 *S. aureus* izolat, karışık dilimlenmiş et yemeğinden beş izolat, haşlanmış havuçtan ise beş izolat elde edilmiştir. ELISA testi sonucunda da makarna salatasından izole edilen *S. aureus* izolatlarında *sea* ve *sed* varlığı doğrulanmıştır (Guidi ve ark., 2018).

Romanya'da 2014 ve 2017 yılları arasında Calarşi, Arad ve Piteşti şehirlerinde meydana gelen üç salgından gıda örnekleri toplanmıştır. Calarşi'de sekiz kişinin etkilendiği salgında çiftlikte koyun sütünden elde edilen lor peynirinden kaynaklandığı anlaşılmıştır. Arad'daki salgında ise vaka sayısı 52 kişi olup düğünde servis edilen tuzlu olgunlaştırılmış koyun ve inek peyniri içeren mezeler ile ilgili olduğu belirtilmiştir. Piteşti'deki salgında 36 kişide semptomların görüldüğü ve ortaokul kantininde olgunlaştırılmış tuzlu peynirden kaynaklandığı belirtilmiştir. 10 izolatın Arad'daki peynirlerden, beş izolatın Calarşi'deki peynirlerden ve beş izolatın da Piteşti'deki peynirlerden *S. aureus* identifiye edilmiştir. PCR analizine göre 20 suştan 19'unun *S. aureus* olduğu bildirilmiştir. Bunlardan 15'i en az bir enterotoksin kodlayan gen taşıdığı görülmüştür. Calarşi'deki salgında *S. aureus* olarak tanımlanan izolatların hepsinde *sed*, *sej*, *ser* genleri tanımlanmıştır. Piteşti'deki salgınada izole edilen *S. aureus* suşlarının dördünde sadece *seh* geni bulunmuştur. Arad'daki salgında izole edilen yedi suшта *sed*, *seg*, *sei*, *sej* ve *ser* genleri, bir suшта ise *seg* ve *sei* genleri izole edilmiştir (Ciupescu ve ark., 2018).

1.12. *S. aureus*'a Karşı Korunma ve Kontrol

S. aureus insanlarda, hayvanlarda, gıdalarda ve çevrede yaygın bir şekilde bulunmasından dolayı eradikasyonu zor bir mikroorganizmadır. İnsan popülasyonunun önemli bir kısmı, *S. aureus*'u vücudunda barındırmakta ve oluşan salgınların bir kısmından sorumlu tutulmaktadır. Bu yüzden gıda sektöründe çalışan personelin başta kişisel hijyen olmak üzere gıda hijyeni konusunda eğitimleri oldukça önemlidir. Gıda işletmelerinde çalışan personelin hijyen kurallarına uygun olarak ellerini yıkaması, yemekler hazırlanırken eldiven kullanılması ve yemeklerin

servis edildiği büfe masalarının üzerinde, insanların hapşırma ve damlacık ile bulaşmanın engellenmesi için engelleyici panel konulması diğer etkili önleyici tedbirler arasındadır (Thapaliya, 2019).

S. aureus'un etlere bulaşması farklı şekillerde gerçekleşebilir ve genellikle kontaminasyonun kaynağının belirlenmesi güçtür. Bu yüzden kesimhanede kesim sürecine dikkat edilmeli, alet-ekipman hijyeni ve personel hijyeni sağlanmalı ve personel eğitime önem verilmelidir. Ayrıca et satış yerlerinde çevre hijyeni, personel hijyeni ve et ile temas eden aletlerin temizliği sağlanmalıdır. Etlerin başta muhafaza sıcaklığı olmak üzere, muhafaza koşullarına dikkat edilmelidir. Dolayısıyla kesim öncesi, kesim aşaması ve sonrasını kapsayacak şekilde *S. aureus*'un kontaminasyonu engellenmesi için, hijyen önlemlerinin aksatılmadan uygulanması gerekmektedir (Anon, 2013; Eid ve ark., 2018; Kadariya ve ark., 2014 ve Zerabruk ve ark., 2019).

Gıdaların işlenmesi, pişirilmesi, depolanması ve servis edilmesi sırasında alınan önlemler *S. aureus*'un kontaminasyonunun ve gıdalardaki yükünün azaltılmasını önlemede yardımcı olmaktadır. *S. aureus* için üreme sıcaklığının 6-46 °C arasında olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla gıdalar 60 °C'nin üzerinde pişirilmeli, 5 °C'nin altında muhafaza edilmeli ve oda sıcaklığında tutulduğunda hızlı servis edilmelidir. Bu yüzden gıdalarda *S. aureus*'un üremesini engellemek için soğuk zincirin sağlanması önemlidir. Yine gıda sektöründe Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları (Hazard Analysis Critical Control Points-HACCP), İyi Üretim Uygulamaları (Good Manufacturing Practice-GMP) ve İyi Hijyen Uygulamaları (Good Hygiene Practice-GHP) gibi mikrobiyolojik kılavuzların uygulanması, gıda ürünlerinde *S. aureus* kontaminasyonunun önlenmesinde faydalı olacaktır (Thapaliya, 2019).

Bu tez çalışmasında, satış amacıyla Ankara'daki farklı hipermarketlerin et depolarına nakledilen kuzu karkaslarından sünger swap tekniği ile toplanan numunelerde *S. aureus*'un varlığı araştırılmıştır. Daha sonra *S. aureus* olarak belirlenen izolatların 16S rRNA, coa ve nuc genine özgü primerler kullanılarak, PCR

yöntemi ile doğrulanması incelenmiştir. Bunu takibende *S. aureus* izolatlarında enterotoksin (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*) ve metisilin direncini sağlayan genler (*mecA* ve *mecC*) PCR yöntemi ile saptanmıştır. Ayrıca agar difüzyon yöntemi kullanılarak izolatların antibiyotik dirençlilik profilleri belirlenmiştir.

Yapılan literatür taramalarında, Türkiye’de kuzu karkaslarında *S. aureus*’un varlığı ve izolatların enterotoksijenik özellikleriyle, antibiyotik dirençliliği yönünde detaylı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Dolayısıyla bu çalışma ile hem bu alandaki önemli literatür boşluğunun doldurulmasına katkıda bulunulmuş hem de, kuzu karkaslarının stafilokokal intoksikasyonlardaki muhtemel rollerinin ortaya konması hedeflenmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

Bu çalışmada, satış amacıyla Ankara'daki farklı hipermarketlerin et depolarına nakil edilen toplam 150 adet kuzu karkasından sünger swap tekniği ile alınan örnekler gereç olarak kullanılmıştır.

2.1.1. Mikrobiyolojik Analizlerde Kullanılan Besiyerleri ve Malzemeler

Peptone Water (Oxoid, CM0009)

Mikrobiyolojik ekimlerde ve dilüsyonların hazırlanması amacıyla % 0,1'lik peptonlu su kullanıldı. Bunun için besiyerinden 1 g alınarak 1 litre distile su içerisinde çözdürüldü ve 121 °C'de 15 dk otoklavda sterilize edildi.

Baird-Parker Agar Base (Oxoid, CM0275)

Baird-Parker Agar Base 63 g/L olacak şekilde hazırlanıp tamamen çözününceye kadar su banyosunda bekletildi. Otoklavda 121 °C'de 15 dk sterilize edildi. Daha sonra 50 °C'ye soğutularak, aseptik koşullarda 50 ml Egg-Yolk Tellurite Emulsion (Oxoid SR0054) eklenerek karıştırılıp, steril boş petrilere yaklaşık 12-13 ml döküldü.

Egg-Yolk Tellurite Emulsion (Oxoid, SR0054)

Petrilere dökülmeden önce yaklaşık 50 °C'ye soğutulmuş 1 L Baird-Parker besiyerine (CM0275) 50 ml ilave edildi.

Brain Heart Infusion Broth (Oxoid, CM1135)

Besiyerinden 37 g tartılarak bir litre distile su içerisinde çözdürüldükten sonra, cam tüplere yedi ml aktarılarak 121 °C’de 15 dk otoklavda sterilize edildi.

Tryptone Soy Agar (Oxoid, CM0131)

Besiyerinden 40 g tartılarak, bir litre distile su içerisinde tamamen çözününceye kadar su banyosunda eritildi. Tüplere yedi ml aktarılarak 121 °C’de 15 dk otoklavda sterilize edildi.

DNase Agar (Oxoid, CM0321)

Besiyerinden 39 g tartılarak bir litre distile su içerisinde tamamen çözününceye kadar su banyosunda ısıtıldı. Daha sonra 121 °C’de 15 dk otoklavda sterilize edildi. Steril boş petrilere 12-13 ml aktarıldı.

Phenol Red Broth Base (Merck, 110987)

Besiyeri 1,5 g/80 ml olacak şekilde distile su içinde eritildi. Daha sonra cam tüplere dört ml dağıtılıp otoklavda 121 °C’de 15 dakika sterilize edildi.

D (-) Mannitol (Merck, 105983)

Mannitol 0,5 g/10 ml olarak hazırlanıp, por çapı 0,45 µm olan steril filtre (Sartorius Minisart Filters 16534K) ile sterilize edildi ve daha önce hazırlanan tüplerdeki Phenol Red Broth Base besiyeri üzerine 1 ml eklendi.

Columbia Blood Agar Base (Oxoid, CM0331)

Besiyerinden 39 g tartılarak bir litre içerisinde tamamen çözünmesi için sıcak su banyosunda bekletildi. Daha sonra 121 °C’de 15 dakika otoklavda sterilize edildi. Otoklavdan sonra 50 °C’ye kadar soğutulup üzerine 50 ml (% 5) defibrine koyun kanı eklendi. Petrilere 12-13 ml dağıtılarak Kanlı Agar elde edildi. Petrilerdeki besiyeri sterilizasyon kontrolü için 37 °C’de bir gece bekletildi.

Caogulase Rabbit Plasma with EDTA (Remel, R21060)

Bir kutuda 6 adet şişe bulunmaktadır. Her bir şişe 5 ml steril distile su kullanılarak çözdürüldü. Daha sonra kullanıma hazır hale gelen plazmalar ile saf broth kültür karıştırılarak tüpte koagulaz testi uygulandı.

Hidrojen Peroksit % 30 (H₂O₂, Merck, 1072091000)

Katalaz testi için gerekli olan % 3’lük H₂O₂ hazırlanması için kullanıldı. Bunun için % 30’luk H₂O₂’den 10 ml alınıp 90 ml steril distile su ile sulandırıldı.

Gliserol (Merck, 104057)

Kuzu karkaslarından izole edilen suşların -20 °C’de saklanması için % 20’lik gliserol + Brain-Heart Infusion Broth hazırlandı.

2.1.2. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Malzemeler

Bu tez çalışmasında DNA izolasyonu için Tris EDTA buffer (Thermo Scientific, 17890, USA), Lysostaphin (Sigma Aldrich, L7386, 1 mg), Ethanol Absolute % 99,5 (Merck, 100986) ile Qiagen DNeasy Blood&Tissue Kit (Qiagen, 69504) kullanıldı. İzolasyon kitinde DNeasy Mini Spin Columns- 2 ml Collection

Tubes, Collection Tubes (2 ml), Buffer ATL, Buffer AL, Buffer AW1, Buffer AW2, Buffer AE, Proteinase K bulunmaktadır.

Tris/EDTA (TE, 10mM/1mM, Thermo Scientific, 17890, USA)

Tris/EDTA DNA izolasyonunda, Lysostaphin ile birlikte bakteri hücre duvarını parçalamak amacıyla Lysis solüsyon olarak kullanılmıştır. Her bir örnek için 180 µl kullanılmıştır.

Lysostaphin (Sigma, L7386-1MG, USA)

Lysostaphin 1 mg olarak alınmıştır. Daha sonra 1 ml steril distile su ile sulandırılarak, her bir örnek için 7 µl kullanılmıştır.

2.1.3. PCR Analizinde Kullanılan Malzemeler

5x FIREPol® Master Mix (Solis Biodyne)

Yüklemeye hazır 5x FIREPol® Master Mix, PCR için örnek, primer ve su hariç gerekli tüm reaktifleri içermektedir. İçeriği aşağıda belirtildiği gibidir.

FIREPOL® DNA polymerase

5x Reaction Buffer B: 0,4 M Tris-HCl, 0,1 M (NH₄)₂SO₄, % 0,1 w/v Tween-20

12,5 mM MgCl₂: 1 x PCR solution – 2.5 mM MgCl₂

1mM dNTP: 1x PCR solüsyonu – 200 µM dATP, 200 µM dCTP, 200 µM dGTP ve 200 µM dTTP

Blue dye

Yellow dye

Primerler

Bu tezde kullanılacak primerler, çeşitli çalışmalarda kullanılan baz çiftleri belirlenerek sentezlettiler (Ella Biotech GmbH, Germany). Liyofilize olarak gelen primerler firma tarafından verilen sertifikalarda belirtilen hacimlerde DNase, RNase free steril su ile sulandırıldı. Tez çalışmasında kullanılan primerler ise Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Tez çalışmasında kullanılan primerler.

Gen	Primer sekansı (5’-3’)	Amplikon büyüklüğü (bp)	Referans
<i>sea</i>	Primer F: GGT TAT CAA TGT GCG GGT GG Primer R: CGG CAC TTT TTT CTC TTC GG	102	Mehrotra ve ark. (2000)
<i>seb</i>	Primer F: GTA TGG TGG TGT AAC TGA GC Primer R: CCA AAT AGT GAC GAG TTA GG	164	Mehrotra ve ark. (2000)
<i>sec</i>	Primer F: GAC ATA AAA GCT AGG AAT TT Primer R: AAA TCG GAT TAA CAT TAT CC	257	Johnson ve ark. (1991)
<i>sed</i>	Primer F: CCA ATA ATA GGA GAA AAT AAA AG Primer R: ATT GGT ATT TTT TTT CGT TC	278	Mehrotra ve ark. (2000)
<i>see</i>	Primer F: AGG TTT TTT CAC AGG TCA TCC Primer R: CTT TTT TTT CTT CGG TCA ATC	209	Mehrotra ve ark. (2000)
<i>16S rRNA</i>	Primer F: GTA GGT GGC AAG CGT TAT CC Primer R: CGC ACA TCA GCG TCA G	228	Monday ve Bohach (1999)
<i>nuc</i>	Primer F: GCG ATT GAT GGT GAT ACG GTT Primer R: AGC CAA GCC TTG ACG AAC TAA AGC	279	Brakstad ve ark. (1992)
<i>coa</i>	Primer F: GTA GAT TGG GCA ATT ACA TTT TGG AGG Primer R: CGC ATC AGC TTT GTT ATC CCA TGT A	117	Kearns ve ark. (1999)
<i>mecA</i>	Primer F: ACT GCT ATC CAC CCT CAA AC Primer R: CTG GTG AAG TTG TAA TCT GG	163	Mehrotra ve ark (2000)
<i>mecC</i>	Primer F: GAA AAA AAG GCT TAG AAC GCC TC Primer R: GAA GAT CTT TTC CGT TTT CAG C	138	Stegger ve ark. (2012)

DNA Molecular Weight Marker (Amresco K180-250UL)

DNA ladder 50 µg/250 µl konsantrasyonunda temin edildi. Dna Molecular Weight Marker (Amresco K180-250UL) direktiflerine göre DNA Marker

hazırlanmasında DNA Ladder, 6x Brom fenol mavisi jel yükleme solüsyonu ve Ultra Saf Su (ddH₂O) kullanıldı.

Jel Yükleme Solüsyonu (Brom Fenol Mavisi, SNP 17S-00)

Brom fenol mavisi 5 ml olarak temin edildi.

Tris Borate EDTA Buffer (TBE, SNP Biyoteknoloji, 10S-10)

10X TBE olarak temin edilen solüsyondan 1/10 oranında steril distile su ile seyreltilerek 1X TBE hazırlandı.

Ethidium Bromide Solüsyon (SNP Biyoteknoloji, 18S-00)

Bu solüsyon 10 mg/ml olarak temin edildi ve % 1,5 agaroz jel için 5 µl ilave edildi.

Agaroz (Sigma, A9539-500G)

Hazır kimyasaldan % 1,5'luk agaroz jel hazırlamak için, 1,5 g agaroz üzerine 1X TBE ilave edildi ve mikrodalga fırında tamamen eritilinceye kadar ısıtıldı. Daha sonra sıvı durumdaki jel solüsyonu 50 °C'ye soğutulduğunda 5 µl ethidium bromide ilave edildi.

2.1.4. Antibiyotik Direncinin Tespit Edilmesi İçin Kullanılan Besiyerleri ve Antibiyotik Diskler

Mueller Hinton Agar (Oxoid CM0337)

Hazır besiyerinden 38 g alınarak, bir litre distile suda tamamen eritilinceye kadar ısıtıldı. Daha sonra 121 °C’de 15 dk otoklavda steril edildikten sonra 50 °C’ye kadar soğutuldu ve besiyeri steril petrilere dağıtıldı. Tez çalışmasında kullanılan antibiyotik diskler Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Tez çalışmasında kullanılan antibiyotik diskleri.

Antibiyotik	Konsantrasyon (µg)	Firma
Cefoxitin (FOX 30)	30	Oxoid CT0119B
Tetracycline (TE 30)	30	Oxoid CT0054B
Gentamicin (CN 10)	10	Oxoid CT0024B
Oxacillin (OX 1)	1	Oxoid CT0159B
Chloramphenicol (C 30)	30	Oxoid CT0013B
Penisilin G (P)	10U	Oxoid CT0043B
Klindamisin (DA)	2	Oxoid CT0064B
Sulphamethoxazole Trimethoprim (SXT 25)	25	Oxoid CT0052B
Erythromycin (E 15)	15	Oxoid CT0020B
Ciprofloxacin	5	Oxoid CT0425B

2.1.5. Referans Suşlar

Bu çalışmada referans suş olarak *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 43300, *mecC* geni tespiti için *S. aureus* NCTC 13552 ile enterotoksijenik özellikleri bilinen suşlardan *seb*, *sec* ve *see* genlerine ait suşlar Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı’ndan; *sea* ve *sed* genlerine ait suşlar ise Doç. Dr. Ali GÜCÜKOĞLU (Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner

Fakóltesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı) tarafından temin edilerek pozitif kontrol olarak kullanıldı.

2.2. Yöntem

2.2.1. Örneklerin Alınması

Bu tez çalışmasında, gereç olarak kullanılan kuzu karkaslarından örnekler sünger swap tekniğine göre alınmıştır. Bunun için, rastgele seçilen kuzu karkaslarının steril bir şablon ile işaretlenen but, kavram ve döş bölgelerinin 100 cm² (10x10) alanından toplam 300 cm² sünger swap yöntemiyle örnekler alındı (Anon, 1996 ve Anon, 2003a). Örnekler alınmadan önce, steril poşetler içerisinde 10 ml neutralizing buffer içeren sünger swapların (World Bioproducts, EZ-10NB-CELL, USA) bir tarafıyla her bir karkasın but ve kavram bölgesine, diğer tarafıyla de döş bölgesine 10'ar kez horizontal ve vertikal pozisyonda sürülerek örnek alımı tamamlanmıştır. Daha sonra alınan örnekler aseptik koşullarda ve soğuk zincirde laboratuvara getirilerek *S. aureus* izolasyonu ve identifikasyonunda kullanılmıştır. Şekil 2.1'de sünger swap tekniği ile kuzu karkaslarından örnek alınımı gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Sünger swap tekniği ile kuzu karkaslarından örneklerin alınması.

2.2.2. Örneklerin Mikrobiyolojik Analizlere Hazırlanması

Mikrobiyolojik analizler amacıyla, laboratuvara getirilen swap örneklerin üzerine 15 ml peptonlu su eklenerek, stomacherda (IUL Instruments Masticator, Spain) 2 dakika boyunca homojenize edildi.

2.2.2.1. *S. aureus*'un İzolasyon ve İdentifikasyonu

Alınan örneklerde *S. aureus*'un izolasyon ve identifikasyonu amacıyla hazırlanan homojenize edilmiş karışımdan, 10^{-6} 'ya kadar desimal dilüsyonlar hazırlandı. Bunu takiben hazırlanan dilüsyonlardan 0,1 ml alınarak, yayma plak yöntemine göre Baird Parker Agar'a (Oxoid, CM0275, Supplement Oxoid CM 0054) ekimler yapılarak, petriler 35 °C'de 24-48 saat inkübe edildi. Besiyerinde üreyen gri-siyah renkte, parlak, konveks ve lesitinaz pozitif tipik koloniler ile atipik kolonilerden beş tane seçilerek, EDTA koagulaz plazma (Remel, R21060) ile tüpte koagulaz testi uygulandı. Yapılan koagulaz testi sonucu pozitif olan kolonilere, katalaz testi, DNase aktivitesi, Beta-hemoliz ve mannitol fermentasyon (anaerob) testleri uygulandı. Bu testlerin sonucunda tüm test sonuçları pozitif olan suşlar, fenotipik olarak *S. aureus* olarak kabul edilmiştir (Anon, 2003b). Baird-Parker agarda tipik (lesitinaz pozitif) *S. aureus* suşlarının görünümü Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Baird-Parker Agar’da tipik *S. aureus* suşlarının görünümü.

2.2.2.2. Tüpte Koagulaz Testi

Koagulaz testi için seçilecek koloniler Brain Heart Infusion Broth’a (Oxoid, CM0225) inokule edilerek 37 °C’de 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyondan çıktıktan sonra Thermo Scientific™ Remel Coagulase Plasma (R21060)’nın belirttiği direktiflere göre tüpte koagulaz testi yapıldı. İlk önce plazma beş ml steril distile su ile sulandırıldı ve tüplere 0,5 ml dağıtıldı. Daha sonra plazmanın üstüne Brain Heart Infusion Broth’da zenginleşen sıvıdan 0,5 ml ilave edildi. Tüpler aerob koşullarda 37 °C’de inkübasyona bırakıldı. İlk dört saat boyunca, 30 dakika aralıklarla tüpler çalkalanmadan eğik tutularak pıhtılaşmanın varlığı gözlemlendi. Kontrollerin ardından pıhtı görülmeyen ya da pıhtı oranı az olan tüpler tekrar 37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılarakıp tekrar kontrol edildi. Pıhtılaşma oranları 1+, 2+, 3+ ve 4+ olarak değerlendirilip, 3+ ve 4+ olarak değerlendirilen tüpler koagulaz testi pozitif olarak kabul edildi (Baumgart, 1997). Şekil 2.3’de tüpte koagulaz testine göre pozitif örneğin görüntüsü verilmiştir.



Şekil 2.3. Tüpte koagulaz testi pozitif örneğin görünümü.

2.2.2.3. Katalaz Testi

Katalaz testi, katalaz negatif olan streptokokları katalaz pozitif olan stafilokoklardan ayırt etmede kullanılan bir testtir. Bu test için şüpheli koloni lam üzerine steril öze yardımıyla konuldu. Kültür üzerine bir damla % 3'lük H_2O_2 ilave edildi. Hava kabarcıklarının varlığı bakteride katalaz enziminin göstergesi olarak kabul edildi (Procop ve ark., 2017). Tüpte Koagulaz Testi Pozitif Örneğin Görünümü Şekil 2.4'de verilmiştir.



Şekil 2.4. Katalaz testinde pozitif örneğin görüntüsü.

2.2.2.4. DNase Testi

Bu test DNA'yı parçalayan DNase enzimi üreten *S. aureus*'u diğer stafilokoklardan ayırmak için yapılmaktadır. Bu enzimin varlığını saptamak için DNA içeren DNase agar kullanılmaktadır. Bu amaçla öze yardımıyla Tryptone Soy Agar'da bulunan koloniler, yedi ml Brain Heart Infusion Broth içeren tüplere inoküle edilerek 37 °C'de 18-24 saat inkübe edildi. Broth kültürden bir öze dolusu alınarak, DNase agar içeren petrilere çizme plak yöntemiyle ekimler gerçekleştirilip 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında üreyen koloniler üzerine, besiyerinin üzerini tamamen kapatacak biçimde 1 N HCl (Merck 1.00317) asit çözeltisi ilave edildi. Reaktifin besiyerinde emilmesi için beş dakika beklendi. Kolonilerin etrafında oluşan şeffaf zonlar pozitif; opak alanlar ise negatif olarak değerlendirildi (Kateete ve ark., 2010). DNase Agar'da pozitif örneğin görüntüsü Şekil 2.5'de verilmiştir.

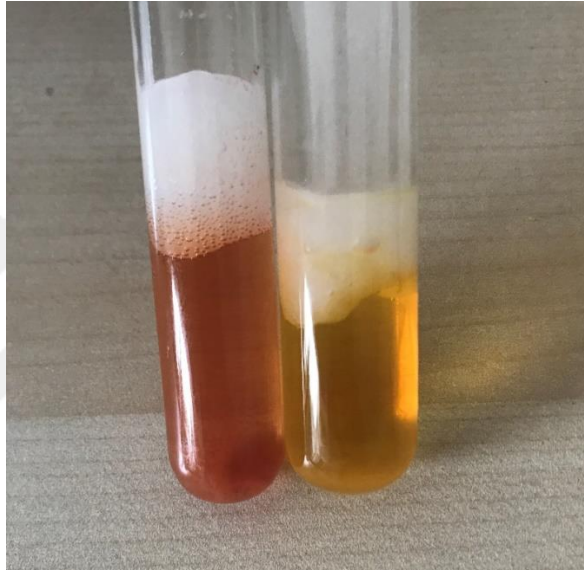


Şekil 2.5. DNase Agar'da pozitif örneğin görüntüsü.

2.2.2.5. Anaerobik Mannitol Fermentasyon Testi

Stafilokok türlerinin çoğu, mannitolü aerob koşullarda kullandığı halde anaerob şartlarda kullanamazlar. *S. aureus*'un anaerob ortamda mannitolu

kullanması, *S. aureus*'u diğer türlerden ayıran önemli özelliklerden birisidir. Şüpheli koloninin, Brain Heart Infusion Broth'da 37 °C'de 18-24 saat zenginleştirildikten sonra bir öze dolusu alınarak, mannitol ilave edilmiş Phenol Red Broth Base bulunan tüplere aktarıldı. Daha sonra anaerob ortam yaratılması için, tüplerin üzeri steril parafin ile kapatılarak, 37 °C'de beş gün inkübasyonda bekletildi. Besiyeri renginin kırmızıdan sarıya dönüşmesi pozitif olarak değerlendirildi (Tallent ve Hait, 2016). Anaerobik mannitol fermentasyon testinde pozitif ve negatif örneğin görüntüsü Şekil 2.6'da verilmiştir.



