



**GIDA KAYNAKLI SLİME ÜRETEN GRAM NEGATİF VE GRAM  
POZİTİF BAKTERİ İZOLATLARINDAKİ ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**İhsan DURMAZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MAYIS 2018**

İhsan DURMAZ tarafından hazırlanan “GIDA KAYNAKLI SLİME OLUŞTURAN GRAM NEGATİF VE GRAM POZİTİF BAKTERİ İZOLATLARINDAKİ ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİĞİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Prof. Dr. Sumru ÇITAK

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

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

.....

**Başkan:** Prof. Dr. Nevin KESKİN

Uygulamalı Biyoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

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

.....

**Üye:** Prof. Dr. Berrin ÖZÇELİK

Farmasotik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

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

.....

Tez Savunma Tarihi: 07/05/2018

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

.....

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK BEYAN

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

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

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

İhsan DURMAZ

07/05/2018

# GIDA KAYNAKLI SLİME ÜRETEEN GRAM NEGATİF VE GRAM POZİTİF BAKTERİ İZOLATLARINDAKİ ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

İhsan DURMAZ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs 2018

## ÖZET

Araştırmamızda Mart 2013-Ocak 2014 tarihleri arasında Ankara’da tüketime sunulan 52 adet balık örneği ve Ankara’nın çeşitli marketlerinden toplanan 20 sucuk, 20 sosis, 20 salam ve 20 pastırma örneği olmak üzere toplam 80 fermente et materyal olarak kullanılmıştır. Çalışılan 52 adet balık örneğinden ve 80 fermente et örneğinden Gram (-) ve Gram (-) bakteri izolasyonu gerçekleştirilerek, tür seviyelerindeki tanımlamaları Becton Dickinson (BD) BBL Crystal Identification Systems ve Gram-Positive ID kit ile yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları ve slime faktör varlığı araştırılmıştır. Balık örneklerinden izole edilen 133 izolatın 32’si (%24,06) *Enterobacter cloacae*, 26’sı (%19,54), *Escherichia coli*, 11’i (%8,27) *Staphylococcus aureus*, 32’si (%24,06) *S. haemolyticus*, 32’si (%24,06), *S. warnerii* olarak, fermente et örneklerinden izole edilen 80 *Enterococcus* izolatının 30’u *Enterococcus faecium* (%37,5), 30’u *E. flavescens* (%37,5) ve 20’si *E. spp* (%25) olarak tanımlanmıştır. Balık örneklerinden izole edilen 58 Gram (-) bakteri izolatında en yüksek antibiyotik direnci amoksisiline (%81,03) ve en düşük antibiyotik direnci ise imipeneme (%1,72) karşı tespit edilmiştir. Balık örneklerinden izole edilen 75 Gram (+) bakteri izolatında en yüksek eritromisine (%45,33), en düşük kloramfenikol (%9,33) antibiyotiklerine karşı direnç bulunmuştur. Vankomisine karşı dirençli izolat gözlenmemiştir. 58 adet Gram(-) bakteri izolatının slime değerleri 6’sı (%10,34) kuvvetli, 9’u (%15,51) orta, 10’u (%17,24) zayıf slime pozitif olarak bulunmuştur. 75 adet *Staphylococcus* izolatının slime değerleri, 10’u (%13,3) kuvvetli, 27’si (%36) orta, 23’ü (%30) zayıf slime pozitif olarak bulunmuştur. Ayrıca 75 *Staphylococcus* izolatının 24’ü (%32) metisilin dirençli ve slime pozitif, 5’i (%6,66) metisilin dirençli slime negatif, 31’i (%41,33) metisilin duyarlı slime pozitif, 15’i (%20) metisilin duyarlı slime negatif olarak bulunmuştur. Fermente et örneklerinden izole edilen 80 adet *Enterococcus* izolatında en yüksek eritromisine (%47,5) ve en düşük teikoplanin (%2,5) antibiyotiklerine karşı direnç tespit edilmiştir. Slime değerleri ise 20’si (%25) kuvvetli, 27’si (%33,75) orta, 27’si (%33,75) zayıf slime pozitif olarak bulunmuştur. 80 *Enterococcus* izolatının 23’ü (%28,75) vankomisin dirençli slime pozitif, 4’ü (%5) vankomisin dirençli slime negatif, 51’i (%63,75) vankomisin duyarlı slime pozitif, 2’si (%2,5) vankomisin duyarlı slime negatif olarak bulunmuştur.