Şekil 2.6. Anaerobik mannitol fermentasyon testinde pozitif (sarı renk) ve negatif (kırmızı-turuncu Renk) örneğin görüntüsü.

2.2.2.6. β - Hemoliz Testi

Aynı şekilde test edilecek şüpheli koloninin, Brain Heart Infusion Broth'da 37°C'de 18-24 saat zenginleştirilmiş kültür sıvısından bir öze dolusu alınarak, çizme plak yöntemine göre kanlı agara ekimi gerçekleştirildi. Daha sonra 37 °C'de 1-7 gün süreyle inkübasyona bırakılan plaklarda, şeffaf hemoliz zonu bulunan suşlar β -hemoliz pozitif olarak değerlendirildi (Tham ve Hadju, 1987). % 5 Koyun Kanlı Agar'da pozitif örneğin β -Hemoliz görüntüsü Şekil 2.7'de verilmiştir.



Şekil 2.7. % 5 Koyun kanlı agar'da pozitif örneğin β -hemoliz görüntüsü.

2.2.3. *S. aureus*'un DNA İzolasyonu

DNA ekstraksiyonu amacıyla, klasik kültür tekniğinde *S. aureus* olarak belirlenen suşlar, Brain Heart Infusion Broth'da (Oxoid, CM0225) zenginleştirilerek (37 °C'de 18-24 saat) inkübe edildi. İnkübasyondan sonra DNeasy Blood Tissue-Kit (Qiagen, 69504) ile üretici firma talimatlarına göre suşların DNA izolasyonları yapılmıştır. Buna göre zenginleştirilen suşlardan 1,5 ml Eppendorf tüpü içine ilave edilip, 5000 g'de (7500 rpm) 10 dakika süreyle mikrosantrifüjde (Medline, 20150, United Kingdom) santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra süpernatant atıldı. Temiz pelet elde edilmesi için 1 ml fizyolojik tuzlu su (FTS) ilave edildi ve 5000 g'de (7500 rpm) 3 dakika santrifüj işlemi (Medline, 20150, United Kingdom) yapıldı ve FTS uzaklaştırıldı. Eppendorf tüpünde kalan peletin üzerine Tris EDTA (Sigma Aldrich 93283) çözeltisinden 180 μ l konuldu. Üzerine 7 μ l lysostaphin (Sigma L7386) eklendi. Daha sonra 37 °C'de 1 saat inkübasyonda bekletildi (Akineden ve ark., 2008). İnkübasyondan sonra 200 μ l Lysis Buffer AL Eppendorf tüplerine ilave edildi üzerine 25 μ l proteinase K eklendi ve vortekste karıştırıldı. Daha sonra eppendorf tüpleri 56 °C'de 30 dakika boyunca su banyosunda (Memmert WNB 14, Germany) bekletildi ve aralıklarla karıştırıldı. Su banyosundan çıkartıldıktan sonra 200 μ l Etanol (%96-%100) eklendi ve vortekste karıştırıldı. Eppendorf tüpündeki

toplam sıvı Mini Spin Column içerisine aktarıldı. Spin Column'a yeni bir collection tüp takıldı. 500 µl Buffer AW1 solüsyonu Mini Spin Column'a eklendi. Mini Spin Column 6000 g'de (8000 rpm) 1 dk boyunca santrifüj (Medline, 20150, United Kingdom) edildi. Santrifüj sonrasında collection tüpüne geçen sıvı boşaltıldı ve tekrar Spin Column'a collection tüp takıldı. Buffer AW2 solüsyonundan 500 µl (Etanol ilave edilmiş) Mini Spin Column'a eklendi. Santrifüj işlemi (Medline, 20150, United Kingdom) 20.000 g'de (14.000 rpm) 3 dk yapıldı. Mini Spin Column altındaki Collection tüpü çıkarıldı ve Mini Spin Column altına Eppendorf tüpü yerleştirildi. AE Elution Buffer'dan 100 µl Mini Spin Column'a eklendi ve oda sıcaklığında 1 dakika bekletildi. Daha sonra 6000 g (8000 rpm) (Medline, 20150, United Kingdom) ile santrifüjlendi. Bu işlem daha yoğun DNA elde edilmesi için bir kez daha tekrarlandı. İşlem sonunda Mini Spin Column'dan eppendorf tüpüne geçen DNA'lar PCR analizine kadar -20 °C'de saklandı.

2.2.4. *S. aureus*'un PCR ile Doğrulanması

Klasik kültür yöntemine göre *S. aureus* olarak tanımlanan suşların doğrulanması PCR analizi ile gerçekleştirildi. Bu amaçla Kearns ve ark. (1999), tarafından önerilen yöntemine göre *coa* geni, Brakstad ve ark. (1992), Monday ve Bohach (1999), tarafından belirtilen yöntemine göre de PCR analizi yapılarak *nuc* ve *16S rRNA* geni *S. aureus* doğrulandı. PCR işlemi 20 µl hacimde master miks oluşturularak yapıldı. Buna göre her bir PCR tüpüne 3 µl DNA konuldu. Steril boş bir eppendorf tüpüne her bir örnek için 12 µl ddH₂O, 0,5 µl her bir *nuc*, *16S rRNA* ve *coa* genlerinin Forward Primer'ları, 0,5 µl her bir *nuc*, *16S rRNA* ve *coa* genlerinin Reverse Primer'ları ve 4 µl 5x FIREPol® Master Mix (Solis Biodyne) ilave edilerek vortekslendi. PCR tüplerinde bulunan DNA'ların üzerine 17 µl dağıtılarak pipetasyon işlemi ile karışması sağlandı. Daha sonra PCR tüpleri Thermal Cylcler'e (Eppendorf, Mastercycler) yerleştirilerek 94 °C'de 4 dk ön denatürasyon, daha sonrasında 35 siklus olarak 94 °C'de 30 s denatürasyon, 57,5 °C'de 30 s primerlerin bağlanması (annealing), 72 °C'de 40 s uzama aşamaları ve en son 72 °C'de 10 dk son uzama aşamasıyla amplifikasyon işlemi gerçekleştirildi. PCR aşamasından sonra

elde edilen PCR ürünleri AgaroZ Jel Elektroforez uygulaması için +4 °C’de bekletildi.

2.2.5. *mecA* ve *mecC* Geninin PCR Yöntemi ile Tespiti

PCR tekniğı ile *S. aureus* olarak doğrulanmış suşlarda, metisilin direncini belirlemek için kullanılan altın standart olan *mecA* ve *mecC* genlerinin varlığı araştırıldı. Bu amaçla *mecA* geni için Mehrotra ve ark. (2000) ile Özdemir ve Keyvan (2016) tarafından belirtilen yöntemle göre, *mecC* geni için de Stegger ve ark. (2012) tarafından belirtilen yöntem ile PCR analizleri yapıldı.

Yapılan bu PCR analizlerinde *mecA* ve *mecC* geni için ayrı 20 µl hacimde master miks oluşturuldu. Buna göre her bir PCR tüpüne 3 µl DNA konuldu. Steril boş bir eppendorf tüpüne her bir örnek için 12 µl ddH₂O, 0,5 µl her bir *mecA* ve *mecC* genlerinin Forward Primer’ları, 0,5 µl her bir *mecA* ve *mecC* genlerinin Reverse Primer’ları ve 4 µl 5x FIREPol® Master Mix (Solis Biodyne, Tartu, Estonia) ilave edilerek vortekslendi. PCR tüplerinde bulunan DNA’ların üzerine 17 µl dağıtılarak, pipet yardımıyla karıştırma işlemi yapıldı. Amplifikasyon *mecA* geni için 94 °C 4 dk ön denatürasyon, 35 döngü 94 °C 30 s denatürasyon, 57,5 °C 30 s primerlerin bağlanması, 72 °C 30 s uzama ve 72 °C 10 dakika final uzaması şeklinde tamamlandı.

Yine *mecC* geni için yapılan amplifikasyon, 94 °C 5 dk ön denatürasyon ve 30 döngü 94 °C 30 s denatürasyon, 59 °C 1 dk primerlerin bağlanması, 72 °C 1 dk ve 72 °C 10 dk son zincir uzaması ile gerçekleştirildi. PCR aşamasından sonra elde edilen PCR ürünleri AgaroZ Jel Elektroforez aşamasına kadar +4 °C’de bekletildi.

2.2.6. Enterotoksin Oluşturan Genlerin PCR Yöntemi ile Tespiti

PCR ile doğrulanan *S. aureus* suşlarında *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* enterotoksin genlerinin varlığı analiz edildi. *sea*, *seb*, *sed* ve *see* için genleri için Mehrotra ve ark. (2000), *sec* geni için Johnson ve ark. (1991) tarafından bildirilen primer çiftleri ve yöntemler kullanıldı. *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see* genlerinin herbiri için ayrı 20 µl hacimde master miks oluşturuldu. Buna göre her bir PCR tüpüne 3 µl DNA konuldu. Steril boş bir eppendorf tüpüne her bir örnek için 12 µl ddH₂O, 0,5 µl her bir *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see* genlerinin Forward Primer'ları, 0,5 µl her bir *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see* genlerinin Reverse Primer'ları ve 4 µl 5x FIREPol® Master Mix (Solis Biodyne, Tartu, Estonia) ilave edilerek vortekslendi. PCR tüplerinde bulunan DNA'ların üzerine 17 µl dağıtılarak pipetasyon işlemi ile karışması sağlandı. Enterotoksin genleri için amplifikasyon sadece *sea* genini primerlerin bağlanma sıcaklığı hariç, 94 °C 4 dk ön denatürasyon ve 35 siklus 94 °C 30 s denatürasyon, 55 °C 30 s primerlerin bağlanması, 72 °C 40 s ve 72 °C 10 dk son zincir uzaması ile gerçekleştirildi. Ancak sadece *sea* geni için primerlerin bağlanma sıcaklığı 64,6 °C'de 30 s olarak ayarlandı. PCR aşamasından sonra elde edilen PCR ürünleri Agaroz Jel Elektroforez uygulaması yapılmaya kadar +4 °C'ye kaldırıldı.

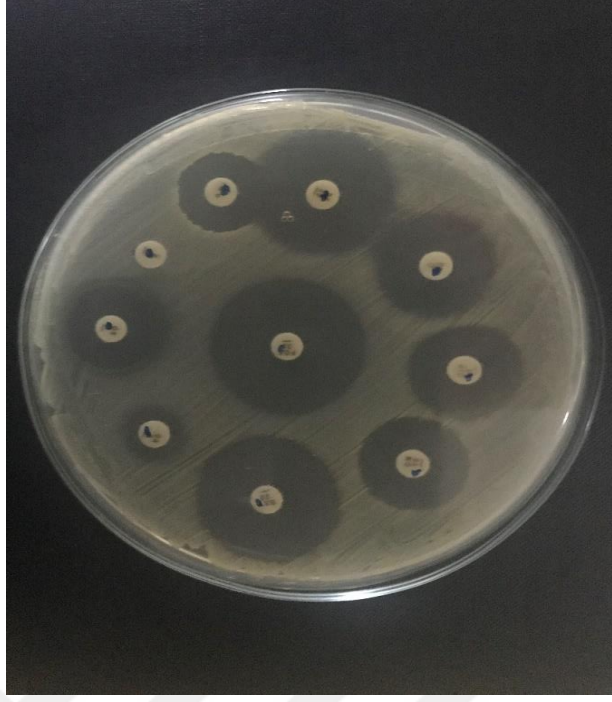
2.2.7. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi

Elde edilen bütün *S. aureus* suşlarının PCR analizleri pozitif kontrolleri ile birlikte 2 kez tekrar edildi. Amplifikasyon işlemlerinden sonra PCR ürünleri agaroz jel elektroforezi ile incelenmiştir. Daha önce 1X TBE tamponu ile % 1,5 oranında agaroz jel mikrodalga fırında ısıtılarak hazırlandı. Yaklaşık 50 °C'ye soğutulduğunda 5 µl (10 mg/ml) Ethidium Bromide (SNP Biyoteknoloji, 18S-00) ilave edildi ve köpük oluşturmaktan iyice karıştırıldı. Jel donmadan önce jel tepsisinin tarakları ve bantları yerleştirildi. Jel döküldü ve jelin katılaşması beklendi. Jel katılaştıktan sonra taraklar ve bantlar yavaşça çıkarılarak kuyucuklar elde edildi ve jel elektroforez haznesine yerleştirildi. Elektroforez haznesi jelin üzerine kapatacak kadar 1X'lik TBE solüsyonu ile dolduruldu. Soldaki ilk kuyucuğa bant aralıklarını gösteren daha

önceden hazırlanmış DNA Marker'dan 5 µl konuldu. DNA Marker'ın sağındaki ilk kuyucuğa suşlarda incelenen genin 4 µl pozitif kontrolü, onun sağındaki kuyucuğa da 4 µl negatif kontrol yerleştirildi. Daha sonra elde edilen PCR ürünleri sırayla kuyucuklara 4 µl konularak 100 volt akımda (Nyx Teknik Voltronyx - V37, Taiwan) 30 dakika süre ile elektroforez işlemi yapıldı. Elektroforez işleminden sonra spesifik DNA bantlarının incelenmesi için UV transilluminatör cihazındaki (UV Transiluminator TI2621D, Pacific Image Electronics, Taiwan) ilgili bölmeye yerleştirilip, görüntüsü alındı.

2.2.8. Antibiyotik Direncinin Tespiti

İzolatların antibiyotik direnci Mueller Hinton Agar'da agar difüzyon yöntemine göre CLSI 2016 (Clinical and Laboratory Standards Institute) tarafından bildirilen yöntemine göre yapıldı (Anon, 2016c). Bunun için test edilecek her suşa ait, Tryptone Soy Agar'da üreyen taze kolonilerden steril pamuk swap yardımıyla alınarak steril Fizyolojik Tuzlu Su (FTS, % 0,09) olan tüplere daldırıldı ve MacFarland Densitometer (Biosan DEN-1B, Latvia)'de 0,5 standardına ayarlandı. Daha sonra FTS solüsyonuna daldırılan pamuk swaplar Mueller Hinton Agara yüzeyine sürülerek bakteri inokülasyonu yapıldı. Bunu takiben petriler yaklaşık 30 dk kurutulduktan sonra her bir antibiyotik disk en az 24 mm aralıkla olacak şekilde yerleştirilip 35-37 °C'de 18-24 saat inkübasyona kaldırıldı. İnkübasyonun ardından oluşan zonların çapı ölçülerek antibiyotik dirençlilikleri değerlendirildi. Agar difüzyon yönteminde pozitif kontrol olarak *S. aureus* ATCC 25923 referans suşu baz alındı. Mueller Hinton Agar'da örneğin antibiyotiklere direncinin görüntüsü Şekil 2.8'de verilmiştir.



Şekil 2.8. Mueller Hinton Agar'da örneğin antibiyotiklere direncinin görüntüsü.

3. BULGULAR

Bu çalışmada, satış amacıyla Ankara'daki farklı hipermarketlerin et depolarına nakil edilen, toplam 150 adet kuzu karkasından sünger swap tekniği ile alınan örneklerde *S. aureus*'un varlığı, enterotoksijenik özellikleri ve antibiyotik dirençlilikleri araştırılmıştır. Alınan sünger swap örneklerinde *S. aureus*'un varlığı klasik kültür tekniğine göre yapılmış olup, daha sonra bu suşların doğrulanması ise PCR tekniği kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışmada PCR analizi sonucu *S. aureus* olarak tanımlanan suşların enterotoksijenik özellikleri ve antibiyotik dirençlilikleri araştırılmıştır.

3.1. Kuzu Karkaslarında Koagulaz Pozitif Stafilokok ve *S. aureus*'un Varlığı

Bu çalışmada, 150 kuzu karkasından alınan sünger swap örneklerinin yapılan mikrobiyolojik analizleri sonucunda, kuzu karkaslarının 46 tanesinde koagulaz pozitif stafilokok, 31 tanesinde ise *S. aureus* tespit edilmiş olup, bunlara ilişkin sonuçlar Çizelge 3.1' de gösterilmiştir.

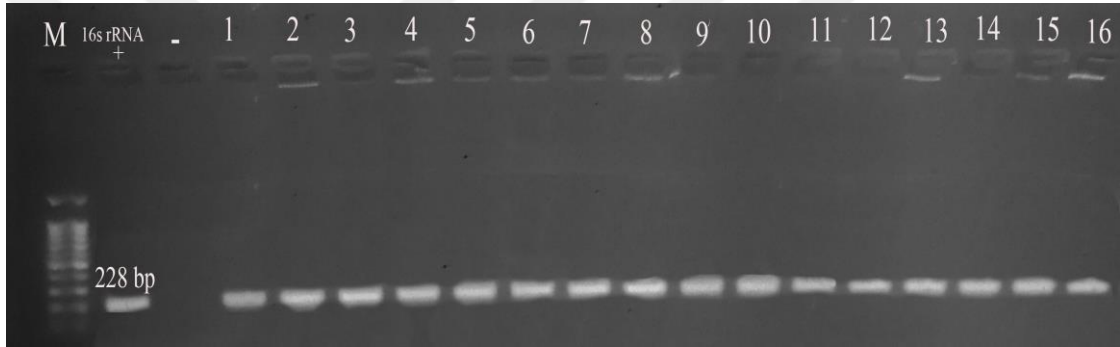
Çizelge 3.1. Kuzu karkas örneklerinde koagulaz pozitif stafilokok ve *S. aureus*'un varlığı.

Örnek	Örnek sayısı	Koagulaz pozitif stafilokok pozitif örnek sayısı (%)	<i>S. aureus</i> pozitif örnek sayısı (%)
Kuzu Karkas	150	46 (30,66)	31 (20,66)

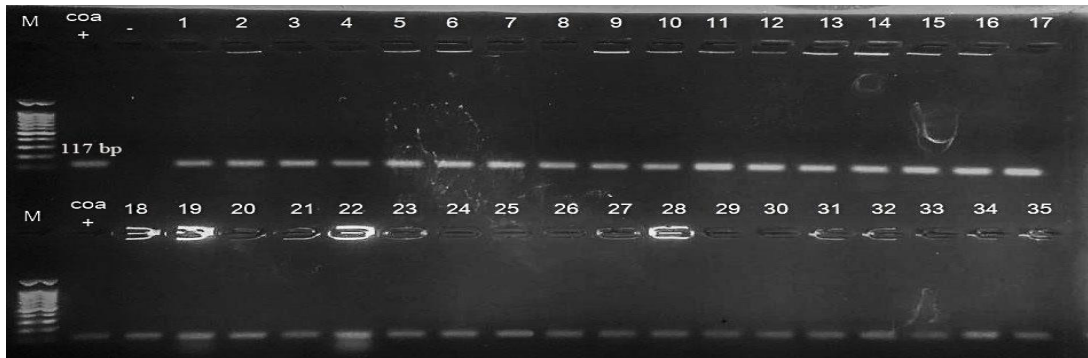
Bu çalışmada 46 kuzu karkasından izole edilen toplam 67 adet koagulaz pozitif stafilokok izolatından 42'si klasik kültür yöntemine göre *S. aureus* izolatı olarak identifiye edilmiştir.

3.2. *S. aureus*'un PCR ile Doğrulanması

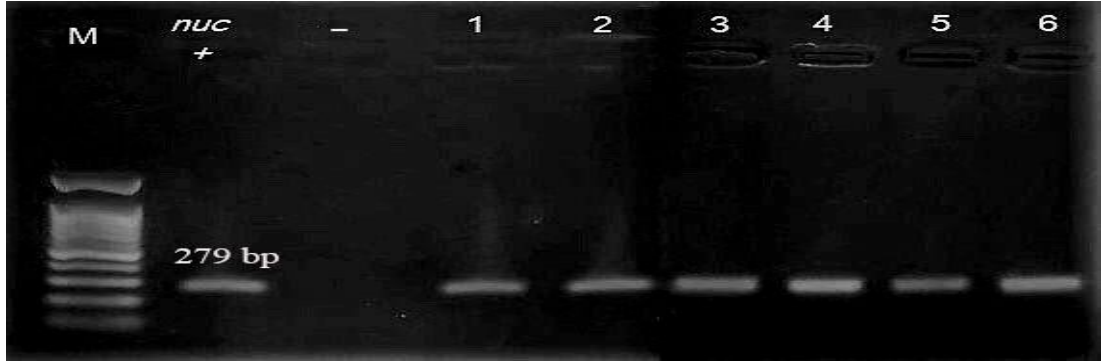
Çalışmada klasik kültür yöntemiyle *S. aureus* olarak identifiye edilen suşların moleküler olarak PCR tekniği ile doğrulanması yapılmıştır. Bu amaçla klasik kültür yöntemiyle belirlenen suşların DNA izolasyonları yapıldıktan sonra, stafilokoklara spesifik *16S rRNA* gen, *S. aureus*'a spesifik *nuc* geni ve *coa* geni kodlayan primerler kullanılarak doğrulama işlemi yapılmıştır. Yapılan işlemler sonucunda, klasik kültür tekniğine göre *S. aureus* olarak tanımlanan suşların tümünde (% 100) *16S rRNA* geni, *coa* geni, ve *nuc* geni pozitif bulunmuş olup buna ilişkin sonuçlar Şekil 3.1, Şekil 3.2 ve Şekil 3.3'de verilmiştir.



Şekil 3.1. *S. aureus* izolatlarında *16S rRNA* (228 bp) geninin elektroforez görüntüsü (M: marker, *16S rRNA* +: pozitif kontrol, -: negatif kontrol, 1-16: *16S rRNA* geni pozitif izolatlar).



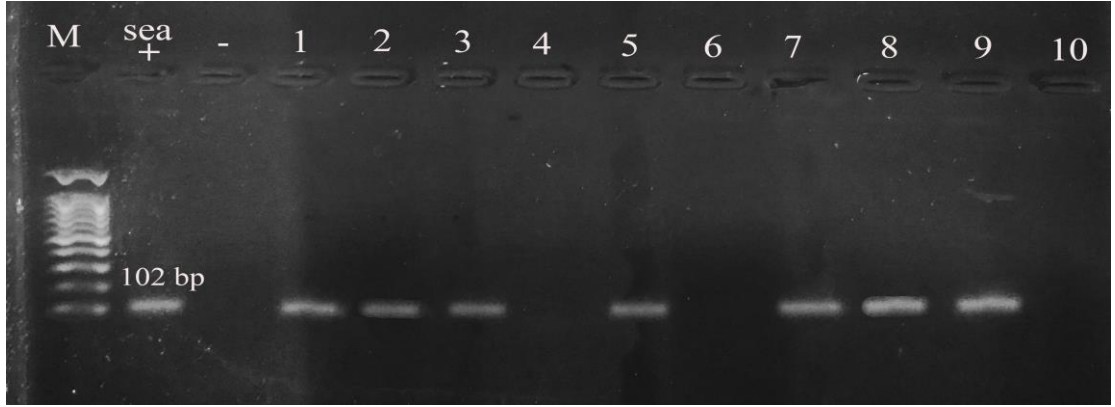
Şekil 3.2. *S. aureus* izolatlarında *coa* (117 bp) geninin elektroforez görüntüsü (M: marker, *coa* +: pozitif kontrol, -: negatif kontrol, 1-35: *coa* geni pozitif izolatlar).



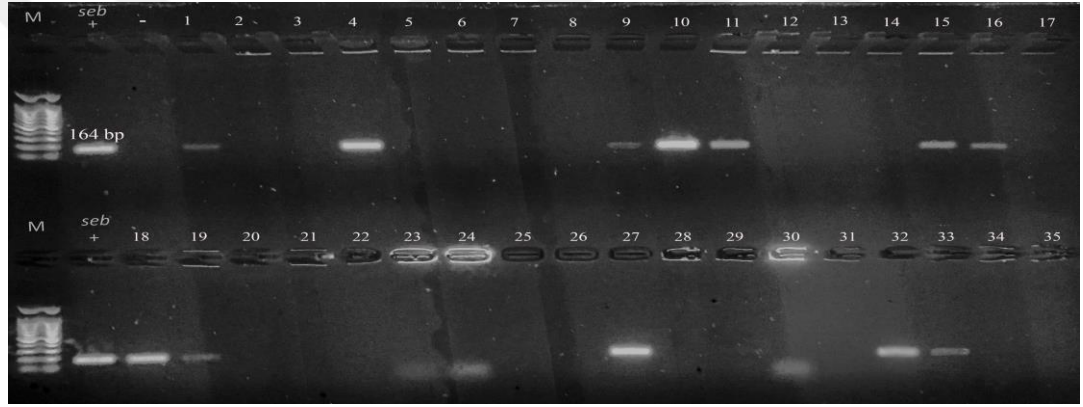
Şekil 3.3. *S. aureus* izolatlarında *nuc* (279bp) geninin elektroforez görüntüsü (M: marker, *nuc*+: pozitif kontrol, -: negatif kontrol, 1-6: *nuc* geni pozitif izolatlar).

3.3. *S. aureus*'un PCR ile Enterotoksin Genlerinin Saptanması

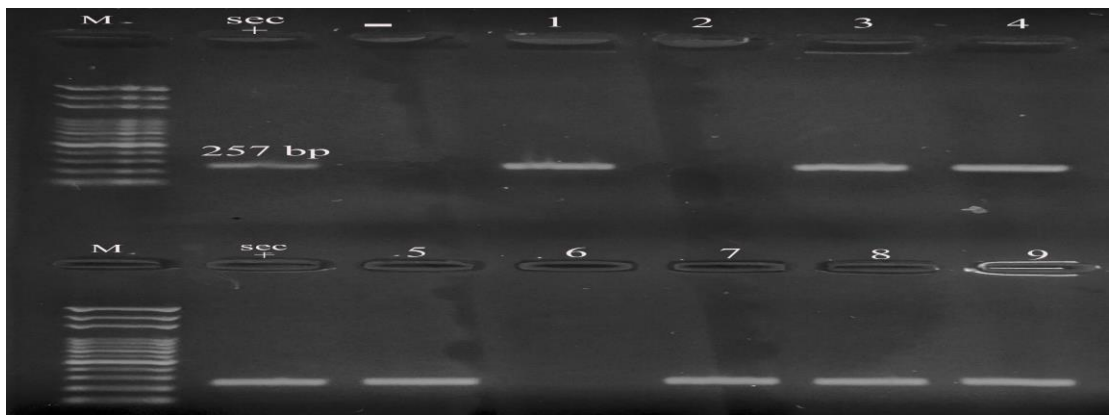
Bu çalışmada, PCR analizi ile *S. aureus* olarak doğrulanan suşların enterotoksijenik özellikleri yine PCR analizi kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada doğrulanan 42 adet suşun SE'lerinden *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* toksinleri yönünden araştırılmıştır. İncelenen suşların, enterotoksijenik özelliklerini saptamak amacıyla yapılan PCR işlemleri sonucunda, suşlardan 30'nun (% 71,4) enterotoksijenik özellikte olduğu tespit edilmiştir. Enterotoksijenik özellikte olan bu *S. aureus* suşlarından 7'sinde *sea*, 12'sinde *seb*, 7'sinde *sec*, 5'inde *sed*, 13'ünde ise *see* geni saptanmış olup, sonuçlar Çizelge 3.2'de gösterilmiştir. Aynı şekilde enterotoksijenik özellikteki bu suşlardan 18'inde sadece 1 enterotoksin genine rastlanılmış olmasına karşın 10'nunda 2 farklı enterotoksin genine, 2'sinde ise 3 farklı enterotoksin geni saptanmıştır. Enterotoksijenik özellikteki gösteren izolatların *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* genlerinin elektroforez görüntüsü Şekil 3.4, Şekil 3.5, Şekil 3.6, Şekil 3.7 ve Şekil 3.8'de gösterilmiştir.



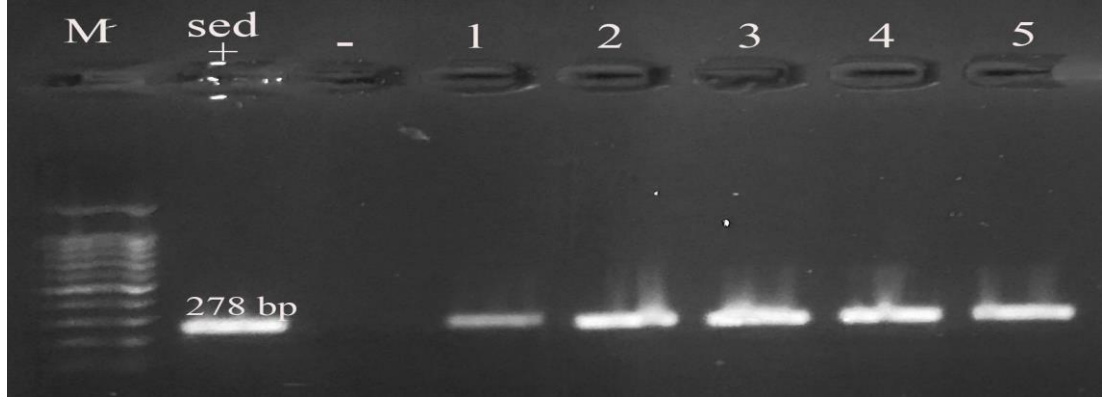
Şekil 3.4. *S. aureus* izolatlarında *sea* (102 bp) geninin elektroforez görüntüsü (M: marker, *sea* +: pozitif kontrol, -: negatif kontrol, 1, 2, 3, 5, 7, 8, 9: *sea* geni pozitif izolatlar, 4, 6, 10: *sea* geni negatif izolatlar).



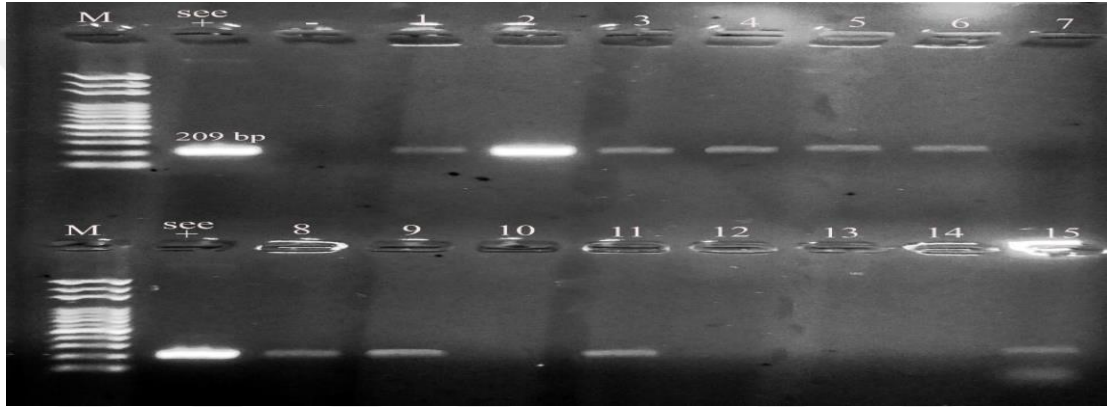
Şekil 3.5. *S. aureus* izolatlarında *seb* (164 bp) geninin elektroforez görüntüsü (M: marker, *seb* +: pozitif kontrol, -: negatif kontrol; 1, 4, 9, 10, 11, 15, 16, 18, 19, 27, 32, 33: *seb* geni pozitif izolatlar, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 12, 13, 14, 17, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 28, 29, 30, 31, 34, 35 negatif izolatlar).



Şekil 3.6. *S. aureus* izolatlarında *sec* (257 bp) geninin elektroforez görüntüsü (M: marker, *sec* +: pozitif kontrol, -: negatif kontrol, 1, 3, 4, 5, 7, 8, 9: *sec* geni pozitif izolatlar, 2, 6: *sec* geni negatif izolatlar).



Şekil 3.7. *S. aureus* izolatlarında *sed* (278 bp) geninin elektroforez görüntüsü (M: marker, *sed* +: pozitif kontrol, -: negatif kontrol, 1-5: *sed* geni pozitif izolatlar).



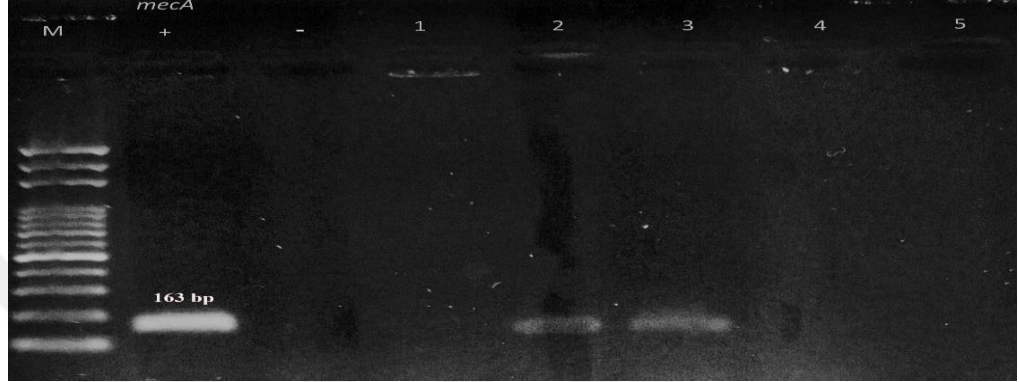
Şekil 3.8. *S. aureus* izolatlarında *see* (209 bp) geninin elektroforez görüntüsü (M: marker, *see* +: pozitif kontrol, -: negatif kontrol, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 11,15 *see* geni pozitif izolatlar, 7, 10, 12, 13, 14 *see* negatif izolatlar).

Çizelge 3.2. *S. aureus* izolatlarında enterotoksin genlerinin varlığı (n=42).

Enterotoksin gen profili	İzolat sayısı (%)
<i>sea</i>	1 (% 2,3)
<i>sea</i> + <i>sec</i>	2 (% 4,7)
<i>sea</i> + <i>seb</i> + <i>sec</i>	1 (% 2,3)
<i>sea</i> + <i>sed</i> + <i>see</i>	1 (% 2,3)
<i>sea</i> + <i>sed</i>	2 (% 4,7)
<i>seb</i>	7 (% 16,6)
<i>seb</i> + <i>sec</i>	3 (% 7,1)
<i>seb</i> + <i>see</i>	1 (% 2,3)
<i>sec</i> + <i>see</i>	1 (% 2,3)
<i>sed</i>	1 (% 2,3)
<i>sed</i> + <i>see</i>	1 (% 2,3)
<i>see</i>	9 (% 21,4)
-	12 (% 28,5)

3.4. *S. aureus*'un PCR ile *mecA* ve *mecC* Genlerinin Saptanması

Bu çalışmada, PCR analizi doğrulanan suşların *mecA* ve *mecC* geni yönünden yapılan analizleri sonucunda, incelenen 42 adet *S. aureus* suşundan 2'sinde *mecA* geni pozitif olmasına karşın, *mecC* genine ise suşların hiçbirinde rastlanılmamış olup, buna ilişkin sonuçlar Şekil 3.9'de gösterilmiştir.



Şekil 3.9. *S. aureus* izolatlarında *mecA* (163 bp) geninin elektroforez görüntüsü (M: marker *mecA* +: pozitif kontrol, -: negatif kontrol, 2 ve 3: *mecA* geni pozitif izolatlar, 1,4 ve 5: *mecA* geni negatif izolatlar).

3.5. *S. aureus* Suşlarının Antibiyotik Dirençlilik Profili

PCR tekniği ile doğrulanan 42 adet *S. aureus* suşunun 10 farklı antibiyotiğe karşı yapılan antimikrobiyal dirençliliği testleri sonucunda, 30'u Penisiline, 8'i Tetrasikline, 30'u Eritromisine, 2'si Sülfametoksazol-Trimetoprim, 5'i Oksasilin ve Sefoksitine, 1'i Kloramfenikole, 6'sı Gentamisine ve 17'si Klindamisine karşı dirençli bulunmuştur. Siprofloksasine karşı ise *S. aureus* suşlarının hiçbirisi dirençli bulunmamış olup, sonuçlar Çizelge 3. 3'de gösterilmiştir.

Bu çalışmada test edilen suşların hepsinin en az 1 antibiyotiğe karşı dirençli olduğu görülmüştür. *S. aureus* suşlarından 18'i sadece 1 antibiyotiğe, 1'i 2 antibiyotiğe, 12'si 3 antibiyotiğe, 8'i 4 antibiyotiğe, 2'i 5 antibiyotiğe, 1'i 6 antibiyotiğe karşı dirençli bulunmuştur. Ayrıca, 42 *S. aureus* suşunun 2'sinin

klindamisine, 1'inin eritromisine ve 1'inin Sülfametoksazol-trimetoprim'e karşı orta düzeyde dirençli olduğu tespit edilmiştir

Çizelge 3.3. *S. aureus* izolatlarının antimikrobiyal dirençliliği (n=42).

Antibiyotik	Dirençli suş sayısı (%)
Penisilin	30 (71,4)
Tetrasiklin	8 (19,0)
Eritromisin	30 (71,4)
Sülfametoksazol/Trimetoprim	2 (4,7)
Oksasilin	5 (11,9)
Sefoksitin	5 (11,9)
Kloramfenikol	1 (2,3)
Gentamisin	6 (14,2)
Siprofloksasin	0 (0,0)
Klindamisin	17 (40,4)

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, Ankara’da farklı hipermarketlerin depolarında satışa sunulmak amacıyla bulunan 150 adet kuzu karkasından alınan örneklerde, *S. aureus*’un varlığı, enterotoksijenik özellikleri ve antibiyotik dirençlilikleri belirlenmiştir.

Çalışmada farklı hipermarketlerden alınan 150 kuzu karkasından 46’sının (%30,66) koagülaz pozitif stafilokok ve 31’inin ise (% 20,66) *S. aureus* yönünden pozitif olduğu tespit edilmiştir. Değişik araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda, kuzu/koyun karkasları veya etlerinde *S. aureus* varlığı araştırılmış olup, bunlara ilişkin farklı sonuçlar bildirilmiştir. Bu bağlamda Pekana ve Green (2018), inceledikleri 500 sığır karkasında *S. aureus* oranını % 20,4; 300 koyun karkasında *S. aureus* oranını % 3,3 olarak belirtmişlerdir. Beyene ve ark. (2017), 103 sığır karkasından alınan swab örneklerinin 12’sinde (% 11,7) *S. auerus* izole etmişlerdir. Tsepo ve ark. (2016), dört farklı mezbahadan toplam 600 sığır karkasından alınan swab örneklerinin 159’unu (% 26,5) *S. aureus* pozitif olarak açıklamışlardır. Jaradat ve ark. (2014), Ürdün’deki mezbahalardan deve, sığır, koyun, keçi karkaslarında toplam 200 örnek almışlardır. Araştırmacılar örneklerden sadece 30’unda (% 15) *S. aureus* tespit etmişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada Nijerya’daki mezbahalardan sığır, domuz ve keçi karkaslarından 980 örnek alınmıştır. Toplanan örneklerden sadece 63’ü (% 6,4) *S. aureus* ile kontamine bulunmuştur (Odetokun ve ark., 2018). Kore’de kesimhanelerden toplanan 50 keçi karkasının % 8’inde ise *S. aureus* identifiye edilmiştir (Mechesso ve ark., 2021). Etiyopya’da yapılan bir çalışmada ise mezbahalardan alınan 400 sığır karkasının 137’sinde (% 34,3) *S. aureus* pozitif olarak bulunmuştur (Hassan ve ark., 2018). Salem ve ark. (2017), mezbahalardan alınan 25 sığır eti örneğinden 13’ünde (% 52) ve 25 koyun eti örneğinden 12’sinde (% 48) *S. aureus* bulmuşlardır. Hassan ve Moawad (2018), topladıkları üç farklı mezbahadan alınan toplam 90 sığır etinin 31’inde (% 34,4) *S. aureus* izole etmişlerdir. Keyvan ve Özdemir (2016), mezbahadan aldıkları 120 sığır karkasından % 12,6 oranında *S. aureus* saptamışlardır.

Bu çalışmada elde edilen veriler ile sadece Pekana ve Green (2018) tarafından sığırlardan izole edilen veriler benzerlik göstermektedir. Ancak çalışmadaki *S. aureus* bulgularının Beyene ve ark. (2017), Pekana ve Green (2018) tarafından koyunlardan izole edilen veriler, Jaradat ve ark. (2014), Odetokun ve ark. (2018), Mechesso ve ark. (2021), Keyvan ve Özdemir (2016) tarafından saptanan verilerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Veriler arasındaki bu farklılığın birçok faktöre bağlı olabileceği düşünülmüştür. Öncelikle bu çalışmadaki sonuçların diğer sonuçlara göre yüksek çıkmasındaki başlıca faktör muhtemelen örneklerin toplandığı yerler olarak düşünülebilir. Bu çalışmada örnekler hipermarketlerin depolarından toplanmışken; diğer çalışmalar mezbahalardan toplanan örnekler ile yapılmıştır. Dolayısıyla bu çalışmada karkaslar hipermarketlerin depolarına gelene kadar birçok aşamadan geçmektedir ve kontaminasyon riski daha da artmaktadır. Bununla birlikte Tsepo ve ark. (2016), Hassan ve ark. (2018), Salem ve ark. (2017), Hassan ve Moawad (2018) tarafından elde edilen verilerin, bu çalışmadaki verilere göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durumun nedenleri arasında kesime gelen hayvanların hijyenik durumu, kesim hyeni, kesim teknikleri, alınan örnek sayısı, örnek alma yöntemleri, örnek alma zamanı, karkas üzerinden örneklerin alındığı kısımlar, hayvanın kesim hattında kaldığı süre, personelin karkaslarla teması bu farklılıkların oluşumunda etkili olabilir.

Et ve et ürünlerinin satışa sunulduğu işletmelerde gıda güvenliğinin sağlanması için hijyen kurallarına dikkat edilmesi gerekmektedir. Et ve et ürünlerinin kasaplar ve şarküterilerin yanında; perakende satışın da artması ve kentleşme nedeniyle büyük marketlerde de satışı yapılmaktadır. Kasaplık hayvanlardan elde edilen karkaslara kıyasla perakende satılan karkaslardan elde edilen etlerde ve işlenmiş et ürünlerinde *S. aureus* ile kontaminasyon riskinin daha fazla olması muhtemeldir (Tassew ve ark., 2010). Etin perakende satışı aşamasında gıda patojenleriyle kontaminasyon düzeyinin artması bu aşamaya gelene kadar birçok faktöre maruz kalmasından kaynaklanmaktadır. Yapılan bir çalışmada Hindistan'da mezbahada ve et satışı yapılan dükkanlardaki koyun ve keçi karkaslarının mikrobiyal kontaminasyonu karşılaştırılmıştır. Et satılan dükkanlarda *S. aureus*'un ortalama prevalansı % 29 iken, mezbahalardan alınan örneklerde *S. aureus* prevalansı % 19 olarak bulunmuştur

(Bhandare ve ark., 2007). Sergelidis ve ark. (2015), mezbaha ve perakende olarak marketlerde satılan kuzu ve oğlak karkaslarından alınan örneklerde *S. aureus* varlığını incelemiştir. Kesimhaneden alınan 115 kuzu ve oğlak karkaslarının % 7'sinde, marketlerden alınan 50 kuzu ve oğlak karkaslarının % 18'inde *S. aureus* izole edilmiştir. Yapılan çalışmaların genelinde, piyasada satış aşamasında alınan örneklerde *S. aureus* prevalansının daha yüksek olduğu görülmektedir. Nitekim bu çalışmada alınan örneklerin mezbaha koşullarından ziyade, hipermarketlerin satış depolarına nakledilmiş kuzu karkaslarından alınması tercih edilmiştir. Buradaki amaç, kuzu karkaslarının kesim işlemi sonrası aşamalarındaki (nakil, muhafaza koşulları, satış yerlerindeki işlemler vb) maruz kaldıkları işlemlere bağlı olarak, oluşabilecek muhtemel kontaminasyonları göz önünde bulundurmaktır. Bu çalışmada farklı hipermarketlerden alınan 150 kuzu karkasından 46'sının (%30,66) koagülaz pozitif stafilokok ve 31'inin ise (% 20,66) *S. aureus* yönünden pozitif olduğu tespit edilmiştir. Nitekim piyasadan et olarak alınan çalışmalardan, Rahimi ve ark. (2013), 80 kuzu eti numunesinin 55'inde (% 68,8) *S. aureus* tespit etmişlerdir. Benzer şekilde, Wu ve ark. (2018), ise yaptıkları çalışmada, aldıkları koyun eti örneklerinde *S. aureus*'un % 54,9 düzeyinde bulunduğunu bildirmişlerdir. Yine Shylaja ve ark. (2018), yaptıkları çalışmada 30 adet koyun eti örneğinden 19'unun (% 63,3) *S. aureus* yönünden pozitif olduğunu belirtmişlerdir. Raji ve ark. (2016), 24 kuzu eti örneğinden beşinde (% 20,8), 23 sığır eti örneğinden ise üçünde (% 12,5) *S. aureus* izole etmişlerdir. Zargar ve ark. (2014), kasap ve süpermarketlerden topladıkları 20 kuzu etinin üçünde (% 15), 47 sığır etinin yedisinde (% 14,8), 89 tavuk etinin 14'ünde (% 15,7), 30 hindi etinin beşinde (% 16,6) *S. aureus* tanımlamışlardır. Kim ve ark. (2020), 1.587 sığır eti örneğinin 208'inde (% 13,1) *S. aureus* bulunduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde Gousia ve ark. (2011), topladıkları 80 koyun ve keçi eti örneklerinin 12'sinde (% 15) *S. aureus* saptamışlardır. Haghi ve ark. (2021), kasap ve restoranlardan aldıkları 22'si kuzu eti, 23'ü sığır eti ve 45'i pişmiş et olmak üzere aldıkları örnekler içerisinde, kuzu etlerinin 12'sinde (% 54,5), sığır etlerinin 9'unda (% 39,1), pişmiş et örneklerinin ise 10'nunda (% 22,2) *S. aureus* tespit etmişlerdir. Yine Irak'ta yapılan çalışmada, farklı kasaplardan toplanan 45 sığır eti örneğinin üçünde (% 6,7), 45 kuzu eti örneğinin ise ikisinde (% 4,4) *S. aureus* bulunmuştur (Khalil, 2016). Benzer şekilde Greeson ve ark. (2013), çalışmalarında yerli kuzu

etlerinin 15'inde (% 41,7) ve ithal donmuş kuzu etlerinin ise üçünde (% 8,3) *S. aureus* izole etmişlerdir. Aynı çalışmada yerli sığır eti örneklerinden sekizinde (% 22,2), ithal donmuş sığır eti örneklerinden dördünde (% 11,1) *S. aureus* bulunmuştur. Hamdan ve Masoud (2020), dört farklı kasap ve marketten toplam 20 kuzu etinin dös bölgesinden örnekler almışlar ve dördünde (% 20) *S. aureus* izole etmişlerdir. İran'da yapılan bir çalışmada farklı et satış noktalarından toplanan 100 deve eti örneğinden dördünde (% 4), 100 bufalo etinin 16'sında (% 16), 100 keçi etinin altısında (% 6), 100 sığır etinin 13'ünde (% 13), 85 koyun etinin dokuzunda (% 10,58) *S. aureus* kontaminasyonu görülmüştür (Baghbaderani ve ark., 2020). Özdemir ve Keyvan (2016), 75 sığır etinin % 14,6'sında, 75 koyun etinin % 30,6'sında, 75 tavuk etinin % 45,3'ünde *S. aureus* izole etmişlerdir. Ayaz ve ark. (2016), Türkiye'de yaptığı çalışmada 74 donmuş hindi eti, 70 tavuk eti ve 70 küp şeklinde doğranmış sığır etlerinin 30'unda (% 14) *S. aureus* varlığını tespit etmişlerdir. Irak'da yapılan bir çalışmada ise 50 donmuş sığır etinin 32'sinde (% 64), 50 taze sığır etinde ise 25'inde (% 50) *S. aureus* izole edilmiştir (Mohammed ve Alwan, 2017). Asgarpoor ve ark. (2018), İran'da yaptıkları çalışmada 23 çiğ sığır eti, 22 çiğ kuzu eti ve 45 pişmiş et olmak üzere perakende et satış mağazalarından ve restoranlarından toplam 90 örnek toplamışlardır. Araştırmacılar tüm et örneklerinin 31'inin (% 34,4) *S. aureus* varlığı yönünden pozitif bulunduğunu bildirmiş olup, çiğ kuzu etlerinde bu oranın % 54,5 düzeyinde olduğunu bildirmişlerdir. Naas ve ark. (2019), Libya'da farklı marketlerden topladıkları 15 sığır etinin üçünde (% 20) *S. aureus* tespit etmelerine karşın, koyun eti örneklerinde ise etkene rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Elbargisy ve ark. (2016), yaptıkları çalışmada Mısır'daki süpermarket ve kasaplardan alınan tüketime hazır et, taze et, dana kıyması ve sığır etinden yapılan burgerlerden alınan 300 gıda örneğinden 35'inde (% 11,7) *S. aureus* izole etmişlerdir. Guran ve Kahya (2015), yaptıkları çalışmada Diyarbakır'da perakende satılan 125 dana kıyması ve 125 kuzu kıymasında *S. aureus* varlığını araştırmışlardır. Araştırmacılar toplam 250 örneğin % 31'inde *S. aureus* izole etmişlerdir. Pozitif örneklerin 43'ü (% 34,4) kuzu kıymaları olmasına karşın, 35'i (% 28) ise dana kıymaları olmuştur. Yapılan başka bir çalışmada, Etiyopya'da kasap dükkanlarından alınan 16 sığır kıyma örneğinin altısında (% 37,5) *S. aureus* bulunduğu bildirilmiştir (Zerabruk ve ark., 2019).

Bu çalışmada kuzu karkaslarına ait elde edilen sonuçlar, değişik araştırmacıların (Hamdan ve Masoud 2020; Naas ve ark. 2019; Raji ve ark. 2016 ve Sergelidis ve ark. 2015) market ve mezbahalardan aldıkları kuzu eti ve sığır eti örneklerine ait sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Ancak farklı araştırmacıların (Asgarpoor ve ark. 2018; Bhandare ve ark. 2007; Greeson ve ark. 2013; Guran ve Kahya 2015; Haghi ve ark. 2021; Mohammed ve Alwan 2017; Özdemir ve Keyvan 2016; Rahimi ve ark. 2013; Shylaja ve ark. 2018; Wu ve ark. 2018 ve Zerabruk ve ark. 2019) yaptıkları çalışmalarda elde ettikleri bulgular, bu çalışmadaki sonuçlara göre oldukça yüksek bulunmuştur. Diğer taraftan farklı araştırmacıların (Ayaz ve ark. 2016; Baghbaderani ve ark. 2020; Elbargisy ve ark. 2016; Gousia ve ark. 2011; Greeson ve ark. 2013; Khalil, 2016; Kim ve ark. 2020; Naas ve ark. 2019 ve Zargar ve ark. 2014) topladıkları et örneklerinden elde ettikleri sonuçlar bu çalışmada kuzu karkaslarına ait elde edilen sonuçlara oranla ise düşük bulunmuştur.

Kuzu karkaslarında *S. aureus*'un bulunuşu üzerinde birçok faktörün etkili olabileceği düşünülmektedir. Kesim sırasındaki birçok faktörün varlığı kuzu karkaslarında kontaminasyonu kaçınılmaz kılmaktadır. Kuzu karkaslarında kesim işleminin deri yüzme, iç organlarının çıkarılması, postmortem muayene, karkasın yıkanması ve muhafaza koşulları karkasların kontaminasyonu için kritik aşamalardır. Özellikle kırılmamış kuzularda, deri yüzme aşamasında yapağının karkas ile doğrudan teması da önemli bir kontaminasyon yoludur. Perakende satış noktalarında bulunan et, her adımın mikrobiyal kontaminasyon riski oluşturabileceği uzun bir kesim ve nakliye zincirinden geçmektedir. Dolayısıyla başta kesim hijyeni olmak üzere, nakliye, muhafaza koşulları, personel hijyeni ve personelle temas sıklığı kuzu karkaslarının *S. aureus* ile kontaminasyonunda önemli faktörlerdir. Ayrıca *S. aureus* insanlarda ön burun bölgesi başta olmak üzere, deri ve perineum gibi bölgelerde kolonize olabilir. Bu nedenlerden dolayı gıda işletmelerinde çalışan personelin, *S. aureus* için ana rezervuar olduğu belirtilmiş olup, *S. aureus*'un gıdalara bulaşmasında gıda işletmelerinde çalışan personelin önemli rol oynadığı rapor edilmiştir (Milios ve ark., 2011, Park ve Seo, 2019 ve Ranucci ve ark., 2014). Yukarıdaki çalışmalarda rapor edilen *S. aureus* prevalansı, başta kesim ve personel hijyeni olmak üzere örneklerin farklı ülkelere ait olması, örneklem büyüklüğü ve

örneklerin toplandığı mevsimlerin farklılıklardan dolayı, bu çalışmada bildirilen sonuçlara göre daha yüksek olabilir. Kasaplarda etin nakliyesi, depolanması ve işlenmesi sırasında kontaminasyonlar artabilir. Ayrıca gıdalarda *S. aureus*'un kontaminasyon seviyesinin yüksek olması nedenleri arasında satışa sunulan yerlerde ortam sıcaklığında uzun süre kalması ve muhafaza koşullarının yetersizliğinden kaynaklanabilir. Et ve et ürünlerinin raf ömürlerinin farklı olması, toplanan örneklerin farklı olması, satış yerlerinde kullanılan kesme tahtaları, bıçakların bulaşma kaynağı olması sonuçları yükselten etkenler arasında olabilir.

S. aureus'dan başka diğer koagülaz pozitif stafilokokların da gıda kaynaklı intoksikasyonlarda rol oynamalarına bağlı olarak, farklı ülkelerdeki yasal düzenlemelerde yerlerini almışlardır. Bu çalışmada, 150 kuzu karkasının 46'sından (% 30,66) toplam 67 adet koagülaz pozitif stafilokok izole edilmiştir. Bu izolatların da 42'si (% 62,6) klasik kültür yöntemi ve PCR sonuçlarına göre *S. aureus* olarak tanımlanmıştır. Benzer şekilde Maktabi ve ark. (2021), İran'da mezbahalarda 40 adet kuzu karkasından aldıkları örneklerden, 39 adet koagülaz pozitif stafilokok izole etmişlerdir. Araştırmacılar 39 adet izolatın sadece 7'sinin (% 17,5) *S. aureus* olduğunu rapor etmişlerdir. Ruban ve ark. (2018), Hindistan'da marketlerde satılan 120 koyun eti örneğinden 86'sında koagülaz pozitif stafilokok bulunduğunu bildirerek, bu koagülaz pozitif stafilokok izolatlarından 57'sinin (% 66,2) *S. aureus* olduğunu bulmuşlardır. Normanno ve ark. (2005), 1.316 taze et örneğinin 344'ünden (% 26,1) ve 1.639 kıyma ve hamburger et örneğinin ise 512'sinde (% 31,2), Özdemir ve Keyvan (2016), topladıkları koyun eti örneklerinin % 34,6'sında koagülaz pozitif stafilokok izole etmişlerdir. Bu çalışmada, 150 kuzu karkasının 46'sından (% 30,66) 67 adet koagülaz pozitif stafilokok izole edilmiş olup, bu oran Maktabi ve ark. (2021), bildirdiği 40 kuzu karkasında 39 adet koagülaz pozitif stafilokok sayısından fazladır. Ruban ve ark. (2018), tarafından koagülaz pozitif stafilokoklardan elde edilen *S. aureus* izolat sayısı bu çalışmanın sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Bu durumun nedenleri arasında muhtemelen Maktabi ve ark. (2021), topladığı örneklerin mezbahadan; Ruban ve ark. (2018) topladığı örneklerin marketlerden olmasından kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca Normanno ve ark. (2005) ve Özdemir ve

Keyvan (2016) tarafından toplanan örneklerden elde edilen koagulaz pozitif stafilokok izolatlarının oranı, bu çalışmadaki oran ile benzer düzeydedir.

Çalışmada doğrulanan 42 adet *S.aureus* izolatı *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* genleri yönünden incelenmiştir. Buna göre izolatların enterotoksijenik özelliklerini saptamak amacıyla yapılan PCR analizleri sonucunda, izolatlardan 30'nun (% 71,4) enterotoksijenik özellikte olduğu tespit edilmiştir. Geriye kalan 12 izolatta ise enterotoksin genlerine rastlanılmamıştır. Enterotoksijenik özellikte olan bu *S. aureus* izolatlarının 7'sinde (% 23,3) *sea*, 12'sinde (% 40) *seb*, 7'sinde (% 23,3) *sec*, 5'inde (% 16,6) *sed*, 13'ünde (% 43,3) ise *see* geni saptanmıştır. Aynı şekilde enterotoksijenik özellikteki bu suşlardan, 18'inde sadece bir enterotoksin genine rastlanılmış olmasına karşın 10'nunda iki farklı enterotoksin genine, ikisinde ise üç farklı enterotoksin geni saptanmıştır. Al-Tarazi ve ark. (2009), yaptıkları çalışmada izole ettikleri 74 *S. aureus* izolatından 10'unun (% 13,5) enterotoksijenik özellikte olduğunu bildirmişlerdir. Ruban ve ark. (2018), 120 koyun eti örneğinden izole ettikleri 57 *S. aureus* izolatından 40'nın (% 70,1) en az bir ya da daha fazla enterotoksin geni taşıdığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar bu izolatlardan 29'unun *seb* geni, ikisinin ise *sed* geni taşıdığını tespit etmişler, ancak izolatlarda *sea*, *sec* ve *see* genlerine rastlanılmamıştır. Özdemir ve Keyvan (2016), toplam 225 et örneğinden identifiye ettiği 114 adet *S. aureus* izolatından 88'inin (% 77,1) enterotoksijenik özellikte olduğunu belirtmişlerdir. Bu izolatlardan 56'sında (% 63,6) *sea* geni, sekizinde (% 9) *sed* geni ve ikisinde (% 2,2) *sec* geni bulunmuştur. Zargar ve ark. (2014), çeşitli hayvan türlerine ait etlerden izole ettiği 29 *S. aureus* izolatının beşinde (%17,2) *sea* geni varlığını bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar kuzu etlerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarında ise *sea* genine rastlanılmadığını rapor etmişlerdir. Asgarpoor ve ark. (2018), çeşitli etlerden elde ettiği 31 *S. aureus* izolatının 18'inde (% 58,1) en az bir ya da daha fazla enterotoksin genine rastlamışlardır. Sığır ve kuzu izolatları arasında en yaygın SE genleri *sea* (% 38,7), ardından *see* (% 22,6), *sec* (% 16,1) ve *seb* (% 12,9) olarak bulunmuştur. Saleh ve ark. (2016), etlerden elde ettiği *S. aureus* izolatlarında *sea* ve *sed* geni bulamamışlardır. Ancak % 16,6 oranında *seb*, % 33,3 oranında *sec* ve % 50 oranında *see* geni pozitif bulunmuştur. Mebkhout ve ark. (2018), ise çalışmalarında *S. aureus* izolatlarının % 12'sinde enterotoksin genine

rastlamış olup, bunların % 9,7'sinin *seb*, % 2,4'ünde *sed* geni olduğunu belirtmişlerdir. İzolatların hiçbirinde ise *sea*, *sec* ve *see* genine rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada en fazla *see* (% 43,3) ve *seb* (% 40) enterotoksin geni saptanmıştır. Diğer çalışmalara göre saptanan enterotoksin genlerinin oranlarında benzerlikler ve farklılıklar görülse de Özdemir ve Keyvan (2016), Ruban ve ark. (2018) tarafından saptanan *S. aureus* izolatların enterotoksijenik özellik oranı benzerlik taşımaktadır. Mebkhout ve ark. (2018), Asgarpour ve ark. (2018) tarafından saptanan *S. aureus* izolatların enterotoksijenik özellik oranı bu çalışmaya göre düşük bulunmuştur. Yapılan araştırmalarda saptanan izolatlar arasında klasik enterotoksin genlerinden *see* geninin çok fazla görünmese de bu çalışmada ve Saleh ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada en fazla rastlanan gen olmuştur. Stafilocokal gıda intoksikasyonlarında en sık karşılaşılan enterotoksin türünün SEA olduğu bilinse de 2009 yılında Fransa'da SEE'ye bağlı peynir tüketiminden kaynaklanan altı stafilocokal gıda zehirlenmesinin meydana gelmiş olması da bir gerçektir (Ostyn ve ark., 2010).

Stafilocokal enterotoksinlerin genleri bakteriler arasında yatay olarak transfer olmalarını sağlayan mobil genetik elemanlar üzerinde taşınmaktadır (Haaber ve ark., 2017). Hareketli genetik elemanlarda birden fazla enterotoksin genin bulunması ve bu genetik yapıların bakteriler arasında gen aktarımından dolayı izolatlarda birden fazla enterotoksin geni ile karşılaşılabilir. Yapılan araştırmalarda görüldüğü gibi farklı ülkelerdeki çeşitli gıdalardan *S. aureus* olarak tanımlanan çoğu izolatın enterotoksijenik özellikte olduğu görülmektedir. Bu çalışmanın sonuçları ile diğer çalışmaların sonuçları arasında farklılıkların muhtemelen toplanan örneklerin farklı oluşu ve miktarları, coğrafi değişiklikler, bulaşmaların kökeni, analiz metodlarının farklı olması, bazı enterotoksin genlerinin çevresel faktörlerden etkilenmesinin neden olabileceği düşünülmektedir.

PCR tekniği ile doğrulanan 42 *S. aureus* suşunun 10 farklı antibiyotiğe karşı yapılan antimikrobiyal dirençliliği testleri sonucunda, 30'u (% 71,4) penisiline, 8'i (% 19) tetrasikline, 30'u (% 71,4) eritromisine, 2'si (% 4,7) sülfametoksazol-

trimetoprime, 5'i (% 11,9) oksasilin ve sefoksitine, 1'i (% 2,3) kloramfenikole, 6'sı (% 14,2) gentamisine ve 17'si (% 40,4) klindamisine karşı dirençli bulunmuştur. *S. aureus* suşlarının tamamı siprofloksasine karşı duyarlı olarak bulunmuştur. Bu çalışma için diğer önemli bir verinin de 42 izolatın tamamının en az bir antibiyotiğe karşı dirençli olmasıdır.

Can ve ark. (2017), çiğ süt, tavuk eti ve carra peynirinden elde ettikleri 40 *S. aureus* izolatından 39'unun en az bir antibiyotiğe karşı dirençli olduğunu bulmuşlardır. Dirençli izolatların % 2,5'u kloramfenikole, % 92,5'u ampisiline, % 30'u tetrasikline, % 2,5'u sefoksitine, % 20'si eritromisine, % 95'i penisiline, % 12,5'u ise siprofloksasine karşı dirençli bulunmuştur. Rifampin, vankomisin, oksasilin ve gentamisine karşı direnç görülmemiştir. Pu ve ark (2011), dana ve domuz eti örneklerinde saptadıkları 152 *S. aureus* izolatının % 71'ini penisiline, % 67'sini tetrasikline, % 30'unu eritromisine, % 18'ini klindamisine, % 14'ünü oksasiline, % 13'ünü siprofloksasine ve % 3'ünü gentamisine karşı dirençli olduğunu ifade etmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca izolatların tamamının trimetoprim/sulfametoksazole karşı duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Maktabi ve ark. (2021), çeşitli hayvan karkaslarından izole ettikleri 25 *S. aureus* izolatının 17'si (% 68) penisiline, üçü (% 12) oksasiline, ikisi (% 8) eritromisine, dördü (% 16) gentamisine, 14'ü (% 56) de Trimetoprim'e karşı dirençli bulmuşlardır. Sergelidis ve ark. (2015), *S. aureus* izolatlarının tamamında (% 100) penisiline, % 74'ünde tetrasikline, % 59,3'ünde klindamisine, % 51,9 eritromisine ve % 22,2 sefoksitine direnç tespit etmişlerdir.

Bu çalışma ile Can ve ark. (2017), ile Sergelidis ve ark. (2015), yaptığı çalışmada izolatların antibiyotiklere karşı dirençli olma oranı benzerlik göstermektedir. Ancak diğer çalışmalara göre test edilen antibiyotiklerin direnç seviyeleri arasında farklılıklar görülmüştür. Bu çalışma ile Can ve ark. (2017), Sergelidis ve ark. (2015), Maktabi ve ark. (2021) ve Pu ve ark (2011) arasındaki benzerlik, izolatlar arasında en yüksek direncin penisiline karşı görülmüş olmasıdır. Bunun nedeni hayvanların tedavisinde kullanılan en eski antibiyotiklerden biri olması, tedavide en fazla tercih edilen antibiyotik olması olabilir.

MRSA gibi antibiyotiğe dirençli patojenlerin neden olduğu gıda kaynaklı salgınların çoğu, kontamine hayvansal gıdaların tüketimiyle gerçekleşmektedir. Veteriner hekimlikte hayvanlarda büyüme faktörü ya da tedavi amaçlı olarak kullanılan penisilin, gentamisin, eritromisin, tetrasiklin, trimetoprim-sülfometoksazol, kloramfenikol gibi antibiyotiklerin gereksiz ve aşırı kullanımı sonucu gıda kaynaklı, antibiyotik dirençli bakterilerin oluşmasındaki başlıca faktördür. Bu tür mikroorganizmalarla kontamine olan hayvansal kökenli gıdalar, insanlarda infeksiyon için potansiyel bir araç görevi görmektedir (Benjelloun Touimi ve ark., 2020 ve Sergelidis ve Angelidis, 2017). Ayrıca yapılan çalışmaların coğrafi alanlarının farklı olması, farklı hayvanlardan örneklerin toplanması, iklim koşulları, belirli antibiyotiklerin sıklıkla tercih edilmesi, ampirik antibiyotik seçimi, vakaların incelenmemesi, geniş spektrumlu antibiyotiklerin fazla kullanımı, yetersiz hijyen koşulları, laboratuvarlarda antibiyotiklerin dirençlerini belirlemek için tercih edilen analiz yöntemleri, yapılan çalışmalarda izole edilen antibiyotik dirençli *S. aureus*'un prevalansının da değişken olmasını etkileyebilir.

Çalışmada 150 kuzu karkasından elde edilen 42 *S. aureus* suşunda metisilin direncini belirlemek amacıyla oksasilin ve sefoksitin direnci tespit edilmiştir. Buna göre *S. aureus* izolatlarının beşinde (% 11,9) sefoksitine ve beşinde (% 11,9) oksasiline karşı direnç görülmüştür. Sefoksitin direnci gösteren suşlarda oksasiline karşı direnç de görülmüştür. *S. aureus* olarak doğrulanan tüm suşlarda *mecA* ve *mecC* genlerinin varlığı araştırılmıştır. Suşların ikisinde (% 4,76) *mecA* geninin varlığı görülmesine rağmen, suşların hiçbirinde *mecC* genine rastlanılmamıştır. Ayrıca *mecA* geni görülen suşlar ile sefoksitin ve oksasiline dirençli olan suşlar farklıdır. Özdemir ve Keyvan (2016), toplam 225 et örneğinden tanımladıkları 114 adet *S. aureus* izolatından hiçbirinde *mecA* genine rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Ancak izolatların % 22,8'sinde sefoksitine, % 15,7'sinde oksasiline karşı direnç görülmüştür. Abdalrahman ve ark. (2015), tavuk ve hindi etinden izole edilen *S. aureus* izolatlarının % 30'unda sefoksitine, % 47,6'sında oksasilin direnci saptamışlardır. Ancak *mecA* geni ise dirençli izolatların sadece 12'sinde saptanmış olup, *mecC* genine rastlanılmamıştır. Pekana ve Green (2018), tarafından yapılan çalışmada koyun karkaslarından izole edilen 10 *S. aureus* izolatının hiçbirinde *mecA*

genine rastlanılmamıştır. Ancak yedi pozitif izolatta oksasilin direnci görülmüştür. Sergelidis ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada, kuzu ve oğlak karkaslarından ve burun boşluklarından elde edilen 27 izolatin altısında (% 22,2) sefoksitine karşı direnç tespit edilmiştir. Ancak bu izolatların birinde *mecA* geni pozitif olarak bulunmasına rağmen, *mecC* genine hiçbir izolatta rastlanılmamıştır. Bu MRSA izolatı mezbahadan alınan örnekten elde edilmiştir. Pereira ve ark (2009), farklı gıdalardan identifiye ettikleri 148 adet *S. aureus* izolatından 56'sını (% 38) fenotipik olarak oksasiline dirençli bulmuşlardır. Bu izolatlardan birinde (% 0,6) *mecA* geni varlığı belirtilmiştir. Zehra ve ark. (2019), yaptığı çalışmada elde ettikleri verilere göre yedi *S. aureus* izolatında (% 5,07) oksasiline dirençli *mecA* geni bulunmayan, oksasilin MIC değerleri 4-8 mg/mL arasında olduğu için BORSA olarak tanımlamışlardır. Ayrıca izolatların % 2,72'sinde *mecA* genine rastlanılmıştır.

Bu araştırmada saptanan *mecA* geni varlığı Sergelidis ve ark. (2015) ve Zehra ve ark. (2019) tarafından tespit edilen oran ile benzer, Özdemir ve Keyvan (2016), Pereira ve ark. (2009) ile Pekana ve Green (2018) tarafından belirlenen verilerden yüksek, Abdalrahman ve ark. (2015) tarafından saptanan orandan ise düşük bulunmuştur. Ayrıca Sergelidis ve ark. (2015) ve Abdalrahman ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmalarda olduğu gibi, bu çalışmada da *mecC* genine rastlanılmamıştır. Sefoksitin ve oksasilin direnci oranında Pekana ve Green (2018), Abdalrahman ve ark. (2015), Pereira ve ark. (2009), Sergelidis ve ark. (2015) tarafından elde edilen sonuçlar bu çalışmaya göre yüksek bulunmuştur. Zehra ve ark. (2019) yaptığı çalışmada oksasilin direnci oranı bu çalışmanın oksasilin direnci oranına göre düşük bulunmuştur. Bu sonuçların nedenleri arasında muhtemelen bölgesel farklılıklar, uygulanan antibiyotik seçimleri, laboratuvarındaki analizlerin farklılığı, örneklerin toplandığı ortam ve hijyen koşullarının eksikliği yer alabilir.

Metisilin direncini belirlemek amacıyla 42 *S. aureus* suşunda oksasilin ve sefoksitin direnci tespit edilmiştir. Buna göre *S. aureus* izolatlarının beşinde (% 11,9) sefoksitine ve beşinde (% 11,9) oksasiline karşı direnç görülmüştür. Sefoksitin direnci gösteren suşlarda oksasiline karşı direnç de görülmüştür. Ancak bu izolatlarda *mecA* veya *mecC* geni bulunamamıştır. İzolatlardaki bu durumun β -

laktamazın aşırı üretiminden (BORSA) ya da PBP'lerdeki nokta mutasyonlardan kaynaklanmış olabileceği bildirilmektedir (Hryniewicz ve Garbacz, 2017). Ancak Pekana ve Green (2018), *blaZ* genini de saptadığı için, bu duruma farklılık ortaya koymuştur. Fenotipik direncin genotipik temelini tam olarak anlaşılmaması, direnci tespit etmek için şu anda kullanılan fenotipik veya moleküler yöntemlerdeki eksikler nedeniyle fenotipik ve genotipik direnç arasında uyumsuzluk meydana gelebilir. Oksasiline, metisiline ve tüm laktamlara duyarlılığı/direnci test etmek için alternatif bir antibiyotik olarak önerilmiştir. Bu durum oksasiline dirençli tüm izolatların β -laktamlara direnç gösterdikleri için neden *mecA* genini taşımadığını açıklayabilir. Oksasiline tanık olunan fenotipik direnç, β -laktam antibiyotiklere membran geçirgenliğinin azalması dahil olmak üzere başka mekanizmalar yoluyla elde edilmiş olabilir. MRSA'da β -laktam direnci için alternatif ve muhtemelen çoklu mekanizmalar olduğuna dair kanıt sağlamaktadır (Pekana ve Green, 2018 ve Sergelidis ve ark., 2015). *S. aureus* olarak doğrulanan tüm suşlarda *mecA* ve *mecC* genlerinin varlığı araştırılmıştır. Suşların ikisinde (% 4,76) *mecA* geninin varlığı görülmesine rağmen, suşların hiçbirinde *mecC* genine rastlanılmamıştır. Ayrıca *mecA* geni görülen suşlarda sefoksitin ve oksasiline karşı fenotipik direnç bulunamamıştır. Bu çalışmada elde edilen iki *mecA* genine sahip ancak sefoksitin ve oksasiline direnç göstermeyen izolatlarda heterojen metisilin direnci varlığı düşünülmüştür. Heterojen dirençte *mec* gen bölgesi haricinde *fem* ve *aux* gibi kromozomal genlerin katkısı bulunmaktadır. Dirençten sorumlu regülatör genlerin mutasyonu heterojen dirence sebep olabilmektedir (Berger-Bachi ve Rohrer, 2002 ve Chambers, 1997).

Bu çalışmada izole edilen iki izolatta (% 4,76) *mecA* geni tespit edilmesine rağmen, fenotipik olarak oksasiline ve sefoksitine karşı direnç elde edilememiştir. Ancak bu izolatlardan birinde penisilin, tetrasiklin, klindamisin ve eritromisine karşı direnç gelişmiştir. Diğer izolatta ise penisilin, eritromisin ve klindamisine karşı direnç görülmüştür. Çalışmada izolatların minimum inhibisyon konsantrasyon değeri hesaplanmamıştır ancak bu izolatların OS-MRSA izolatları da olabileceği tahmin edilmektedir. Bazı çalışmalarda fenotipik olarak oksasiline duyarlı ancak genotipik olarak *mecA* genini taşıyan *S. aureus* suşlarının (OS-MRSA) varlığı bildirilmiştir.

Quijada ve ark. (2019), Avusturya Viyana Havalimanı'nda dış hat yolcularından alınan 600 gıda örneğinin bir peynir izolatında OS-MRSA suşu izole etmişlerdir. Zhang ve ark. (2020), Çin'de meydana gelen stafilokokal gıda zehirlenmesi olgularında ve perakende satılan hayvansal gıdalarda OS-MRSA prevalansını araştırmışlardır. Bu zehirlenme olgularında izole elde edilen 275 *S. aureus* izolatından sekizi (% 2,9) ve aralarında bir çiğ koyun etinin de bulunduğu perakende satılan gıdalardan elde edilen 184 *S. aureus* izolatının yedisinde (% 3,8) OS-MRSA varlığı tespit edilmiştir. Hindistan'da sığırlarda mastitise neden olan *S. aureus* suşlarında da OS-MRSA izolatlarına rastlanılmıştır. Klinik mastitis semptomları gösteren ineklerden alınan 167 süt örneğinde 39 *S. aureus* izolatı elde edilmiştir. Elde edilen 39 izolatın 19'unda (% 48,7) *mecA* geni bulunurken, *mecC* genine hiçbir izolatta rastlanılmamıştır. İzolatların hiçbirinde sefoksitin ve oksasiline karşı direnç bulunamamıştır (Mistry ve ark., 2016). Yine Çin'de yapılan bir çalışmada ithal paketlenmiş et örneğinden OS-MRSA izolatı elde edilmiştir (Luo ve ark., 2020). Pu ve ark. (2014), klinik masititisi sütlerden izole edilen 103 izolatın 49'unda (% 47,6) *mecA* tespit etmişlerdir. Bu izolatların 37'sinin ise OS-MRSA suşları olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmada bulunan *mecA* geni oranı, Zhang ve ark. (2020) tarafından belirtilen veriler ile benzer, Mistry ve ark. (2016), Pu ve ark. (2014) tarafından verilen oranlardan oldukça düşük bulunmuştur. Quijada ve ark. (2019) tarafından tespit edilen orandan, yüksek sonuç elde edilmiştir. Luo ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada izolat ve örnek sayısı verilmeden sadece bir gıda örneğinden elde edilen bir izolatın OS-MRSA olduğu ifade edilmiştir. Bunun nedenleri arasında muhtemelen çalışmalarda kullanılan örneklerin ve örnek sayılarının farklı oluşu ile coğrafi farklılıklardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

OS-MRSA izolatları dünya çapında insan ve hayvanlarda en önemli patojenlerden biri haline gelmiştir. OS-MRSA *mecA* geni taşıyan ancak oksasiline minimum inhibisyon konsantrasyon değerinin ≤ 2 µg/ml olduğu izolatlardır. Bu tür izolatların yanlış yorumlanması nedeniyle seçilecek yanlış antibiyotik tedavisi sonucu yüksek oranda yeni dirençli MRSA varyantlarının gelişimi tetiklenebilir.

Ayrıca bu durumun ihmal edilmesi, yeni oluşabilecek MRSA varyantlarının gıda yoluyla yayılma riskini artırmaktadır (Quijada ve ark., 2019). Bu yüzden MRSA'nın doğru bir şekilde tanımlanmasında fenotipik ve genotipik yöntemlerin birlikte kullanılması gerekmektedir (Pu ve ark., 2014).



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Toplumda gıda kaynaklı oluşan hastalıkların önemli bir parçası patojen bakterilerle kontamine olmuş karkaslardan elde edilen etlerin ve et ürünlerinin tüketimi ile meydana gelmektedir. Sağlıklı olarak görülen karkaslarda bu patojen mikroorganizmaların kontaminasyonunun bir kısmı mezbahalardan kaynaklanmaktadır. Tüketime sunulan çeşitli et ve et ürünlerinde enterotoksijenik *S. aureus* suşları tüketimden önce gıdada toksin oluşumu için yeterli sayıda çoğalabilmektedir. Ayrıca gıdalardaki MRSA suşlarının varlığı ve bununla birlikte çeşitli antibiyotiklere karşı dirençliliği halk sağlığı açısından yüksek risk teşkil etmektedir.

Bu tez çalışmasında kuzu karkaslarında *S. aureus*'un izolasyon ve identifikasyonu yapılmıştır. Daha sonra izolatlar PCR analizi ile doğrulanmıştır. Doğrulanmış izolatların PCR analizi ile enterotoksijenik özelliklerinin, metisilin direncine neden olan *mecA* ve *mecC* genlerinin varlığının ve antibiyotik direnç özelliklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ışığında, izole edilen *S. aureus* izolatlarından çoğunun (% 71,4) enterotoksijenik özellik taşıması, stafilokokal gıda intoksikasyonlarının görülmesi açısından önemlidir. Ayrıca elde edilen izolatların hepsinde en az antibiyotiğe karşı direnç görülmüştür. Yine elde edilen izolatların % 4,7'sinde *mecA* genine rastlanılmış olup, ayrıca sefoksitin ve oksasiline gibi antibiyotiklere karşı dirençli suşlar bulunması, gıdaların da MRSA suşlarının taşınmasında etkin rol oynayabileceğini ve insanlar arasında da yayılabileceğini gösterdiği için halk sağlığı açısından da ciddi risk oluşturmaktadır.

Antibiyotik direncinin dünya genelinde yayılmasını engellemek için farklı stratejiler uygulanmalıdır. *S. aureus*'un gıdalara kontaminasyonunun engellenmesiyle birlikte, antibiyotiklere dirençli *S. aureus* izolatlarının da insanlar arasında yayılması engellenmiş olacaktır. Dünya genelinde antibiyotik direncinin

yayılmasının engellenmesi için, antibiyotik kullanımının azaltılması gerekmektedir. Ancak tedavide kullanılacak antibiyotik seçiminden önce mutlaka genotipik ve fenotipik yöntemler birlikte kullanılarak antibiyotik direnç profili oluşturulmalıdır.

Kuzu etlerinde kontaminasyon kaynaklarının arasında kesimhanelerin önemli yer tutması nedeniyle, bu aşamada kesim hijyeni ve personel hijyenine dikkat edilmelidir. Ayrıca et satış noktalarında kullanılan aletlerin hijyenine dikkat edilmeli, personel eğitimi sağlanmalıdır. Karkasların ve karkaslardan elde edilen etlerin et satış noktalarında depolama ve muhafaza koşullarına dikkat edilmelidir. Gıda güvenliği kontrolünün sağlanması için kuzu eti üretim ve tedarik zincirindeki her aşamada etkili bir gıda güvenliği yönetim sistemi bulunmalıdır. Kuzu eti üretimini sağlayan tüm işletmelerin gereksinimlerine göre GMP, GHP ve HACCP ilkelerini farklı şekilde organize etmesi önerilmektedir. Gıda güvenliği yönetim sistemlerinin uygulanmasıyla birlikte, *S. aureus*'un halk sağlığı üzerinde meydana gelebilecek olumsuz etkilerine karşı korumada etkin bir rol oynayabileceği düşünülmektedir.

ÖZET

Kuzu Karkaslarında *Staphylococcus aureus*'un Varlığı, Enterotoksijenik Özellikleri ve Antibiyotik Dirençliliğinin Belirlenmesi

Bu çalışma, kuzu karkaslarında *Staphylococcus aureus*'un varlığı ve izolatların enterotoksijenik özellikleri ile antibiyotik dirençliliklerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla Ankara'da bulunan farklı hipermarketlerin depolarındaki 150 kuzu karkasından sünger swap tekniği ile örnekler alınmıştır. Alınan örnekler öncelikle fenotipik olarak koagülaz pozitif stafilocoklar ile *S. aureus* yönünden analiz edilmiştir. Daha sonra, fenotipik olarak *S. aureus* olarak belirlenen izolatlar PCR tekniği ile doğrulanmıştır. Doğrulan *S. aureus* izolatlarında PCR tekniği kullanılarak enterotoksin genleri ile *mecA* ve *mecC* genleri araştırılmıştır. Ayrıca izolatların 10 farklı antibiyotiğe karşı antibiyotik direnç profilleri belirlenmiştir.

Yapılan analizler sonucu 150 adet kuzu karkasından 46'sı (% 30,66) koagülaz pozitif stafilocok ve 31'i (% 20,66) *S. aureus* ile kontamine bulunmuştur. Bu çalışmada PCR tekniği ile doğrulan 42 adet *S. aureus* izolatından 30'unun (% 71,4) enterotoksijenik özellikte olduğu tespit edilmiştir. Enterotoksijenik özelliğe sahip bu *S. aureus* izolatlarının 7'sinde (% 23,3) *sea*, 12'sinde (% 40) *seb*, 7'sinde (% 23,3) *sec*, 5'inde (% 16,6) *sed*, 13'ünde (% 43,3) ise *see* geni saptanmıştır. Yine bu çalışmada 42 adet *S. aureus* izolatından hiçbirinde *mecC* geni bulunmazken, 2'sinde (% 4,7) ise *mecA* geni pozitif olarak saptanmıştır. Bu çalışmada agar difüzyon yönteminin sonucuna göre izolatların tamamı en az bir veya daha fazla antibiyotiğe karşı dirençli bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, 42 *S. aureus* izolatının 30'u (% 71,4) penisiline, 8'i (% 19) tetrasikline, 30'u (% 71,4) eritromisine, 2'si (% 4,7) sülfametoksazol-Trimetoprim, 5'i (% 11,9) oksasilin ve sefoksitine, 1'i (% 2,3) kloramfenikole, 6'sı (% 14,2) gentamisine ve 17'si (% 40,4) klindamisine karşı dirençli bulunmuştur. Siprofloksasine karşı ise *S. aureus* suşlarının tümü duyarlı bulunmuştur.

Sonuçlar enterotoksijenik *S. aureus* izolatlarının gıda intoksikasyonlarında önemli olabileceğini ortaya koymaktadır. Bu nedenle HACCP ve GMP sistemlerinin etkin bir şekilde uygulanması, halk sağlığının korunması ve hijyenik kuzu eti üretimi için kontaminasyonun önlenmesinde önemli olacaktır.

Anahtar Sözcükler: Enterotoksin, Kuzu karkas, *mecA*, PCR, *Staphylococcus aureus*.

SUMMARY

Occurrence, Enterotoxigenic Properties and Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus aureus* on Lamb Carcasses

The aim of the present study was to evaluate the occurrence, enterotoxigenic properties and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* on lamb carcasses. 150 lamb carcass samples were obtained with sponge swap technique from different hypermarkets in Ankara. Firstly, these samples were analysed phenotypically for coagulase-positive staphylococci and *S. aureus*. Then, the isolates identified as *S. aureus* were confirmed by PCR technique. Enterotoxin, *mecA* and *mecC* genes were analysed in the isolates using PCR technique. In addition, antibiotic resistance profiles of the isolates against 10 different antibiotics were determined.

According to the analyses, coagulase positive staphylococci were found in 46 of 150 lamb carcass samples (30.66%), and *S. aureus* was found in 31 (20.66 %) of them. 30 (71.4 %) of 42 *S. aureus* isolates confirmed by PCR were found to be enterotoxigenic. Of these enterotoxigenic *S. aureus* isolates, 7 (23.3 %) *sea*, 12 (40 %) *seb*, 7 (23.3 %) *sec*, 5 (16.6 %) *sed* and 13 (43.3 %) *see* genes were detected. No *mecC* gene was found in 42 *S. aureus* isolates, whereas *mecA* gene was found to be positive in 2 (4.7 %) of them. According to the results of the agar diffusion method, all of the isolates were resistant to at least one or more antibiotics. 30 (71.4 %), 8 (19.0 %), 30 (71.4 %), 2 (4.7 %), 5 (11.9 %), 1 (2.3 %), 6 (14.2 %), 17 (40.4 %) of *S. aureus* isolates were resistant to penicillin, tetracycline, erythromycin, sulphamethoxazole-trimethoprim, oxacillin and cefoxitin, chloramphenicol, gentamicin, clindamycin, respectively. All *S. aureus* isolates were susceptible to ciprofloxacin.

The results suggest that enterotoxigenic *S. aureus* isolates may be important in food intoxications. Thus, effective implementation of HACCP and GMP systems will be important in preventing the contamination for public health protection and hygienic lamb meat production.

Keywords: Enterotoxin, Lamb carcass, *mecA*, PCR, *Staphylococcus aureus*.

KAYNAKLAR

- ABDALRAHMAN LS, STANLEY A, WELLS H, FAKHR MK (2015). Isolation, virulence, and antimicrobial resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) strains from Oklahoma retail poultry meats. *Int J Environ Res Public Health*, **12**: 6148-6161.
- ABUNNA F, ABRIHAM T, GIZAW F, BEYENE T, FEYISA A, AYANA D, MAMO B, DUGUMA R (2016). *Staphylococcus*: Isolation, identification and antimicrobial resistance in dairy cattle farms, municipal abattoir and personel in and around Asella, Ethiopia. *J Vet Sci Technol*, **7(6)**: 1-7.
- ADAMS, M.R., MOSS, M.O. (2008). Bacterial Agents of Foodborne Illness. *Staphylococcus aureus*. In: Food Microbiology. 3rd Ed. Ed.: Adams, M.R., Moss, M.O., The Royal Society of Chemistry, Cambridge. p.: 252-257.
- AGUILAR JL, VARSHNEY AK, WANG X, STANFORD L, SCHARFF M, FRIES BC (2014). Detection and measurement of staphylococcal enterotoxin-like K (SEI-K) secretion by *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *J Clin Microbiol*, **52(7)**: 2536-2543.
- AKINEDEN Ö, HASSAN AA, SCHNEIDER E, USLEBER E (2008). Enterotoxigenic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from goats milk cheese. *Int J Food Microbiol*, **124(2)**: 211-216.
- ALI A, PARISI A, CONVERSANO MC, IANNACCI A, D'EMILIO F, MERCURIO V, NORMANNO G (2020). Food-borne bacteria associated with seafoods: a brief review. *J Food Qual Hazards Control*, **7(1)**: 4-10.
- ALIBAYOV B, BABA-MOUSSA L, SINA H, ZDENKOVA K, DEMNEROVA K (2014). *Staphylococcus aureus* mobile genetic elements. *Mol Biol Rep*, **41(8)**: 5005-5018.
- AL-MEBAIRIK NF, EL-KERSH TA, AL-SHEIKH YA, MARIE MAM (2016). A review of virulence factors, pathogenesis, and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Rev Med Microbiol*, **27(2)**: 50-56.
- ALPARSLAN ÖS, DEMIRBAŞ N (2019). Red meat and processed red meat consumption preferences of healthcare professionals. *J Anim Prod*, **60(2)**: 105-110.
- AL-TARAZI YH, ALBETAR MA, ALABOUDI AR (2009). Biotyping and enterotoxigenicity of *Staphylococci* isolated from fresh and frozen meat marketed in Jordan. *Food Res Int*, **42(3)**: 374-379.
- ANON (1996). USDA/FSIS: Federal Register: **61(144)**: 38931-38937.

ANON (2003a). International Standard. Microbiology of food and animal feeding stuffs carcass sampling for microbiological analysis. ISO 17604:2003 (E).

ANON (2003b). International Standart Organisation, 6888-1 (ISO). Microbiology of food and animal feedingstuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species).

ANON (2011). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. Resmi Gazete: 29.12.2011-28157. Erişim Adresi: [https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-6.htm]. Erişim Tarihi: 8/4/2021.

ANON (2013). EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). (2013). Scientific Opinion on the public health hazards to be covered by inspection of meat from sheep and goats. *EFSA Journal*, **11(6)**: 3265.

ANON (2015). European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks in 2014. *EFSA Journal*, **13(12)**: 158-159.

ANON (2016a). European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA Journal*, **14(12)**: 198-199.

ANON (2016b). Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks, United States, 2014, Annual Report. US Department of Health and Human Services, CDC, Atlanta, Georgia. p.: 1-6.

ANON (2016c). Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Sixth Informational Supplement. M100-S26 **33(1)**: 74-80.

ANON (2018a). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA Journal*, **16(12)**: 248-249. Erişim Adresi: [https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2018.5500]. Erişim Tarihi: 04/05/2021.

ANON (2018b). Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks, United States, 2015, Annual Report. US Department of Health and Human Services, CDC, Atlanta, Georgia. p.: 1-8.

ANON (2019). Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). Erişim Adresi: [https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=79&locale=tr]. Erişim Tarihi: 20/04/2021.

- ANON (2020). Kuzu eti yüksek kalite protein kaynağı. Erişim Adresi: [\[http://www.turktarim.gov.tr/Haber/423/kuzu-eti-yukse-kalite-protein-kaynagi\]](http://www.turktarim.gov.tr/Haber/423/kuzu-eti-yukse-kalite-protein-kaynagi). Erişim Tarihi: 20/05/2021.
- ANON (2021). Tarım Ürünleri Piyasaları Küçükbaş Eti. Erişim Adresi: [\[https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Piyasalar%C4%B1/2021Ocak%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Raporu/K%C3%BC%C3%A7%C3%BCkba%C5%9F%20Et i,%20Ocak%202021,Tar%C4%B1m%20%C3%BCr%C3%BCnleri%20Piyasa%20Raporu.pdf\]](https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Piyasalar%C4%B1/2021Ocak%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Raporu/K%C3%BC%C3%A7%C3%BCkba%C5%9F%20Et i,%20Ocak%202021,Tar%C4%B1m%20%C3%BCr%C3%BCnleri%20Piyasa%20Raporu.pdf). Erişim Tarihi: 20/05/2021.
- APPELBAUM PC (2007). Reduced glycopeptide susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Int J Antimicrob Agents*, **30(5)**: 398-408.
- ARGUDIN MA, ROISIN S, NIENHAUS L, DODEMONT M, DE MENDONÇA R, NONHOFF C, DEPLANO A, DENIS O (2018). Genetic diversity among *Staphylococcus aureus* isolates showing oxacillin and/or cefoxitin resistance not linked to the presence of mec genes. *Antimicrob Agents Chemother*, **62(7)**: e00091-18.
- ARVIDSON S (2006). Extracellular Enzymes. In: *Gram-Positive Pathogens*, 2nd ed. Ed.: Fischetti VA., ASM Press, Washington. p.; 478-516.
- ARVIDSON S, TEGMARK K (2001). Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol*, **291(2)**: 159-170.
- ASAO T, KUMEDA Y, KAWAI T, SHIBATA T, ODA H, HARUKI K, NAKAZAWA H KOZAKI S (2003). An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. *Epidemiol Infect*, **130(1)**: 33-40.
- ASGARPOOR D, HAGHI F, ZEIGHAMI H (2018). Frequency of Enterotoxin Producing *Staphylococcus aureus* and Toxin Genes in Raw and Cooked Meat Samples. *Infect Epidemiol Microbiol*, **4(2)**: 53-58.
- AYAZ ND, CUFAOGLU G, ORMECI E, OZ B (2016). Presence of *Staphylococcus aureus* and Shiga Toxigenic *Escherichia coli* O157: H7 in raw meat in Ağrı, Turkey. *Int J Enteric Pathog*, **4(3)**: e36523.
- BAGHBADERANI ZT, SHAKERIAN A, RAHIMI E (2020). Phenotypic and genotypic assessment of antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* bacteria isolated from retail meat. *Infect Drug Resist*, **13**: 1339-1349.
- BAIRD-PARKER AC (1963). A classification of micrococci and staphylococci based on physiological and biochemical tests. *Microbiol*, **30(3)**: 409-427.
- BAIRD-PARKER AC (1974). The basis for the present classification of staphylococci and micrococci. *Ann N Y Acad Sci*, **236(1)**: 7-14.

- BAIRD-PARKER AC (1990). The staphylococci: an introduction. *J Appl Bacteriol*, **69**: 1-8.
- BAKHTIARY F, SAYEVAND HR, REMELY M, HIPPE B, HOSSEINI H, HASLBERGER AG (2016). Evaluation of bacterial contamination sources in meat production line. *J Food Qual*, **39(6)**: 750-756.
- BALABAN N, RASOOLY A (2000). Staphylococcal enterotoxins. *Int J Food Microbiol*, **61(1)**: 1-10.
- BANO SA, HAYAT M, SAMREEN T, ASIF M, HABIBA U, UZAIR B (2020). Detection of Pathogenic Bacteria *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* sp. from Raw Milk Samples of Different Cities of Pakistan. *Nat Sci*, **12(5)**: 295-306.
- BANTAWA K, RAI K, LIMBU DS, KHANAL H (2018). Food-borne bacterial pathogens in marketed raw meat of Dharan, eastern Nepal. *BMC Research Notes*, **11(1)**: 1-5.
- BASANISI MG, NOBILI G, LA BELLA G, RUSSO R, SPANO G, NORMANNO G, LA SALANDRA G. (2016). Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from sheep and goat cheeses in southern Italy. *Small Rumin Res*, **135**: 17-19.
- BASELGA R, ALBIZU I, AMORENA B (1994). *Staphylococcus aureus* capsule and slime as virulence factors in ruminant mastitis. A review. *Vet Microbiol*, **39(3-4)**: 195-204.
- BAŞ M, ERSUN AŞ, KIVANÇ G (2006). The evaluation of food hygiene knowledge, attitudes, and practices of food handlers' in food businesses in Turkey. *Food Control*, **17(4)**: 317-322.
- BAUMGART J (1997). Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. Behr's Verlag. Hamburg.
- BAYRAKTAR B, YILDIZ D, BULUT E (2004). *Staphylococcus aureus*'un identifikasyonunda kullanılan üç metodun değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, **34**: 211-214.
- BECKER K, SKOV, RL, VON EIFF C (2015). *Staphylococcus*, *Micrococcus* and other catalase-positive cocci. In: *Manual of Clinical Microbiology*. 11th Ed. Ed.: Jorgensen, J.H., Pfaller, M.A., ASM Press, Washington, DC. p.: 354-382.
- BEHLING RG, EIFERT J, ERICKSON MC, GURTNER JB, KORNACKI JL, LINE E, RADCLIFF R, RYSER ET, STAWICK B, YAN Z (2010). Selected pathogens of concern to industrial food processors: infectious, toxigenic, toxico-infectious, selected emerging pathogenic bacteria. In: *Principles of Microbiological Troubleshooting in the Industrial Food Processing Environment*. Ed.: Kornacki, J.L., Springer, New York, NY. p.: 5-61.
- BELAY N, RASOOLY A (2002). *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin A production in an anaerobic environment. *J Food Prot*, **65(1)**: 199-204.

- BENJELLOUN TOUIMI G, BENNANI L, BERRADA S, MOUSSA B, BENNANI B (2020). Prevalence and antibiotic resistance profiles of *Staphylococcus* sp. isolated from food, food contact surfaces and food handlers in a Moroccan hospital kitchen. *Lett Appl Microbiol*, **70(4)**: 241-251.
- BENKERROUM N (2018). Staphylococcal enterotoxins and enterotoxin-like toxins with special reference to dairy products: An overview. *Crit Rev Food Sci Nutr*, **58(12)**: 1943-1970.
- BENNETT, RW, HAIT JM, TALLENT SM (2013). *Staphylococcus aureus*. In: *Guide to Foodborne Pathogens*. 2nd Ed. Ed.: Labbe, R.G., Garcia, S., John Wiley & Sons Ltd., Chichester. p.: 26-44.
- BERGDOLL MS, LEE WONG AC (2006). Staphylococcal Intoxications. In: *Foodborne Infections and Intoxications*. Ed.: Rieman, H.P., Cliver, D.O., Academic Press, Elsevier Inc., San Diego, California. p.: 523-562.
- BERGER-BÄCHI B, ROHRER S (2002). Factors influencing methicillin resistance in staphylococci. *Arch Microbiol*, **178(3)**: 165-171.
- BERUBE BJ, WARDENBURG JB (2013). *Staphylococcus aureus* α -toxin: nearly a century of intrigue. *Toxins*, **5(6)**: 1140-1166.
- BESHIRU A, IGBINOSA IH, IGBINOSA EO (2021). Characterization of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* from ready-to-eat seafood (RTES). *LWT*, **135**: 110042.
- BEYENE T, HAYISHE H, GIZAW F, BEYI AF, ABUNNA F, MAMMOSU B, AYANA D, WAKTOLE H, ABDI RD (2017). Prevalence and antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus* in dairy farms, abattoir and humans in Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Research Notes*, **10(1)**: 1-9.
- BHANDARE SG, SHERIKAR AT, PATURKAR AM, WASKAR VS, ZENDE RJ (2007). A comparison of microbial contamination on sheep/goat carcasses in a modern Indian abattoir and traditional meat shops. *Food Control*, **18(7)**: 854–858.
- BHASKAR SV (2017). Foodborne diseases—disease burden. In: *Food Safety in the 21st Century*. 1st Ed. Ed.: Gupta, R.K., Dudeja, P., Minhas, A.S., Elsevier, Oxford. p.: 1-10.
- BHUNIA AK (2018). *Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and Pathogenesis*. 2nd Ed. Springer, New York, p.: 181-192.
- BISSONG MEA, TAHNTENG BF, ATEBA CN, AKOACHERE JFTK (2020). Pathogenic potential and antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* in milk and beef from the northwest and southwest regions of Cameroon. *BioMed Res Int*, **2020**: 1-12.

- BJERKETORP J, JACOBSSON K, FRYKBERG L (2006). The von Willebrand factor-binding protein (vWbp) of *Staphylococcus aureus* is a coagulase. *FEMS Microbiol Lett*, **234(2)**: 309-314.
- BOKAREWA MI, JIN T, TARKOWSKI A (2006). *Staphylococcus aureus*: staphylokinase. *Int J Biochem Cell Biol*, **38(4)**: 504-509.
- BONAR E, MIĘDZOBRODZKI J, WŁADYKA B (2018). The staphylococcal coagulases. In: *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress*. Ed.: Savini, V., Elsevier, Cambridge. p.: 95-102.
- BOOST MV, WONG A, HO J, O'DONOGHUE M (2013). Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from retail meats in Hong Kong. *Foodborne Pathog Dis*, **10(8)**: 705-710.
- BOSWIHI SS, UDO EE (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an update on the epidemiology, treatment options and infection control. *Curr Med Res Prac*, **8(1)**: 18-24.
- BRAKSTAD OG, AASBAKK K, MAELAND JA (1992). Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the nuc gene. *J Clin Microbiol*, **30(7)**: 1654-1660.
- BROOKS GF, CARROLL KC (2007). The Staphylococci. In: *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*. 24nd Ed. Ed.: BROOKS, G.F., CARROLL, K.C., BUTEL, J.S., MORSE, S.A., MIETZNER, T.A., The McGraw-Hill Companies, New York. p.: 224-232.
- BROSNAHAN AJ, SCHLIEVERT PM (2011). Gram-positive bacterial superantigen outside-in signaling causes toxic shock syndrome. *FEBS J*, **278(23)**: 4649-4667.
- CALDERWOOD MS, DESJARDINS CA, SAKOULAS G (2014). Staphylococcal enterotoxin P predicts bacteremia in hospitalized patients colonized with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis*, **209**: 571-577.
- CAN HY, ÇELİK TH (2012). Detection of enterotoxigenic and antimicrobial resistant *S. aureus* in Turkish cheeses. *Food Control*, **24**: 100-103.
- CAN HY, ELMALI 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 Anim Resour*, **37(2)**: 175-180.
- CARPENTER CF, CHAMBERS HF (2004). Daptomycin: another novel agent for treating infections due to drug-resistant gram-positive pathogens. *Clin Infect Dis*, **38(7)**: 994-1000.

- CARRETO E, VISIELLO R, NARDINI P (2018). Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. In: *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress*. Ed.: Savini, V., Elsevier, Cambridge. p.: 225-235.
- CASTRO A, SANTOS C, MEIRELES H, SILVA J, TEIXEIRA P (2016). Food handlers as potential sources of dissemination of virulent strains of *Staphylococcus aureus* in the community. *Journal of Infection and Public Health*, **9(2)**: 153-160.
- CASTRO A, SILVA J, TEIXEIRA P (2018). *Staphylococcus aureus* a food pathogen: Virulence factors and antibiotic resistance. In: *Foodborne Diseases*. Ed.: Holban, A., Grumezescu, A., Academic Press, Elsevier, London. p.: 213-238.
- CENGİZ AT, CENGİZ SA (2004). *Staphylococcus aureus*. In: *Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji*. Ed.: Cengiz, A.T., Mısırlıgil, A., Aydın, M., Güneş Kitabevi, Ankara. p.: 343-350.
- CHAIN E, DUTHIE ES (1940). Identity of hyaluronidase and spreading factor. *Br J Exp Pathol*, **21(6)**: 324-338.
- CHAMBERS HF (1997). Methicillin Resistance in Staphylococci: Molecular and Biochemical Basis and Clinical Implications. *Clin Microbiol Rev*, **10**: 781-791.
- CHANG Q, WANG W, REGEV-YOCHAY G, LIPSITCH M, HANAGE WP (2015). Antibiotics in agriculture and the risk to human health: how worried should we be?. *Evol Appl*, **8(3)**: 240-247.
- CHAO G, BAO G, CAO Y, YAN W, WANG Y, ZHANG X, ZHOU L, WU Y (2015). Prevalence and diversity of enterotoxin genes with genetic background of *Staphylococcus aureus* isolates from different origins in China. *Int J Food Microbiol*, **211**: 142-147.
- CHAVAKIS T, PREISSNER KT, HERRMANN M (2007). The anti-inflammatory activities of *Staphylococcus aureus*. *Trends Immunol*, **28(9)**: 408-418.
- CHEN TR, CHIOU CS, TSEN HY (2004). Use of novel pcr primers specific to the genes of staphylococcal enterotoxin G, H, I for the survey of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food-poisoning cases and food samples in Taiwan. *Int J Food Microbiol*, **92**: 189-197.
- CHEUNG AL, BAYER AS, ZHANG G, GRESHAM H, XIONG YQ (2004). Regulation of virulence determinants in vitro and in vivo in *Staphylococcus aureus*. *FEMS Immunol Med Microbiol*, **40(1)**: 1-9.
- CHIEFFI D, FANELLI F, CHO GS, SCHUBERT J, BLAIOTTA G, FRANZ CAMP, BANIA J, FUSCO V (2020). Novel insights into the enterotoxigenic potential and genomic background of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk. *Food Microbiol*, **90**: 103482.

- CHMAGH AA, AL-ABBAS MJA (2019). Comparison between the coagulase (coa and vwb) genes in *Staphylococcus aureus* and other staphylococci. *Gene Rep*, **16**: 100410.
- CHONGTRAKOOL P, ITO T, MA XX, KONDO Y, TRAKULSOMBOON S, TIENSASITORN C, JAMKLANG M, CHAVALIT T, SONG JH, HIRAMATSU K (2006). Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) typing of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in 11 Asian countries: a proposal for a new nomenclature for SCCmec elements. *Antimicrob Agents Chemother*, **50(3)**: 1001-1012.
- CIUPESCU LM, AUVRAY F, NICORESCU IM, MEHEUT T, CIUPESCU V, LARDEUX AL, TANASUICA R, HENNEKINNE JA (2018). Characterization of *Staphylococcus aureus* strains and evidence for the involvement of non-classical enterotoxin genes in food poisoning outbreaks. *FEMS Microbiol Lett*, **365(13)**: fny139.
- CLARKE SR, FOSTER SJ (2006). Surface Adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Adv Microb Physiol*, **51**: 187–224.
- CLAUDITZ A, RESCH A, WIELAND KP, PESCHEL A, GÖTZ F (2006). Staphyloxanthin plays a role in the fitness of *Staphylococcus aureus* and its ability to cope with oxidative stress. *Infect Immun*, **74(8)**: 4950-4953.
- COLLINS DS, HUEY RJ (2014). Meat Hygiene Practice. In: *Grace's Meat Hygiene*. 11th Ed. Ed.: Collins, D.S., Huey R.J., John Wiley & Sons, West Sussex. p.: 159-184.
- CORTIMIGLIA CEA, BIANCHINI V, FRANCO A, CAPRIOLI A, BATTISTI A, COLOMBO L, STRADIOTTO K, VEZZOLI F, LUINI, M. (2015). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* in bulk tank milk from dairy goat farms in Northern Italy. *J Dairy Sci*, **98(4)**: 2307-2311.
- COSTA AR, BATISTAO DW, RIBAS RM, SOUSA AM, PEREIRA MO, BOTELHO CM (2013). *Staphylococcus aureus* virulence factors and disease. In: *Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them: Science, Technology and Education*. Ed.: Mendez-Vilas, A., Formatex Reseach Center, Badajoz. p.: 702-710.
- CRETENET M, EVEN S, LE LOIR Y (2011). Unveiling *Staphylococcus aureus* enterotoxin production in dairy products: a review of recent advances to face new challenges. *Dairy Sci Technol*, **91(2)**: 127-150.
- CROSBY HA, KWIECINSKI J, HORSWILL AR (2016). *Staphylococcus aureus* aggregation and coagulation mechanisms, and their function in host–pathogen interactions. *Adv Appl Microbiol*, **96**: 1-41.
- CUATRECASAS P, FUCHS S, ANFINSEN CB (1967). Catalytic properties and specificity of the extracellular nuclease of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biological Chemistry*, **242(7)**: 1541-1547.

- DACK G, GARY WE, WOOLPERT O, WIGGERS H (1930). An outbreak of food poisoning proved to be due to a yellow hemolytic *Staphylococcus*. *J Prev Med*, **4**: 167-175.
- DAI J, WU S, HUANG J, WU Q, ZHANG F, ZHANG J, ZHANG J, WANG J, DING Y, ZHANG S, YANG X, LEI T, XUE L, WU H (2019). Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from pasteurized milk in China. *Front Microbiol*, **10**: 641.
- DAS D, SAHA SS, BISHAYI B (2008). Intracellular survival of *Staphylococcus aureus*: correlating production of catalase and superoxide dismutase with levels of inflammatory cytokines. *Inflamm Res*, **57**(7): 340-349.
- DE JONG NWM, VAN KESSEL KPM, VAN STRIJP JAG (2019). Immune Evasion by *Staphylococcus aureus*. In: *Gram-Positive Pathogens*. 3rd Ed. Ed.: Fischetti, V.A., Novick, R.P., Ferretti, J.J., Portnoy, D.A., Braunstein, M., Rood, J.I., ASM Press, Washington. p.: 618-639.
- DENISON GA (1936). Epidemiology and symptomatology of *Staphylococcus* food poisoning: a report of recent outbreaks. *Am J Public Health*, **26**(12): 1168-1175.
- DEVRIESE LA, VAN DAMME LR, FAMEREE L (1972). Methicillin (cloxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis cases. *Zentralbl Veterinarmed B*, **19**(7): 598-605.
- DI CICCIO (2021). Antimicrobial-resistance of food-borne pathogens. *Antibiotics*, **10**: 372-373.
- DIVYAKOLU S, CHIKKALA R, RATNAKAR KS, SRITHARAN V (2019). Hemolysins of *Staphylococcus aureus*—An Update on Their Biology, Role in Pathogenesis and as Targets for Anti-Virulence Therapy. *Adv Infect Dis*, **9**(2): 80-104.
- DOYLE ME, HARTMANN FA, LEE WONG AC (2012). Methicillin-resistant staphylococci: implications for our food supply. *Anim Health Res Rev*, **13**(2): 157-180.
- DUFOUR D, LEUNG V, LÉVESQUE CM (2012). Bacterial biofilm: structure, function, and antimicrobial resistance. *Endod Top*, **22**: 2-16.
- DURAN-REYNALS F (1933). Studies on a certain spreading factor existing in bacteria and its significance for bacterial invasiveness. *J Exp Med*, **58**: 161-181.
- EGEGE SR, AKANI NP, NWANKWO CEI (2020). Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Ready-to-Eat Shellfish (Corbiculid heterodont) in Bayelsa State, Nigeria. *Microbiology Research Journal International*, **30**(3): 22-35.

- EID H, MOHAMED G, EL BOROLOS I (2018). Phenotypic and genotypic detection of virulence factors of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and meat products. *Suez Canal Veterinary Medical Journal*, **23(2)**: 59-79.
- ELBARGISY RM, RIZK DE, ABDEL-RHMAN SH (2016). Toxin gene profile and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical and food samples in Egypt. *Afr J Microbiol Res*, **10(13)**: 428-437.
- ENOCH DA, BYGOTT JM, DALY ML, KARAS JA (2007). Daptomycin. *J Infect*, **55(3)**: 205-213.
- ETTER D, SCHELIN J, SCHUPPLER M, JOHLER S (2020). Staphylococcal enterotoxin c—an update on sec variants, their structure and properties, and their role in foodborne intoxications. *Toxins*, **12(9)**: 584.
- EVANS JB, BRADFORD JR WL, NIVEN JR CF (1955). Comments concerning the taxonomy of the genera *Micrococcus* and *Staphylococcus*. *Int J Syst Evol Microbiol*, **5(2)**: 61-66.
- EWIDA RM, AL-HOSARY AA (2020). Prevalence of enterotoxins and other virulence genes of *Staphylococcus aureus* caused subclinical mastitis in dairy cows. *Vet World*, **13(6)**: 1193-1198.
- FANG R, CUI J, CUI T, GUO H, ONO HK, PARK CH, OKAMURA M, NAKANE A, HU DL (2019). Staphylococcal enterotoxin C is an important virulence factor for mastitis. *Toxins* **11**: 141.
- FEGAN N, JENSON I (2018). The role of meat in foodborne disease: Is there a coming revolution in risk assessment and management? *Meat Sci*, **144**: 22-29.
- FEßLER AT, LI J, KADLEC K, WANG Y, SCHWARZ S (2018). Antimicrobial resistance properties of *Staphylococcus aureus*. In: *Staphylococcus aureus*. Ed.: Fetsch, A., Academic Press, Elsevier, Amsterdam. p.: 57-85.
- FETSCH A, JOHLER S (2018). *Staphylococcus aureus* as a foodborne pathogen. *Curr Clin Microbiol*, **9**: 1-8.
- FISHER EL, OTTO M, CHEUNG GY (2018). Basis of virulence in enterotoxin-mediated staphylococcal food poisoning. *Front Microbiol*, **9**: 436.
- FLUIT AC, VISSER MR, SCHMITZ FJ (2001). Molecular detection of antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Rev*, **14(4)**: 836-871.
- FONTANA C, FAVARO M (2018). Coagulase-Positive and Coagulase-Negative Staphylococci in Human Disease. In: *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress*. Ed.: Savini, V., Elsevier, Cambridge. p.: 25-42.

- FORD L, MILLER M, CAWTHORNE A, FEARNLEY E, KIRK M (2015). Approaches to the surveillance of foodborne disease: A review of the evidence. *Foodborne Pathog Dis*, **12(12)**: 927-936.
- FOSTER TJ, HÖÖK M (1998). Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol*, **6(12)**: 484-488.
- FOSTER TJ (2002). *Staphylococcus aureus*. In: *Molecular Medical Microbiology*. Ed.; Sussman, M., Academic Press, Cambridge. p.: 839-888.
- FOSTER TJ, GEOGHEGAN JA, GANESH VK, HÖÖK M (2014). Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. *Nat Rev Microbiol*, **12(1)**: 49-62.
- FOSTER TJ, GEOGHEGAN JA (2015). *Staphylococcus aureus*. In: *Molecular Medical Microbiology*. 2nd Ed. Ed.: Tang, Y.W., Sussman, M., Liu, D., Poxton, I., Schwartzman, J., Academic Press, Boston. p.: 655-674.
- FOSTER TJ (2017). Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects. *FEMS Microbiol Rev*, **41(3)**: 430-449.
- FRIES BC, VARSHNEY AK (2013). Bacterial toxins—staphylococcal enterotoxin B. *Microbiol Spectr*, **1(2)**: 1-21.
- GALLINA S, BIANCHI DM, BELLIO A, NOGAROL C, MACORI G, ZACCARIA T, BIORCI F, CARRARO E, DECASTELLI L (2013). Staphylococcal poisoning foodborne outbreak: epidemiological investigation and strain genotyping. *J Food Prot*, **76(12)**: 2093-2098.
- GARRITY GM, BELL, JA, LILBURN TG (2004). Taxonomic outline of the prokaryotes. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd ed. Springer-Verlag, New York, NY.
- GE B, MUKHERJEE S, HSU CH, DAVIS JA, TRAN TTT, YANG Q, ABBOTT JW, AYERS SL, YOUNG SR, CRAREY ET, WOMACK NA, ZHAO S, MCDERMOTT PF (2017). MRSA and multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in US retail meats, 2010–2011. *Food Microbiol*, **62**: 289-297.
- GENIGEORGIS C, SADLER WW (1966). Effect of sodium chloride and pH on enterotoxin B production. *J Bacteriol*, **92(5)**: 1383-1387.
- GENIGEORGIS CA (1989). Present state of knowledge on staphylococcal intoxication. *Int J Food Microbiol*, **9**: 327-360.
- GHERARDI G, DI BONAVENTURA G, SAVINI V (2018). Staphylococcal taxonomy. In: *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress*. Ed.: Savini, V., Elsevier, Cambridge. p.:1-10.

- GILL CO (2007). Microbiological conditions of meats from large game animals and birds. *Meat Sci*, **77(2)**: 149-160.
- GILLASPY AF, IANDOLO JJ (2014). *Staphylococcus* Introduction. In: *Encyclopedia of Food Microbiology*. 2nd Ed. Ed.: Batt, C.A., Tortorello, M.L., Academic Press, Oxford. p.: 482-486.
- GILLET Y, ISSARTEL B, VANHEMS P, FOURNET JC, LINA G, BES M, VANDENESCH F, PIÉMONT Y, BROUSSE N, FLORET D (2002). Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet*, **359**: 753-759.
- GOUSIA P, ECONOMOU V, SAKKAS H, LEVEIDOTOU S, PAPADOPOULOU C (2011). Antimicrobial resistance of major foodborne pathogens from major meat products. *Foodborne Pathog Dis*, **8(1)**: 27-38.
- GÖTZ F, BANNERMAN T, SCHLEIFER KH (2006). The genera staphylococcus and macrococcus. In: *The Prokaryotes*. 3rd Ed. Ed.: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.H., Stackebrandt, E., Springer, New York. p.: 5-75.
- GRACE D, FETSCH A (2018). *Staphylococcus aureus*—A foodborne pathogen: Epidemiology, detection, characterization, prevention, and control: An overview. In: *Staphylococcus aureus*. Ed.: Fetsch, A., Academic Press, Elsevier, Amsterdam. p.: 3–10.
- GRAVET A, COLIN DA, KELLER D, GIRARDOT R, MONTEIL H, PRÉVOST G (1998). Characterization of a novel structural member, LukE-LukD, of the bi-component staphylococcal leucotoxins family. *FEBS Lett*, **436**: 202-208.
- GREESON K, SULIMAN GM, SAMI A, ALOWAIMER A, KOOHMARAIE M (2013). Frequency of antibiotic resistant *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Enterococcus*, and *Staphylococcus aureus* in meat in Saudi Arabia. *Afr J Microbiol Res*, **7(4)**: 309-316.
- GREMA HA, GEIDAM YA, GADZAMA GB, AMEH JA, SULEIMAN A (2015). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a review. *Adv Anim Vet Sci*, **3(2)**: 79-98.
- GRISPOLDI L, MASSETTI L, SECHI P, IULIETTO MF, CECCARELLI M, KARAMA M, POPESCU PA, PANDOLFI F, CENCI-GOGA BT (2019). Characterization of enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus* isolated from mastitic cows. *J Dairy Sci*, **102(2)**: 1059-1065.
- GRUMANN D, NUBEL U, BROKER BM (2014). *Staphylococcus aureus* toxins—their functions and genetics. *Infect Genet Evol*, **21**: 583-592.
- GUIDI F, DURANTI A, GALLINA S, NIA Y, PETRUZZELLI A, ROMANO A, TRAVAGLINI V, OLIVASTRI A, CALVARESI V, DECASTELLI L, BLASI G

- (2018). Characterization of a staphylococcal food poisoning outbreak in a workplace canteen during the post-earthquake reconstruction of Central Italy. *Toxins*, **10(12)**: 523.
- GUNDOGAN N, CITAK S, TURAN E (2006). Slime production, DNase activity and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk, pasteurised milk and ice cream samples. *Food Control* **17**: 389-392.
- GURAN HS, KAHYA S (2015). Species Diversity and Pheno-and Genotypic Antibiotic Resistance Patterns of Staphylococci Isolated from Retail Ground Meats. *J Food Sci*, **80(6)**: M1291-M1298.
- GUTIERREZ D, DELGADO S, VAZQUEZ-SANCHEZ D, MARTINEZ B, CABO ML, RODRIGUEZ A, GARCIA P (2012). Incidence of *Staphylococcus aureus* and analysis of associated bacterial communities on food industry surfaces. *Appl Environ Microbiol*, **78(24)**: 8547-8554.
- HAABER J, PENADES JR, INGMER H (2017). Transfer of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol*, **25(11)**: 893-905.
- HAAG AF, BAGNOLI F (2017). The Role of Two-Component Signal Transduction Systems in *Staphylococcus aureus* Virulence Regulation. In: *Staphylococcus aureus: Microbiology, Pathology, Immunology, Therapy and Prophylaxis*. Ed.: Bagnoli, F., Rappuoli, R., Grandi, G., Springer. p.: 145-198.
- HAAG AF, FITZGERALD JR, PENADES JR (2019). *Staphylococcus aureus* in Animals. In: *Gram-Positive Pathogens*. 3rd Ed. Ed.: Fischetti, V.A., Novick, R.P., Ferretti, J.J., Portnoy, D.A., Braunstein, M., Rood, J.I., ASM Press, Washington. p.: 731-746.
- HAGHI F, ZEIGHAMI H, HAJILOO Z, TORABI N, DERA KHSHAN S (2021). High frequency of enterotoxin encoding genes of *Staphylococcus aureus* isolated from food and clinical samples. *J Health Popul Nutr*, **40(1)**: 1-6.
- HAINES WC, HARMON LG (1973). Effect of selected lactic acid bacteria on growth of *Staphylococcus aureus* and production of enterotoxin. *Appl Microbiol*, **25**: 436-441.
- HAMDAN M, MASOUD W (2020). Characterization of Bacterial Communities in Palestinian Lamb Meat by Phenotyping and 16S rRNA Gene Sequence Analysis. *Palestine Technical University Kadoorie Research Journal*, **8(2)**: 12-22
- HARDY KJ, HAWKEY PM, GAO F, OPPENHEIM BA (2004). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the critically ill. *Br J Anaesth*, **92**: 121-130.
- HARTMAN B, TOMASZ A (1981). Altered penicillin-binding proteins in methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*, **19**: 726-735.

- HASKELL KJ, SCHRIEVER SR, FONOIMOANA KD, HAWS B, HAIR BB, WIENCLAW TM, HOLMSTEAD JG, BARBOZA AB, BERGES ET, HEATON MJ, BERGES BK (2018). Antibiotic resistance is lower in *Staphylococcus aureus* isolated from antibiotic-free raw meat as compared to conventional raw meat. *PLoS One*, **13(12)**: e0206712.
- HASSAN A, HIKO A, BOGALE K, ABERA B, TSEGAYE B (2018). Antimicrobial resistance profiles of *Staphylococcus aureus* isolates along asella municipal beef abattoir line, South eastern Ethiopia. *J Vet Sci Technol*, **9(3)**: 1-5.
- HASSAN MA, MOAWAD R (2018). Food poisoning bacteria contaminating beef at abattoir level. *Benha Veterinary Medical Journal*, **34(3)**: 120-128.
- HASTAOĞLU E, ŞEKER IT (2020). Kuzu etinin türk mutfak kültüründeki yeri (Lamb meat in Turkish culinary culture). *Journal of Tourism and Gastronomy Studies*, **8(1)**: 660-669.
- HATEM DJ, ROOIJAKKERS SHM, EKKELENKAMP MB (2017). Staphylococci and Micrococci. In: *Infectious Diseases*. 4th Ed. Ed.: Cohen, J., Powderly, W.G., Opal, S.M., Elsevier, London. p.: 1509-1522.
- HENNEKINNE JA (2018). *Staphylococcus aureus* as a Leading Cause of Foodborne Outbreaks Worldwide In: *Staphylococcus aureus*. Ed.: Fetsch, A., Academic Press, Elsevier, Amsterdam. p.: 129-146.
- HENNEKINNE JA, DE BUYSER ML, DRAGACCI S (2012). *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiol Rev*, **36(4)**: 815-836.
- HENNEKINNE JA, OSTYN A, GUILLIER F, HERBIN S, PRUFER AL, DRAGACCI S (2010). How should staphylococcal food poisoning outbreaks be characterized. *Toxins*, **2(8)**: 2106-2116.
- HODILLE E, ROSE W, DIEP BA, GOUTELLE S, LINA G, DUMITRESCU O (2017). The role of antibiotics in modulating virulence in *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev*, **30(4)**: 887-917.
- HOEKSTRA J, RUTTEN V, SOMMELING L, VAN WERVEN T, SPANINKS M, DUIM B, BENEDICTUS L, KOOP G (2018). High production of LukMF' in *Staphylococcus aureus* field strains is associated with clinical bovine mastitis. *Toxins*, **10(5)**: 200.
- HRYNIEWICZ MM, GARBACZ K (2017). Borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (BORSA)–a more common problem than expected?. *J Med Microbiol*, **66(10)**: 1367-1373.
- HU C, XIONG N, ZHANG Y, RAYNER S, CHEN S (2012). Functional characterization of lipase in the pathogenesis of *Staphylococcus aureus*. *Biochem Biophys Res Commun*, **419(4)**: 617-620.

- HU DL, OMOE K, SHIMODA Y, NAKANE A, SHINAGAWA K (2003). Induction of emetic response to staphylococcal enterotoxins in the house musk shrew (*Suncus murinus*). *Infect Immun*, **71**: 567-570.
- HU DL, CUI JC, OMOE K, SASHINAMI H, YOKOMIZO Y, SHINAGAWA K, NAKANE A (2005). A mutant of staphylococcal enterotoxin C devoid of bacterial superantigenic activity elicits Th2 immune response for protection against *Staphylococcus aureus* infection. *Infect Immun*, **73**: 174-180.
- HU DL, OMOE K, SASHINAMI H, SHINAGAWA K, NAKANE A (2009). Immunization with nontoxic mutant staphylococcal enterotoxin A, D227A, protects against enterotoxin-induced emesis in house musk shrews. *J Infect Dis*, **199**: 302-310.
- HU DL, NAKANE A (2014). Mechanisms of staphylococcal enterotoxin-induced emesis. *Eur J Pharmacol*, **722**: 95-107.
- HU DL, ONO HK, ISAYAMA S, OKADA R, OKAMURA M, LEI LC, LIU ZS, ZHANG XC, LIU MY, CUI JC, NAKANE A (2017). Biological characteristics of staphylococcal enterotoxin Q and its potential risk for food poisoning. *J Appl Microbiol*, **122(6)**: 1672-1679.
- HU DL, WANG L, FANG R, OKAMURA M, ONO HK (2018). *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. In: *Staphylococcus aureus* Ed.: Fetsch, A., Academic Press, Elsevier, Amsterdam. p.: 39-55.
- HUMMERJOHANN J, NASKOVA J, BAUMGARTNER A, GRABER HU (2014). Enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus* genotype B as a major contaminant in Swiss raw milk cheese. *J Dairy Sci*, **97(3)**: 1305-1312.
- HUSEBY M, SHI K, BROWN CK, DIGRE J, MENGISTU F, SEO KS, BOHACH GA, SCHLIEVERT PM, OHLENDORF DH, EARHART CA (2007). Structure and biological activities of beta toxin from *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, **189(23)**: 8719-8726.
- IBRAHIM HM, AMIN RA, EL-SHATER MA, HAFEZ SM (2015). Bacteriological evaluation of freshly slaughtered chicken carcasses. *Benha Veterinary Medical Journal*, **28(2)**: 74-82.
- IKEDA T, TAMATE N, YAMAGUCHI K, MAKINO S (2005). Mass outbreak of food poisoning disease caused by small amounts of staphylococcal enterotoxins A and H. *Appl Environ Microbiol*, **71**: 2793-2795.
- IMANISHI I, NICOLAS A, CAETANO ACB, DE PAULA CASTRO TL, TARTAGLIA NR, MARIUTTI R, GUÉDON E, EVEN S, BERKOVA N, ARNI RK, SEYFFERT N, AZEVEDO V, NISHIFUJI K, LE LOIR Y (2019). Exfoliative toxin E, a new *Staphylococcus aureus* virulence factor with host-specific activity. *Sci Rep*, **9(1)**: 1-12.

- JAJA IF, GREEN E, MUCHENJE V (2018). Aerobic mesophilic, coliform, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus* counts of raw meat from the formal and informal meat sectors in South Africa. *International journal of environmental research and public health*, **15(4)**: 819.
- JAKOBSEN RA, HEGGEBO R, SUNDE EB, SKJERVHEIM M (2011). *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in Norwegian raw milk cheese production. *Food Microbiol*, **28(3)**: 492-496.
- JAMALI H, PAYDAR M, RADMEHR B, ISMAIL S, DADRASNIA A (2015). Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. *Food Control*, **54**: 383-388.
- JARADAT ZW, TARAIZI YH, ABABNEH QO (2014). Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and their antibiotic resistance profiles. *Pak Vet J*, **34(1)**: 58-62.
- JARVIS AW, LAWRENCE RC, PRITCHARD GG (1975). Glucose repression of enterotoxins A, B and C and other extracellular proteins in staphylococci in batch and continuous culture. *J Gen Microbiol*, **86(1)**: 75-87.
- JAY JM, LOESSNER MJ, GOLDEN DA (2005). Staphylococcal Gastroenteritis. In: *Modern Food Microbiology*. 7th Ed. Ed.: Jay, J.M., Loessner, M.J., Golden, D.A., Springer, New York. p.: 545-566.
- JENUL C, HORSWILL AR (2018). Regulation of *Staphylococcus aureus* Virulence. In: *Gram-Positive Pathogens*. 3rd Ed. Ed.: Fischetti, V.A., Novick, R.P., Ferretti, J.J., Portnoy, D.A., Braunstein, M., Rood, J.I., ASM Press, Washington. p.: 669-686.
- JEVONS MP (1961). Celbenin-resistant staphylococci. *BMJ*, **1**: 124-125.
- JIN T, BOKAREWA M, FOSTER T, MITCHELL J, HIGGINS J, TARKOWSKI A (2004). *Staphylococcus aureus* resists human defensins by production of staphylokinase, a novel bacterial evasion mechanism. *J Immunol*, **172(2)**: 1169-1176.
- JOHLER S, WEDER D, BRIDY C, HUGUENIN MC, 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**: 2944-2948.
- JOHN JF (2004). Staphylococcal Infection: Emerging Clinical Syndromes. In: *Staphylococcus aureus: Molecular and Clinical Aspects*. Ed.: Aldeen, D.A., Hiramatsu, K., Harwood Publising Ltd, Chichester. p.: 1-30.
- JOHNSON WM, TYLER SD, EWAN EP, ASTON FE, POLLARD DR, KOZEE KR (1991). Detection of genes for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock

- syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*, **29**: 426-430.
- JONES TF, KELLUM ME, PORTER SS, BELL M, SCHAFFNER W (2002). An outbreak of community-acquired foodborne illness caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis*, **8(1)**: 82-84.
- JORGENSEN HJ, MATHISEN T, LOVSETH A, OMOE K, QVALE KS, LONCAREVIC S (2005). An outbreak of staphylococcal food poisoning caused by enterotoxin H in mashed potato made with raw milk. *FEMS Microbiol Lett*, **252**: 267-272.
- KADARIYA J, SMITH TC, THAPALIYA D (2014). *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. *BioMed Res Int*, 2014.
- KÄPPELI N, MORACH M, CORTI S, EICHER C, STEPHAN R, JOHLER S (2019). *Staphylococcus aureus* related to bovine mastitis in Switzerland: Clonal diversity, virulence gene profiles, and antimicrobial resistance of isolates collected throughout 2017. *J Dairy Sci*, **102(4)**: 3274-3281.
- KARLSSON A, ARVIDSON S (2002). Variation in extracellular protease production among clinical isolates of *Staphylococcus aureus* due to different levels of expression of the protease repressor *sarA*. *Infect Immun*, **70(8)**: 4239-4246.
- KATEETE DP, KIMANI CN, KATABAZI FA, OKENG A, OKEE MS, NANTEZA A, JOLOBA ML, NAJJUKA FC (2010). Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, **9(1)**: 1-7.
- KEARNS AM, SEIDERS PR, WHEELER J, FREEMAN R, STEWARD M (1999). Rapid detection of methicillin-resistant staphylococci by multiplex PCR. *J Hosp Infect*, **43(3)**: 33-37.
- KEYVAN E, ÖZDEMİR H (2016). Occurrence, enterotoxigenic properties and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* on beef carcasses. *Ank Univ Vet Fak Derg*, **63(1)**: 17-23.
- KHALIL ZK (2016). Isolation and identification of *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157: H7 and *Salmonella* species from raw beef and lamb meat in Baghdad by PCR. *Iraqi J Sci*, **57(3B)**: 1891-1897.
- KIM HJ, GRIFFITHS M W, FAZIL AM, LAMMERDING AM (2009). Probabilistic risk model for staphylococcal intoxication from pork-based food dishes prepared in food service establishments in Korea. *J Food Prot*, **72(9)**: 1897-1908.
- KIM JH, YIM DG (2017). Microbial levels for food contact and environmental surfaces in meat processing plants and retail shops. *Food Sci Biotechnol*, **26(1)**: 299-302.

- KIM MK (2019). *Staphylococcus aureus* toxins: from their pathogenic roles to anti-virulence therapy using natural products. *Biotechnol Bioprocess Eng*, **24**: 424-435.
- KIM YB, SEO KW, JEON HY, LIM SK, LEE YJ (2018). Characteristics of the antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat produced by different integrated broiler operations in Korea. *Poultry Sci*, **97**(3): 962-969.
- KIM YH, KIM HS, KIM S, KIM M, KWAK HS (2020). Prevalence and Characteristics of Antimicrobial-Resistant *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Retail Meat in Korea. *Food Sci Anim Res*, **40**(5): 758-771.
- KLUYTMANS J, VAN BELKUM A, VERBRUGH H (1997). Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev*, **10**(3): 505-520.
- KLUYTMANS J, VAN ROST LEEUWEN W, GOESSENS W (1995). Food-initiated outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* analyzed by phenol-and genotyping. *J Clin Microbiol*, **33**: 1121-1128.
- KOOP G, VRIELIG M, STORISTEANU DM, LOK LS, MONIE T, VAN WIGCHEREN G, RAISEN C, BA X, GLEADALL N, HADJIRIN N, TIMMERMAN AJ, WAGENAAR JA, KLUNDER HM, FITZGERALD JR, ZADOKS R, PATERSON GK, TORRES C, WALLER AS, LOEFFLER A, LONCARIC I, HOET AE, BERGSTRÖM K, DE MARTINO L, POMBA C, DE LENCASTRE H, SLAMA KB, GHARSA H, RICHARDSON EJ, CHILVERS ER, DE HAAS C, VAN KESSEL K, VAN STRIJP JAG, HARRISON EM, HOLMES MA (2017). Identification of LukPQ, a novel, equid-adapted leukocidin of *Staphylococcus aureus*. *Sci Rep*, **7**(1): 1-10.
- KOSECKA-STROJEK M, BUDA A, MIĞDZOBRODZKI J (2018). Staphylococcal Ecology and Epidemiology. In: *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress*. Ed.: Savini, V., Elsevier, Cambridge. p.: 11-24.
- KUMAR S (2016). *Staphylococcus*. In: *Essentials of Microbiology*. 1st Ed. Ed.: Kumar, S., Jaypee Brothers Medical Publishers, New Delhi. p.: 163-171.
- LAKHUNDI S, ZHANG K (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution, and epidemiology. *Clin Microbiol Rev*, **31**(4): e00020-18.
- LANDGRAF M, DESTRO MT (2013). Staphylococcal Food Poisoning. In: *Foodborne Infections and Intoxications*. 4th Ed. Ed.: Morris, J.G., Potter, M.E., Academic Press, Elsevier, London. p.: 389-400.
- LARSEN HD, AARESTRUP FM, JENSEN NE (2002). Geographical variation in the presence of genes encoding superantigenic exotoxins and beta-hemolysin among

- Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Europe and USA. *Vet Microbiol*, **85**: 61-67.
- LE HHT, DALSGAARD A, ANDERSEN PS, NGUYEN HM, TA YT, NGUYEN TT (2021). Large-scale *Staphylococcus aureus* Foodborne Disease Poisoning Outbreak among Primary School Children. *Microbiol Res*, **12(1)**: 43-52.
- LE LOIR Y, BARON F, GAUTIER M (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet Mol Res*, **2(1)**: 63-76.
- LEE H, YOON Y (2021). Etiological agents implicated in foodborne illness world wide. *Food Sci Anim Resour*, **41(1)**: 1-7.
- LEE JC, BOHACH GA (2004). Pathogenesis of Staphylococcal Disease. In: *Staphylococcus aureus: Molecular and Clinical Aspects*. Ed.: Aldeen, D. A., Hiramatsu, K., Harwood Publishing Ltd, Chichester. p.: 177-236.
- LENNOX JA, EFIUVWEVWERE BJO, EGBE JG, PETERS H, ASANYE M (2018). *Staphylococcus aureus* profile of some selected processed foods. *Asian Food Science Journal*, 1(3): 1-5.
- LENTINO JR, NARITA M, YU VL (2008). New antimicrobial agents as therapy for resistant gram-positive cocci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **27(1)**: 3-15.
- LIJNEN HR, VAN HOEF B, DE COCK F, OKADA K, UESHIMA S, MATSUO O, COLLEN D (1991). On the mechanism of fibrin-specific plasminogen activation by staphylokinase. *J Biol Chem*, **266**: 11826–11832.
- LIN Q, SUN H, YAO K, CAI J, REN Y, CHI Y (2019). The prevalence, antibiotic resistance and biofilm formation of *Staphylococcus aureus* in bulk ready-to-eat foods. *Biomolecules*, **9(10)**: 524.
- LINA G, BOHACH GA, NAIR SP, HIRAMATSU K, JOUVIN-MARCHE E, MARIUZZA R (2004). Standard nomenclature for the superantigens expressed by *Staphylococcus*. *J Infect Dis*, **189**: 2334-2336.
- LINDSAY JA (2010). Genomic variation and evolution of *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol*, **300(2-3)**: 98-103.
- LIU D (2015). Enterotoxin-Producing *Staphylococcus aureus*. In: *Molecular Medical Microbiology*. 2nd Ed. Ed.: Tang, Y.W., Sussman, M., Liu, D., Poxton, I., Schwartzman, J., Academic Press, Boston. p.: 979-995.
- LOWY FD (2003). Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *The J Clin Invest*, **111(9)**: 1265-1273.

- LUO R, ZHAO L, DU P, LUO H, REN X, LU P, CUI S, LUO Y (2020). Characterization of an oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* isolate from an imported meat product. *Microb Drug Resist*, **26(2)**, 89-93.
- MACGOWAN A, MACNAUGHTON E (2017). Antibiotic resistance. *Medicine*, **45(10)**: 622-628.
- MACORI G, BELLIO A, BIANCHI DM, GALLINA S, ADRIANO D, ZUCCON F, CHIESA F, ACUTIS PL, CASALINUOVO F, DECASTELLI L (2016). Molecular typing of *Staphylococcus aureus* isolate responsible for staphylococcal poisoning incident in homemade food. *Ital J Food Safety*, **5(2)**: 116-120.
- MAH RA, FUNG DY, MORSE SA (1967). Nutritional requirements of *Staphylococcus aureus* S-6. *Appl Microbiol*, **15(4)**: 866-870.
- MAKRIS G, WRIGHT JD, INGHAM E, HOLLAND KT (2004). The hyaluronate lyase of *Staphylococcus aureus*—a virulence factor?. *Microbiology*, **150(6)**: 2005-2013.
- MAKTABI S, ZAREI M, GHAFURI Z, ATAEE RA (2021). Biotyping and enterotoxigenicity of coagulase-positive and coagulase-negative staphylococci isolated from different raw meat. *Iran J Vet Res*, **22(2)**: 113-119.
- MARIUTTI RB, TARTAGLIA NR, SEYFFERT N, DE PAULA CASTRO TL, ARNI RK, AZEVEDO VA, LE LOIR Y, NISHIFUJI K (2017). Exfoliative Toxins of *Staphylococcus aureus*. In: *The Rise of Virulence and Antibiotic Resistance in Staphylococcus aureus*. Ed.: Enany, S., Crotty Alexander, L.E., IntechOpen: London. p.: 127-143.
- MARSHALL JH, WILMOTH GJ (1981). Pigments of *Staphylococcus aureus*, a series of triterpenoid carotenoids. *J Bacteriol*, **147(3)**: 900-913.
- MARSILIO F, DI FRANCESCO CE, DI MARTINO B (2018). Coagulase-Positive and Coagulase-Negative Staphylococci Animal Diseases. In: *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress*. Ed.: Savini, V., Elsevier, Cambridge. p.: 43-50.
- MATOS JES, HARMON RJ, LANGLOIS BE (1995). Lecithinase reaction of *Staphylococcus aureus* strains of different origin on Baird-Parker medium. *Lett Appl Microbiol*, **21(5)**: 334-335.
- MCCALLUM N, BERGER-BÄCHI B, SENN MM (2010). Regulation of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol*, **300(2)**: 118-129.
- MEBKHOUT F, MEZALI L, HAMDI TM, CANTEKIN Z, ERGUN Y, RAMDANI-BOUGUESSA N, BUTAYE P (2018). Prevalence and distribution of staphylococcal enterotoxin genes among *Staphylococcus aureus* isolates from chicken and turkey carcasses in Algeria. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, **69(4)**: 1297-1304.

- MECHESSE AF, MOON DC, RYOO GS, SONG HJ, CHUNG HY, KIM SU, CHOI JH, KIM SJ, KANG HY, NA SH, YOON SS, LIM SK (2021). Resistance profiling and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from goats in Korea. *Int J Food Microbiol*, **336**: 108901
- MEHROTRA M, WANG G, JOHNSON WM (2000). Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1 and methicillin resistance. *J Clin Microbiol*, **38(3)**: 1032-1035.
- MILIOS K, MATARAGAS M, PANTOUVAKIS A, DROSINOS EH, ZOIPOPOULOS PE (2011). Evaluation of control over the microbiological contamination of carcasses in a lamb carcass dressing process operated with or without pasteurizing treatment. *Int J Food Microbiol*, **146(2)**: 170-175.
- MISTRY H, SHARMA P, MAHATO S, SARAVANAN R, KUMAR PA, BHANDARI V (2016). Prevalence and characterization of oxacillin susceptible mecA-positive clinical isolates of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis in India. *PLoS One*, **11(9)**: e0162256
- MOHAMMED EA, RAMADAN H, ABD-ELGHANY SM, MAHROS MA (2021). Isolation and Characterization of Enterotoxigenic Coagulase-Positive and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Contaminating Beef Burger and Hot Dog Sandwiches Retailed in Mansoura City. *Mansoura Veterinary Medical Journal*, **22(1)**: 20-24.
- MOHAMMED NI, ALWAN NJ (2017). Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* strains from fresh and frozen meat in Karbala province. *Int J Sci Nat*, **8(3)**: 704-709.
- MONDAY SR, BOHACH GA (1999). Use of multiplex PCR to detect classical and newly described pyrogenic toxin genes in staphylococcal isolates. *J Clin Microbiol*, **37(10)**: 3411-3414.
- MONTVILLE TJ, MATTHEWS KR, KNIEL KE (2012). *Staphylococcus aureus*. In: Food Microbiology: An Introduction. 3rd Ed. Ed.: Montville, T.J., Matthews, K.R., Knien, K.E., ASM Press, Washington, DC. p.: 231-244.
- MOON DC, TAMANG MD, NAM HM, JEONG JH, JANG GC, JUNG SC, PARK YH, LIM SK (2015). Identification of Livestock-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates in Korea and Molecular Comparison Between Isolates from Animal Carcasses and Slaughterhouse Workers. *Foodborne Pathog Dis*, **12(4)**: 327-334.
- MORAVEJI Z, TABATABAEI M, ASKI HS, KHOSHBAKHT R (2014). Characterization of hemolysins of *Staphylococcus* strains isolated from human and bovine, southern Iran. *Iran J Vet Res*, **15(4)**: 326-330.

- MORTENSEN JE, SHRYOCK TR, KAPRAL FA (1992). Modification of bactericidal fatty acids by an enzyme of *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol*, **36**: 293-298.
- MORTON HE, COHN J (1972). Coagulase and deoxyribonuclease activities of staphylococci isolated from clinical sources. *Appl Environ Microbiol*, **23**(4): 725-733.
- MOSSEL DAA, NETTEN PV (1990). *Staphylococcus aureus* and related staphylococci in foods: ecology, proliferation, toxinogenesis, control and monitoring. *J Appl Bacteriol*, 123-145.
- MUCH H. (1908). Über eine vorstufe des fibrinfermentes in kulturen von *Staphylokokkus aureus*. *Biochem J*, **14**: 143-155.
- MUNSON SH, TREMAINE MT, BETLEY MJ, WELCH RA (1998): Identification and characterization of staphylococcal enterotoxin types G and I from *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun*, **66**: 3337-3348.
- MURRAY PR, ROSENTHAL KS, PFALLER MA (2016). *Staphylococcus* and related gram-positive cocci. In: *Medical Microbiology*. 8th Ed. Ed.: Murray, P.R., Rosenthal, K.S., Pfaller, M.A., Elsevier, Philadelphia. p.; 170-182.
- NAAS HT, EDARHOBY RA, GARBAJ AM, AZWAI SM, ABOLGHAIT SK, GAMMOUDI FT, MOAWAD AA, BARBIERI I, ELDAHAYES IM (2019). Occurrence, characterization, and antibiogram of *Staphylococcus aureus* in meat, meat products, and some seafood from Libyan retail markets. *Veterinary World*, **12**(6): 925.
- NANNINI E, MURRAY BE, ARIAS CA (2010). Resistance or decreased susceptibility to glycopeptides, daptomycin, and linezolid in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Curr Opin Pharmacol*, **10**(5): 516-521.
- NAWROTEK P, KARAKULSKA J, FIJAŁKOWSKI K (2018). The Staphylococcal Pantone-Valentine leukocidin (PVL). In: *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress*. Ed.: Savini, V., Elsevier, Cambridge. p.: 117-125.
- NORMANNO G, FIRINU A, VIRGILIO S, MULA G, DAMBROSIO A, POGGIU A, DECASTELLI L, MIONI R, SCUOTA S, BOLZONI G, DI GANNATALE E, SALINETTI AP, LA SALANDRA G, BARTOLI M, ZUCCON F, PIRINO T, SIAS S, PARISI A, QUAGLIA NC, CELANO, GV (2005). Coagulase-positive Staphylococci and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. *Int J Food Microbiol*, **98**(1): 73-79.
- NOSSAIR MA, IBRAHIM HA, KHALIFA E, YUSSEF HA (2018). *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat products and food handlers: prevalence, antimicrobial susceptibility and molecular characterization. *Life Sci J*, **15**(6): 14-21.
- ODETOKUN IA, BALLHAUSEN B, ADETUNJI VO, GHALI-MOHAMMED I, ADELOWO MT, ADETUNJI SA, FETSCH A (2018). *Staphylococcus aureus* in two

municipal abattoirs in Nigeria: Risk perception, spread and public health implications. *Vet Microbiol*, **216**: 52-59.

ODETOKUN IA, BOROKINNI BO, BAKARE SD, GHALI-MOHAMMED I, ALHAJI NB (2021). A cross-sectional survey of consumers' risk perception and hygiene of retail meat: a nigerian study. *Food Prot Trends*, **41(3)**: 274-283.

OGSTON A (1881). Report upon microorganisms in surgical diseases. *BMJ*, **1**: 369-375.

OLIVEIRA D, BORGES A, SIMOES M (2018). *Staphylococcus aureus* toxins and their molecular activity in infectious diseases. *Toxins*, **10(6)**: 252.

OMOE K, HU DL, TAKAHASHI-OMOE H, NAKANE A, SHINAGAWA K (2003). Identification and characterization of a new staphylococcal enterotoxin-related putative toxin encoded by two kinds of plasmids. *Infect Immun*, **71(10)**: 6088-6094.

OMOE K, IMANISHI KI, HU DL, KATO H, FUGANE Y, ABE Y, SHINAGAWA K (2005). Characterization of novel staphylococcal enterotoxin-like toxin type P. *Infection and immunity*, **73(9)**, 5540-5546.

OMOE K, HU DL, ONO HK, SHIMIZU S, TAKAHASHI-OMOE H, NAKANE A, UCHIYAMA T, SHINAGAWA K, IMANISHI KI (2013). Emetic potentials of newly identified staphylococcal enterotoxin-like toxins. *Infect Immun*, **81(10)**: 3627-3631.

ONICIUC EA, NICOLAU AI, HERNÁNDEZ M, RODRIGUEZ-LÁZARO D (2017). Presence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the food chain. *Trends Food Sci Technol*, **61**, 49-59.

ONO HK, OMOE K, IMANISHI KI, IWAKABE Y, HU DL, KATO H, SAITO N, NAKANE A, UCHIYAMA T, SHINAGAWA K (2008). Identification and characterization of two novel staphylococcal enterotoxins, types S and T. *Infect Immun*, **76(11)**: 4999-5005.

ONO HK, NISHIZAWA M, YAMAMOTO Y, HU DL, NAKANE A, SHINAGAWA K, OMOE K (2012). Submucosal mast cells in the gastrointestinal tract are a target of staphylococcal enterotoxin type A. *FEMS Immunol Med Microbiol*, **64(3)**: 392-402.

ONO HK, HIROSE S, NAITO I, SATO'O Y, ASANO K, HU DL, OMOE K, NAKANE A (2017). The emetic activity of staphylococcal enterotoxins, SEK, SEL, SEM, SEN and SEO in a small emetic animal model, the house musk shrew. *Microbiol Immun*, **61(1)**: 12-16.

ONOE Y, MORI M (1997). Amino acid requirements for the growth and enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* in chemically defined media. *Int J Food Microbiol*, **36(1)**: 77-82.

- ORGANJI SR, ABULREESH HH, ELBANNA K, OSMAN GE, ALMALKI MH (2018). Diversity and characterization of *Staphylococcus* spp. in food and dairy products: a foodstuff safety assessment. *J Microbiol, Biotechnol Food Sci*, **7**: 586-593.
- O'RIORDAN K, LEE JC (2004). *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides. *Clin Microbiol Rev*, **17**(1): 218-234.
- ORWIN PM, LEUNG DY, DONAHUE HL, NOVICK RP, SCHLIEVERT PM (2001). Biochemical and biological properties of staphylococcal enterotoxin K. *Infect Immun*, **69**(1): 360-366.
- OSMAN K, ALVAREZ-ORDONEZ A, RUÍZ L, BADR J, ELHOFY F, AL-MAARY KS, ELHADIDY M (2017). Antimicrobial resistance and virulence characterization of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci from imported beef meat. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, **16**(1): 1-10.
- OSTYN A, DE BUYSER ML, GUILLIER F, GROULT J, FELIX B, SALAH S, DELMAS G, HENNEKINNE JA (2010). First evidence of a food poisoning outbreak due to staphylococcal enterotoxin type E, France, 2009. *Eurosurveillance*, **15**(13): 19528.
- OTTO M (2019). Staphylococcal Biofilms. In: *Gram-Positive Pathogens*. 3rd Ed. Ed.: Fischetti, V.A., Novick, R.P., Ferretti, J.J., Portnoy, D.A., Braunstein, M., Rood, J.I., ASM Press, Washington, p.: 699-711.
- ÖZDEMİR H, KEYVAN E (2016). Isolation and characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from beef, sheep and chicken meat. *Ank Univ Vet Fak Derg*, **63**(4): 333-338.
- PAL M, KERORSA GB, MARAMI LM, KANDI, V. (2020). Epidemiology, pathogenicity, animal infections, antibiotic resistance, public health significance, and economic impact of *Staphylococcus aureus*: A comprehensive review. *Am J Public Health Res*, **8**(1): 14-21.
- PAPARELLA A, SERIO A, ROSSI C, MAZZARRINO G, LOPEZ CC (2018). Food-Borne Transmission of Staphylococci. In: *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress*. Ed.: Savini, V., Elsevier, Cambridge. p.: 71-94.
- PARISI JT (1985). Coagulase-negative staphylococci and the epidemiological typing of *Staphylococcus epidermidis*. *Microbiol Rev*, **49**(2):126-139.
- PARK JY, SEO KS (2019). *Staphylococcus aureus*. In: *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. 5th Ed. Ed.: Doyle, M.P., Diez-Gonzalez, F., Hill, C., ASM Press, Washington, DC. p.: 555-584.
- PATEL SJ, WELLINGTON M, SHAH RM, FERREIRA MJ (2020). Antibiotic stewardship in food-producing animals: Challenges, progress, and opportunities. *Clin Ther*, **42**: 1649-1658.

- PATERSON GK, HARRISON EM, HOLMES MA (2014). The emergence of mecC methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol*, **22(1)**: 42-47.
- PEACOCK S (2006). *Staphylococcus aureus*. In: *Principles and Practice of Clinical Bacteriology*. 2nd Ed. Ed.: Gillespie, S.H., Hawkey, P.M., John Wiley & Sons Ltd, Chichester. p.: 73-98.
- PEACOCK SJ, PATERSON GK (2015). Mechanisms of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annu Rev Biochem*, **84**: 577-601.
- PEETERMANS M, VERHAMME P, VANASSCHE T (2015). Coagulase activity by *Staphylococcus aureus*: a potential target for therapy?. *Semin Thromb Hemost*, **41**: 433-444.
- PEKANA A, GREEN E (2018). Antimicrobial resistance profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from meat carcasses and bovine milk in abattoirs and dairy farms of the Eastern Cape, South Africa. *Int J Environ Res Public Health*, **15(10)**: 1-13.
- PELZ A, WIELAND KP, PUTZBACH K, HENTSCHEL P, ALBERT K, GÖTZ F (2005). Structure and biosynthesis of staphyloxanthin from *Staphylococcus aureus*. *J Biol Chem*, **280(37)**: 32493-32498.
- PEREIRA V, LOPES C, CASTRO A, SILVA J, GIBBS P, TEIXERIA P (2009). Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal. *Food Microbiol*, **26**: 278-282.
- PEREZ-ARNEDO I, CANTALEJO MJ, MARTINEZ-LAORDEN A, GONZALEZ-FANDOS E (2021). Effect of processing on the microbiological quality and safety of chicken carcasses at slaughterhouse. *Int J Food Sci Technol*, **56(4)**: 1855-1864.
- PETTERSSON H, FORSBERG G (2002). Staphylococcal enterotoxin H contrasts closely related enterotoxins in species reactivity. *Immunology*, **106(1)**: 71-79.
- PINCHUK IV, BESWICK EJ, REYES VE (2010). Staphylococcal enterotoxins. *Toxins*, **2**: 2177-2197.
- PIRES SM, DESTA BN, MUGHINI-GRAS L, MMBAGA BT, FAYEMI OE, SALVADOR EM, GOBENA T, MAJOWICZ SE, HALD T, HOEJSKOV PS, MINATO Y, DEVLEESSCHAUWER B (2021). Burden of foodborne diseases: think global, act local. *Curr Opin Food Sci*, **39**: 152-159.
- PONTIERI E (2018). The staphylococcal hemolysins. In: *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress*. Ed.: Savini, V., Elsevier, London. p.: 103-116.
- PROCOP GW, CHURCH DL, HALL GS, JANDA WM, KONEMAN EE, SCHRECKENBERGER P, WOODS GL. (2017). Gram-Positive Cocci Part I: Staphylococci and Related Gram-Positive Cocci. In: *Koneman's Color Atlas and*

Textbook of Diagnostic Microbiology. 7th Ed. Ed.: Procop, G.W., Church, D.L., Hall, G.S., Janda, W.M., Koneman, E.E., Schreckenberger, P., Woods, G.L., Wolters Kluwer Health, Philadelphia. p.: 670-732.

- PU S, HAN F, GE B (2009). Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from Louisiana retail meats. *Appl Environ Microbiol*, **75(1)**: 265-267.
- PU S, WANG F, GE B (2011). Characterization of toxin genes and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from Louisiana retail meats. *Foodborne Pathog Dis*, **8(2)**: 299-306.
- PU W, SU Y, LI J, LI C, YANG Z, DENG H, NI C (2014). High incidence of oxacillin-susceptible mecA-positive *Staphylococcus aureus* (OS-MRSA) associated with bovine mastitis in China. *PLoS One*, **9(2)**, e88134.
- PUAH SM, CHUA KH, TAN JAMA (2017). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica* in ready-to-eat sushi and sashimi. *Trop Biomed*, **34(1)**: 45-51.
- QUE YA, MOREILLON P (2015). *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock Syndrome) In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases* 8th Ed. Ed.: Bennett, J.E., Dolin, R., Blaser, M.J., Elsevier Saunders, Philadelphia. p.: 2237-2271.
- QUIJADA NM, HERNANDEZ M, ONICIUC EA, EIROS JM, FERNANDEZ-NATAL I, WAGNER M, RODRIGUEZ-LAZARO D (2019). Oxacillin-susceptible mecA-positive *Staphylococcus aureus* associated with processed food in Europe. *Food Microbiol*, **82**: 107-110.
- RAHIMI E, NONAHAL F, SALEHI EA (2013). Detection of classical enterotoxins of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw meat in Esfahan, Iran. *Health Scope*, **2(2)**: 95-98.
- RAHMAN MA, RAHMAN AA, ISLAM MA, ALAM MM (2018). Multi-drug resistant *Staphylococcus aureus* isolated from milk, chicken meat, beef and egg in Bangladesh. *Res Agric Livest Fish*, **5(2)**: 175-183.
- RAINARD P, CORRALES JC, BARRIO MB, COCHARD T, POUTREL B (2003). Leucotoxic activities of *Staphylococcus aureus* strains isolated from cows, ewes, and goats with mastitis: importance of LukM/LukF'-PV leukotoxin. *Clin Diagn Lab Immunol*, **10(2)**: 272-277.
- RAJI MA, GARAWEEEN G, EHRLICHT R, MONECKE S, SHIBL AM, SENOK A (2016). Genetic characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from retail meat in Riyadh, Saudi Arabia. *Front Microbiol*, **7**: 911.
- RALL VLM, VIEIRA FP, RALL R, VIEITIS RL, FERNANDES A JR, CANDEIAS JM, CARDOSO KFG, ARAUJO JR JP (2008). PCR detection of staphylococcal

enterotoxin genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw and pasteurized milk. *Vet Microbiol*, **132**: 408-413.

RALL VLM, SFORCIN JM, AUGUSTINI VCM, WATANABE MT, FERNANDES JR A, RALL R, ARAUJO JR JP (2010). Detection of enterotoxin genes of *Staphylococcus* sp isolated from nasal cavities and hands of food handlers. *Braz J Microbiol*, **41(1)**: 59-65.

RALL VLM, MIRANDA ES, CASTILHO IG, CAMARGO CH, LANGONI H, GUIMARAES FF, JUNIOR AJP, JUNIOR AF (2014). Diversity of *Staphylococcus* species and prevalence of enterotoxin genes isolated from milk of healthy cows and cows with subclinical mastitis. *J Dairy Sci*, **97(2)**: 829-837.

RANUCCI D, BRANCIARI R, MIRAGLIA D, STOCCHI R, REA S, LOSCHI AR (2014). Evaluation of carcass hygiene in sheep subjected to gas de-pelting with different skinning procedures. *Ital J Food Safety*, **3(3)**: 188-191.

REBOUÇAS GG, ABRANTES MR, DE OLIVEIRA REBOUÇAS M, DE ARAUJO BVS, SAKAMOTO SM, DA SILVA JBA (2020). Detection of enterotoxigenic genes and *mecA* gene in *Staphylococcus aureus* isolated from goat milk. *Braz J Dev*, **6(7)**: 45692-45703.

ROHDE M (2019). The Gram-Positive Bacterial Cell Wall. In: *Gram-Positive Pathogens*. 3rd Ed. Ed.: Fischetti, V.A., Novick, R.P., Ferretti, J.J., Portnoy, D.A., Braunstein, M., Rood, J.I., ASM Press, Washington. p.: 3-18.

ROLA JG, CZUBKOWSKA A, KORPYSA-DZIRBA W, OSEK J (2016). Occurrence of *Staphylococcus aureus* on farms with small scale production of raw milk cheeses in Poland. *Toxins*, **8(3)**: 62.

ROLLOF J, HEDSTRÖM SA, NILSSON-EHLE P (1987). Lipolytic activity of *Staphylococcus aureus* strains from disseminated and localized infections. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand Sect B*, **95**: 109-113.

ROOIJAKKERS SHM, VAN WAMEL WJB, RUYKEN M, VAN KESSEL KPM, VAN STRIJP JA G (2005). Anti-opsonic properties of staphylokinase. *Microbes Infect*, **7(3)**: 476-484.

ROZALSKA B, SADOWSKA B (2018). In Vivo Resistance Mechanisms: Staphylococcal Biofilms. In: *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress*. Ed.: Savini, V., Academic Press, Elsevier, Cambridge. p.: 237-251.

RUBAN SW, BABU RN, ROBINSON JJ, KUMAR TMA, KUMARASAMY P, PORTEEN K, RAJA P (2018). Molecular detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from mutton marketed in retail outlets of Chennai, India. *Indian J Anim Res*, **52(7)**: 1048-1052.

- SAÇLI Y, DOĞAN HG (2020). The factors affecting the beef consumer price formation in Turkey. *Black Sea Journal of Public and Social Science*, **3(2)**: 35-42.
- SAITO E, YOSHIDA N, KAWANO J, SHIMIZU A, IGIMI S (2011). Isolation of *Staphylococcus aureus* from raw fish in relation to culture methods. *J Vet Med Sci*, **73(3)**: 287-292.
- SAKA E, TERZI-GULEL G (2018). Detection of enterotoxin genes and methicillin-resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from water buffalo milk and dairy products. *J Food Sci*, **83(6)**: 1716-1722.
- SAKLANI P, LEKSHMI M, NAYAK BB, KUMAR S (2020). Survival of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in fish and shrimp under different storage conditions. *J Food Prot*, **83(5)**: 844-848.
- SALEH E, EL-MOHSEN A, REHAM G, IBRAHIM MS (2016). Molecular identification of *Staphylococcus aureus* in imported frozen and locally slaughtered meat. *Alexandria Journal for Veterinary Sciences*, **51(1)**: 162-169.
- SALEM AM, ZAKARIA EM, ABD EL RAHEEM KA (2017). Environmental Contamination with Methicillin Resistant Staphylococci in Food animal carcasses. *Benha Veterinary Medical Journal*, **32(1)**: 170-176.
- SAMANTA I, BANDYOPADHYAY S (2020). *Staphylococcus*. In: *Antimicrobial Resistance in Agriculture: Perspective, Policy and Mitigation*. Ed.: Samanta, I., Bandyopadhyay, S., Academic Press, Elsevier, Oxford. p.: 195–215.
- SANDEL MK, MCKILLIP JL (2004). Virulence and recovery of *Staphylococcus aureus* relevant to the food industry using improvements on traditional approaches. *Food Control*, **15(1)**: 5-10.
- SCHELIN J, SUSILO YB, JOHLER S (2017). Expression of staphylococcal enterotoxins under stress encountered during food production and preservation. *Toxins*, **9(12)**: 401.
- SCHELIN J, WALLIN-CARLQUIST N, THORUP COHN M, LINDQVIST R, BARKER GC (2011). The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. *Virulence*, **2(6)**: 580-592.
- SCHITO GC (2006). The importance of the development of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect*, **12**: 3-8.
- SCHLEGELOVA J, NAPRAVNIKOVA E, DENDIS M, HORVATH R, BENEDIK J, BABAK V, KLIMOVA E, NAVRATILOVA P, SUSTACKOVA A (2004). Beef carcass contamination in a slaughterhouse and prevalence of resistance to antimicrobial drugs in isolates of selected microbial species. *Meat Sci*, **66(3)**: 557-565.
- SCHLEIFER KH, BELL J (2009). Genus I. *Staphylococcus*. In: *Bergeys Manual of Systematic Bacteriology: The Firmicutes*, Vol. 3. 2nd Ed. Ed.: Vos, P.D., Garrity, G.,

Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.H., Whitman, W.B., Springer, New York. p.: 391-421.

SCOTT G (2009). Antibiotic resistance. *Medicine*, **37(10)**: 551-556.

SEILIE ES, WARDENBURG JB (2017). *Staphylococcus aureus* pore-forming toxins: the interface of pathogen and host complexity. *Semin Cell Dev Biol*, **72**: 101-116.

SEO KS, BOHACH GA (2010). Staphylococcal Food Poisoning. In: *Pathogen and Toxins in Foods: Challenges and Interventions*. Ed.: Juneja, V.K., Sofos, J.N., ASM Press, Washington, DC. p.: 119-130.

SEO KS, BOHACH GA (2013). *Staphylococcus aureus*. In: *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. 4th Ed. Ed.: Doyle, M.P., Buchanan, R.L., ASM Press, Washington, DC. p.: 547-573.

SERDELIDIS D, PAPADOPOULOS T, KOMODROMOS D, SERDELIDOU E, LAZOU T, PAPAGIANNI M, ZDRAGAS A, PAPA A (2015). Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from small ruminants and their meat at slaughter and retail level in Greece. *Lett Appl Microbiol*, **61(5)**: 498-503.

SERDELIDIS D, ANGELIDIS AS (2017). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a controversial food-borne pathogen. *Lett Appl Microbiol*, **64**: 409-418.

SHALTOUT FAE, FAROUK M, IBRAHIM HA, AFIFI ME (2017). Incidence of Coliform and *Staphylococcus aureus* in ready to eat fast foods. *Benha Veterinary Medical Journal*, **32(1)**: 13-17.

SHIMADA T, PARK BG, WOLF AJ, BRIKOS C, GOODRIDGE HS, BECKER CA, REYES CN, MIAO EA, ADEREM A, GOTZ F, LIU GY, UNDERHILL DM (2010). *Staphylococcus aureus* evades lysozyme-based peptidoglycan digestion that links phagocytosis, inflammasome activation, and IL-1 β secretion. *Cell Host Microbe*, **7(1)**: 38-49.

SHUPP JW, JETT M, PONTZER CH (2002). Identification of a transcytosis epitope on staphylococcal enterotoxins. *Infect Immun*, **70(4)**: 2178-2186.

SHYLAJA M, SANEM SSG, SAMATHA K, PRADEEP CH (2018). Studies on the incidence of *Staphylococcus aureus* and its enterotoxins in different meat and meat products. *The Pharma Innovation Journal*, **7(4)**: 669-673.

SIHTO HM, TASARA T, STEPHAN R, JOHLER S (2015). Temporal expression of the staphylococcal enterotoxin D gene under NaCl stress conditions. *FEMS Microbiol Lett*, **362(6)**: 1-7.

- SIHTO HM, TASARA T, STEPHAN R, JOHLER S (2016). Growth behavior and temporal enterotoxin D expression of *Staphylococcus aureus* strains under glucose and lactic acid stress. *Food Control*, **62**: 69-73.
- SILVERSIDES JA, LAPPIN E, FERGUSON AJ (2010). Staphylococcal toxic shock syndrome: mechanisms and management. *Curr Infect Dis Rep*, **12(5)**: 392-400.
- SILVESTRI LG, HILL LR (1965). Agreement between deoxyribo-nucleic acid base composition and taxonomic classification of Gram-positive cocci. *J Bacteriol*, **90(1)**:136-140.
- SMITH JL, BUCHANAN R.L, PALUMBO SA (1983). Effect of food environment on staphylococcal enterotoxin synthesis: a review. *J Food Prot*, **46**: 545-555.
- SMITH PB, HANCOCK GA, RHODEN DL (1969). Improved medium for detecting deoxyribonuclease-producing bacteria. *Appl Environ Microbiol*, **18(6)**: 991-993.
- SMITH TL, JARVIS WR (1999). Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus*. *Microbes Infect*, **1(10)**: 795-805.
- SOARES MJ, TOKUMARU-MIYAZAKI NH, NOLETO AL, FIGUEIREDO AM (1997). Enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* clones and detection of Brazilian epidemic MRSA clone (III:B:A) among isolates from food handlers. *J Med Microbiol*, **46**: 214-221.
- SOBRAL R, TOMASZ A (2019). The staphylococcal cell wall. In: *Gram-Positive Pathogens*. 3rd Ed. Ed.: Fischetti, V.A., Novick, R.P., Ferretti, J.J., Portnoy, D.A., Braunstein, M., Rood, J.I., ASM Press, Washington. p.: 574-591.
- SOEPRANIANONDO K, WARDHANA DK (2019). Analysis of bacterial contamination and antibiotic residue of beef meat from city slaughterhouses in East Java Province, Indonesia. *Vet World*, **12(2)**: 243-248.
- SOMERVILLE GA, PROCTOR RA (2009). The Biology of Staphylococci. In: *Staphylococci in Human Disease*. 2nd Ed. Ed.: Crossley, K.B., Jefferson, K.K., Archer, G.L., Fowler Jr, V.G., Blackwell Publishing Ltd, Oxford. P.: 3-18.
- SPAULDING AR, SALGADO-PABÓN W, KOHLER PL, HORSWILL AR, LEUNG DY, SCHLIEVERT PM (2013). Staphylococcal and streptococcal superantigen exotoxins. *Clin Microbiol Rev*, **26(3)**: 422-447.
- STEGGER M, ANDERSEN PS, KEARNS A, PICHON B, HOLMES MA, EDWARDS G, LAURENT F, TEALE C, SKOV R, LARSEN AR (2012). Rapid detection, differentiation and typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* harbouring either *mecA* or the new *mecA* homologue *mecA* (LGA251). *Clin Microbiol Infect*, **18**: 395-400.

- STEWART GC (2017). Staphylococcal Food Poisoning. In: *Foodborne Disease*. 3rd Ed. Ed.: Dodd, C.E.R., Aldsworth, T., Stein, R.A., Cliver, D.O., Riemann, H.P., Academic Press, Elsevier, Columbia. p.: 367-380.
- STRYJEWSKI ME, COREY GR (2009). New treatments for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Curr Opin Crit Care*, **15(5)**: 403-412.
- SWOBODA JG, CAMPBELL J, MEREDITH TC, WALKER S (2010). Wall teichoic acid function, biosynthesis, and inhibition. *Chembiochem*, **11(1)**: 35-45.
- SYCHANATHA D, JONES CS, LITTLE DJ, MOYNIHAN PJ, ROBINSON H, GALLEY NF, ROPER DI, DOWSON CG, HOWELL PL, CLARKE AJ (2017). In vitro characterization of the antivirulence target of Gram-positive pathogens, peptidoglycan O-acetyltransferase A (OatA). *PLoS Pathog*, **13(10)**: e1006667.
- SYED MA, JACKSON CR, RAMADAN H, AFRIDI R, BANO S, BIBI S, FATIMA B, TABASSUM S, JAMIL B, KHAN MF, BARRETT JB, WOODLEY TA (2019). Detection and molecular characterization of staphylococci from eggs of household chickens. *Foodborne Pathog Dis*, **16(8)**: 550-557.
- SYNE SM, RAMSUBHAG A, ADESIYUN AA (2013). Microbiological hazard analysis of ready-to-eat meats processed at a food plant in Trinidad, West Indies. *Infect Ecol Epidemiol*, **3(1)**: 20450.
- TALLENT S, HAIT J (2016). *Staphylococcus aureus*. Chapter 12. In: *FDA's Bacteriological Analytical Manual*. Erişim Adresi: [<https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-12-staphylococcus-aureus>]. Erişim Tarihi 21/04/2020.
- TAM K, TORRES VJ (2019). *Staphylococcus aureus* secreted toxins and extracellular enzymes. In: *Gram-Positive Pathogens*. 3rd Ed. Ed.: Fischetti, V.A., Novick, R.P., Ferretti, J.J., Portnoy, D.A., Braunstein, M., Rood, J.I., ASM Press, Washington. p.: 640-668.
- TANG JN, SHI XM, SHI CL, CHEN HC (2006). Characterization of a duplex polymerase chain reaction assay for the detection of enterotoxigenic strains of *Staphylococcus aureus*. *J Rapid Methods Autom Microbiol*, **14(3)**: 201-217.
- TANG Y, LARSEN J, KJELDGAARD J, ANDERSEN PS, SKOV R, INGMER H (2017). Methicillin-resistant and-susceptible *Staphylococcus aureus* from retail meat in Denmark. *Int J Food Microbiol*, **249**: 72-76.
- TASSEW H, ABDISSA A, BEYENE G, GEBRE-SELASSIE S (2010). Microbial flora and food borne pathogens on minced meat and their susceptibility to antimicrobial agents. *Ethiop J Health Sci*, **20(3)**: 137-143.
- TATINI SR (1973). Influence of food environments on growth of *Staphylococcus aureus* and production of various enterotoxins. *J Milk Food Technol*, **36(11)**: 559-563.

- TEGEGNE HA, FLORIANOVA M, GELBICOVA T, KARPISKOVA R, KOLACKOVA I (2019). Detection and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bulk tank milk of cows, sheep, and goats. *Foodborne Pathog Dis*, **16(1)**: 68-73.
- TETSUYA I, NAOTO T, KEIJI Y (2005). Mass outbreak of food poisoning disease caused by small amounts of staphylococcal enterotoxins A and H. *Appl Environ Microbiol*, **71**: 2793-2795.
- THAKALI A, MACRAE JD (2021). A review of chemical and microbial contamination in food: What are the threats to a circular food system?. *Environ Res*, **194**: 110635.
- THAM W, HAJDU LJ (1987). A comparison of six media for isolating *Staphylococcus aureus* from foods. *Food Microbiol*, **4(2)**: 133-146.
- THAPALIYA D (2019). *Staphylococcus*. In: *Handbook of Foodborne Diseases*. Ed.: Liu, D., CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL. p.: 215-222.
- THOENDEL M, KAVANAUGH JS, FLACK CE, HORSWILL AR (2011). Peptide signaling in the staphylococci. *Chem Rev*, **111(1)**: 117-151
- THOMAS D, CHOU S, DAUWALDER O, LINA G (2007). Diversity in *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Chem Immunol Allergy*, **93**: 24-41.
- TONG SY, DAVIS JS, EICHENBERGER E, HOLLAND TL, FOWLER JR VG (2015). *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol Rev*, **28(3)**: 603-661.
- TOUBAR SME, ELBIALY AA, ZAKY MMM, EL-SHAFFEY AS (2018). Prevalence of *Staphylococcus aureus* in raw milk and some dairy products in port said governorate. *American Journal of Zoology*, **1(2)**: 40-46.
- TSEPO R, NGOMA L, MWANZA M, NDOU R (2016). Prevalence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from beef carcasses at abattoirs in north west province. *Journal of Human Ecology*, **56(1-2)**: 188-195.
- TSUTSUURA S, MURATA M (2012). Temperature dependence of staphylococcal enterotoxin A production by *Staphylococcus aureus*. *Nihon Rinsho Japanese Journal of Clinical Medicine*, **70(8)**: 1323-1328.
- UHLEMANN AC, OTTO M, LOWY FD, DELEO FR (2014). Evolution of community- and healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Infect Genet Evol*, **21**: 563-574.
- UMARU GA, KABIR J, ADAMU NB, UMAR YA (2011). A review of emerging methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): A growing threat to veterinarians. *Nig Vet J*, **32(3)**: 174-186.

- UZUNOVIC S, IBRAHIMAGIC A, KAMBEROVIC F, RIJNDER MI, STOBBERINGH EE (2013). Molecular characterization of methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Food handlers in Bosnia and Herzegovina. *Open Infect Dis J*, **7(1)**: 15-20.
- ÜNAL N, ÇINAR OD (2012). Detection of staphylococcal enterotoxin, methicillin-resistant and Panton-Valentine leukocidin genes in coagulase-negative staphylococci isolated from cows and ewes with subclinical mastitis. *Trop Anim Health Prod*, **44**: 369-375.
- VANDENESCH F, LINA G, HENRY T (2012). *Staphylococcus aureus* hemolysins, bi-component leukocidins, and cytolytic peptides: a redundant arsenal of membrane-damaging virulence factors?. *Front Cell Infect Microbiol*, **2**, 12.
- VAUGHN J, ABDI RD, GILLESPIE BE, DEGO OK (2020). Genetic diversity and virulence characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from cases of bovine mastitis. *Microbol Pathog*, **144**: 104171.
- VAZQUEZ-SANCHEZ D, LOPEZ-CABO M, SAA-IBUSQUIZA P, RODRIGUEZ-HERRERA JJ (2012) Incidence and characterization of *Staphylococcus aureus* in fishery products marketed in Galicia (Northwest Spain). *Int J Food Microbiol*, **157**: 286-296.
- VAZQUEZ-SANCHEZ D, RODRIGUEZ-LOPEZ P (2018). Biofilm Formation of *Staphylococcus aureus*. In: *Staphylococcus aureus*. Ed.: Fetsch, A., Academic Press, Elsevier, London. p.: 87-103.
- VERDON J, GIRARDIN N, LACOMBE C, BERJEAUD JM, HÉCHARD Y (2009). δ -hemolysin, an update on a membrane-interacting peptide. *Peptides*, **30(4)**: 817-823.
- VESTERGAARD M, FREES D, INGMER H (2019). Antibiotic resistance and the MRSA problem. In: *Gram-Positive Pathogens*. 3rd Ed. Ed.: Fischetti, V.A., Novick, R.P., Ferretti, J.J., Portnoy, D.A., Braunstein, M., Rood, J.I., ASM Press, Washington. p.: 747-765.
- VICTOR R, LACHICA F, WEISS KF, DEIBEL RH (1969). Relationships among coagulase, enterotoxin, and heat-stable deoxyribonuclease production by *Staphylococcus aureus*. *Appl Microbiol*, **18(1)**: 126-127.
- VOLLMER W, BLANOT D, DE PEDRO MA (2008). Peptidoglycan structure and architecture. *FEMS Microbiol Rev*, **32(2)**: 149-167.
- VOYICH J. M, OTTO M, MATHEMA B, BRAUGHTON KR, WHITNEY AR, WELTY D, LONG RD, DORWARD DW, GARDNER DJ, LINA G, KREISWIRTH BN, DELEO FR (2006). Is Panton-Valentine leukocidin the major virulence determinant in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease? *J Infect Dis*, **194(12)**: 1761-1770.

- VRIELING M, KOYMANS KJ, HEESTERBEEK DA, AERTS PC, RUTTEN VP, DE HAAS CJ, VAN KESSEL KP, KOETS AP, NIJLAND R, VAN STRIIP JA (2015). Bovine *Staphylococcus aureus* secretes the leukocidin LukMF' to kill migrating neutrophils through CCR1. *MBio*, **6**: e00335-15.
- VRIELING M, BOERHOUT EM, VAN WIGCHEREN GF, KOYMANS KJ, MOLS-VOSTERMANS TG, DE HAAS CJ, AERTS PC, DAEMEN IJ, VAN KESSEL KP, KOETS AP, RUTTEN VP, NUIJTEN PJ, VAN STRIIP JA, BENEDICTUS L (2016). LukMF' is the major secreted leukocidin of bovine *Staphylococcus aureus* and is produced in vivo during bovine mastitis. *Sci Rep*, **6**: 37759.
- WANG R, BRAUGHTON KR, KRETSCHMER D, BACH THL, QUECK SY, LI M, KENNEDY AD, DORWARD DW, KLEBANOFF SJ, PESCHEL A, DELEO FR, OTTO M (2007). Identification of novel cytolytic peptides as key virulence determinants for community-associated MRSA. *Nat Med*, **13**: 1510-1514.
- WANG W, LIN X, JIANG T, PENG Z, XU J, YI L, LI F, FANNINGS S, BALOCH Z (2018). Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* cultured from raw milk taken from dairy cows with mastitis in Beijing, China. *Front Microbiol*, **9**: 1123.
- WANG X, TAO X, XIA X, YANG B, XI M, MENG J, ZHANG J, XU B (2013). *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in retail raw chicken in China. *Food Control*, **29**: 103-106.
- WANG YT, LIN YT, WAN TW, WANG DY, LIN HY, LIN CY, LIN Y, CHEN YC, TENG LJ (2019). Distribution of antibiotic resistance genes among *Staphylococcus* species isolated from ready-to-eat foods. *J Food Drug Anal*, **27(4)**: 841-848.
- WATKINS RR, BONOMO RA (2016). Overview: Global and local impact of antibiotic resistance. *Infect Dis Clin North Am*, **30(2)**: 313-322.
- WEESE JS, AVERY BP, REID-SMITH RJ (2010). Detection and quantification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clones in retail meat products. *Lett Appl Microbiol*, **51(3)**: 338-342.
- WEIDENMAIER C, KOKAI-KUN JF, KRISTIAN SA, CHANTURIYA T, KALBACHER H, GROSS M, NICHOLSON G, NEUMEISTER B, MOND JJ, PESCHEL A (2004). Role of teichoic acids in *Staphylococcus aureus* nasal colonization, a major risk factor in nosocomial infections. *Nat Med*, **10(3)**: 243-245.
- WEIDENMAIER C, LEE JC (2017). Structure and Function of Surface Polysaccharides of *Staphylococcus aureus*. In: *Staphylococcus aureus: Microbiology, Pathology, Immunology, Therapy and Prophylaxis*. Ed.: Bagnoli, F., Rappuoli, R., Grandi, G., Springer, Siena. p.: 57-93.
- WENDLANDT S, FEßLER AT, MONECKE S, EHRLICH R, SCHWARZ S, KADLEC K (2013). The diversity of antimicrobial resistance genes among staphylococci of animal origin. *Int J Med Microbiol*, **303(6)**: 338-349.

- WHITE MJ, BOYD JM, HORSWILL AR, NAUSEEF WM (2014). Phosphatidylinositol-specific phospholipase C contributes to survival of *Staphylococcus aureus* USA300 in human blood and neutrophils. *Infect Immun*, **82**: 1559-1571.
- WOH PY, THONG KL, BEHNKE JM, LEWIS JW, ZAIN SNM (2016). Evaluation of basic knowledge on food safety and food handling practices amongst migrant food handlers in Peninsular Malaysia. *Food Control*, **70**: 64-73.
- WOODIN AM (1959). Fractionation of the two component of leukocidin from *Staphylococcus aureus*. *Biochem J*, **73**: 225-37.
- WU S, HUANG J, WU Q, ZHANG J, ZHANG F, YANG X, WU H, ZENG H, CHEN M, DING Y, WANG J, LEI T, ZHANG S, XUE L. (2018). *Staphylococcus aureus* isolated from retail meat and meat products in China: incidence, antibiotic resistance and genetic diversity. *Front Microbiol*, **9**: 2767.
- XIA G, KOHLER T, PESCHEL A (2010). The wall teichoic acid and lipoteichoic acid polymers of *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol*, **300**: 148-154.
- XU MM, KAUR M, PILLIDGE CJ, TORLEY PJ (2021). Microbial biopreservatives for controlling the spoilage of beef and lamb meat: their application and effects on meat quality. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1-35.
- XU Z, PETERS BM, LI B, LI L, SHIRTLIFF ME (2016). Staphylococcal Food Poisoning and Novel Perspectives in Food Safety. In: *Significance, Prevention and Control of Food Related Diseases*. Ed.: Makun, H.A., Intech Open, Londra. p.: 159-213.
- YARALI E (2019). Gıda zincirinde izlenebilirlik. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, **23(1)**: 108-119.
- YOON Y, LEE S, CHOI KH (2016). Microbial benefits and risks of raw milk cheese. *Food Control*, **63**: 201-215.
- ZARGAR MHS, DOUST RH, MOBAREZ AM (2014). *Staphylococcus aureus* Enterotoxin A Gene Isolated From Raw Red Meat and Poultry in Tehran, Iran. *Int J Enteric Pathog*, **2(3)**: e16085.
- ZEHR A, SINGH R, KAUR S, GILL JPS (2017). Molecular characterization of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* from livestock (bovine and swine). *Vet World*, **10(6)**: 598-604.
- ZEHR A, GULZAR M, SINGH R, KAUR S, GILL JPS (2019). Prevalence, multidrug resistance and molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in retail meat from Punjab, India. *J Glob Antimicrob Resist*, **16**: 152-158.
- ZEHR A, GULZAR M, SINGH R, KAUR S, GILL JPS (2020). Comparative analysis of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Borderline Oxacillin

Resistant *Staphylococcus aureus* (BORSA) in community and food of animal origin. *FEMS Microbiol Lett*, **367(23)**: fnaa201.

ZENG D, DEBABOY D, HARSTELL TL, CANO RJ, ADAMS S, SCHUYLER JA, MCMILLAN R, PACE JL (2016). Approved glycopeptide antibacterial drugs: mechanism of action and resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med*, **6(12)**: a026989.

ZERABRUK K, RETTA N, MULETA D, TEFERA AT (2019). Assessment of microbiological safety and quality of minced meat and meat contact surfaces in selected butcher shops of Addis Ababa, Ethiopia. *J Food Qual*, **2019**: 1-9.

ZHANEL GG, KARLOWSKY JA, RUBINSTEIN E, HOBAN DJ (2006). Tigecycline: a novel glycycline antibiotic. *Expert Rev Anti Infect Ther*, **4(1)**: 9-25.

ZHANG DF, YANG XY, ZHANG J, QIN X, HUANG X, CUI Y, ZHOU M, SHI C, NIGEL P, FRENCH NP, SHI X (2018). Identification and characterization of two novel superantigens among *Staphylococcus aureus* complex. *Int J Med Microbiol*, **308(4)**: 438-446.

ZHANG P, MIAO X, ZHOU L, CUI B, ZHANG J, XU X, WU C, PENG X, WHANG X. (2020). Characterization of Oxacillin-Susceptible *mecA*-Positive *Staphylococcus aureus* from Food Poisoning Outbreaks and Retail Foods in China. *Foodborne Pathog Dis*, **17(11)**: 728-734

ZHANG S, IANDOLO JJ, STEWART GC (1998). The enterotoxin D plasmid of *Staphylococcus aureus* encodes a second enterotoxin determinant (sej). *FEMS Microbiol Lett*, **168(2)**: 227-233.

ZWEIFEL C, STEPHAN R (2014). Microbial Contamination During Slaughter. In: *Meat Inspection and Control in the Slaughterhouse*. 1st Ed. Ed.: Ninios, T., Lunden, J., Korkeala, H., Fredriksson-Ahomaa, M., John Wiley & Sons, Ltd, Chicester. p.: 423-438.