Bilim Kodu : 20325  
Anahtar Kelimeler : Fermente et, balık, Gram (-) ve Gram (+) bakteri, virülans, slime faktör, antibiyotik direnci  
Sayfa Adedi : 119  
Danışman : Prof. Dr. Sumru Korman ÇITAK

INVESTIGATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE IN FOOD BORNE SLIME  
PRODUCING GRAM NEGATIVE AND GRAM POSITIVE BACTERIA ISOLATES  
(Master Thesis)

İhsan DURMAZ

GAZİ UNIVERSITY  
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES  
May 2018

ABSTRACT

In this study, 52 fish samples which were provided for consumption in Ankara and a total of 80 fermented meat; 20 soucuk, 20 sausages, 20 salami and 20 bacon samples collected from various markets in Ankara between March 2013 and January 2014 were used as material. Gram (-) and Gram (+) bacterial isolations were performed from 52 fish specimens and 80 fermented meat samples and identification of species was determined by using Becton Dickinson (BD) BBL Crystal Identification Systems and Gram-Positive ID kit. Antibiotic susceptibilities and slime factor were investigated. Of the 133 isolates isolated from fish samples, 32 (24.06%) were determined as *E. cloacae*, 26 (19.54%) were *E. coli*, 11 (8.27%) were *S. aureus*, 32 (24.06%) were *S. haemolyticus*, and 32 (24.06%) were *S. warnerii*. Of the 80 *Enterococcus* isolates from fermented meat samples, 30 were identified as *E. faecium* (37.5%), 20 (37.5%) were *E. flavescens* and 30 (25%) were *E. spp.* Highest antibiotic resistance was found against to amoxicillin (%81,03) and lowest antibiotic resistance was found against to (1.72%) imipenem of the isolates of 58 Gram (-) bacteria isolated from fish samples. Highest antibiotic resistance was found against to eritromisine (%45,33) and lowest antibiotic resistance was found against to chloramphenicol (%9.33) of the isolates of 75 Gram (+) bacteria isolated from fish samples. No vancomycin resistant isolate was observed. The slime values of 58 isolates of Gram (-) bacteria isolated from the fish samples were 6 (10,34%) strong, 9 (15,51%) moderate, 10 (17,24%) weak slime positive. The slime values of 75 staphylococcal isolates isolated from fish samples were found at 10 (%13.3) as strong, at 27 ( %36) as moderate, and at 23 ( %30) as weak slime. Of the 75 staphylococcal isolates from fish samples, 24 were identified as methicilin resistant and slime positive, 5 (%6.66) methicilin resistant and slime negative, 31 ( %41.33) were identified as a methicilin susceptible to slime positive, 15 (%20) methicilin susceptible to as a slime negative. Highest antibiotic resistance was found against to eritromisine (%47,5) and lowest antibiotic resistance was found against to teicoplanin (2.5%) of the 80 enterococcal isolates isolated from the fermented meat samples. The slime values of 80 enterococcal isolates were 20 (25%) strong, 27 (%33.75) moderate , and 27 (33,75%) weak slime positive. 23 (28,75%) of the 80 enterococcal isolates isolated from the fermented meat samples were vancomycin resistant slime positive, 4 (5%) as vancomycin resistant slime negative, 51 (63,75%) as vancomycin susceptible slime positive and at 2 (2,5%) as vancomycin susceptible slime negative.

Science Code : 20325

Key Words : Fermented meat, fish, Gram (-) and Gram (+) bacteria, virulence, slime factor, antibiotic resistance

Page Number : 119

Supervisor : Prof. Dr. Sumru Korman ÇITAK

## TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren, her türlü bilgi ve desteğini benden esirgemeyen saygı değer hocam Prof. Dr. Sumru ÇITAK’a yine çalışmalarım boyunca yardımlarını ve desteklerini yanımda hissettiğim Araş. Gör. Burcu KÜLAHCI’ya; doğduğum günden bu zamana maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen annem Zahide DURMAZ ve babam Muhittin DURMAZ ‘a; her zaman yanımda olup hayatım boyunca desteğini ve yardımını hissettiğim eşim Aynur DURMAZ’ a; neşe kaynağım biricik kızım Ayşe Melek DURMAZ ve tüm laboratuvar çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi bir borç bilirim.



## İÇİNDEKİLER

|                                                                                                                               | Sayfa |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| ÖZET .....                                                                                                                    | iv    |
| ABSTRACT.....                                                                                                                 | v     |
| TEŞEKKÜR.....                                                                                                                 | vi    |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                                                             | vii   |
| ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....                                                                                                     | ix    |
| RESİMLERİN LİSTESİ .....                                                                                                      | xi    |
| SİMGELER VE KISALTMALAR.....                                                                                                  | xiii  |
| 1. GİRİŞ.....                                                                                                                 | 1     |
| 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....                                                                                                    | 19    |
| 3. MATERYAL VE METOD .....                                                                                                    | 37    |
| 3.1. Balık Örneklerinden Gram (-) Bakterilerin İzolasyonu.....                                                                | 37    |
| 3.2. Gram (-) Bakterilerin İdentifikasyonu İçin Yapılan Testler .....                                                         | 38    |
| 3.2.1. Gram (-) bakterilerin izolasyonu için kullanılan besiyerleri.....                                                      | 38    |
| 3.3. Balık örneklerinden Gram (+) Bakterilerin İzolasyonu.....                                                                | 40    |
| 3.3.1. Gram (+) bakterilerin izolasyonu için kullanılan besiyerler .....                                                      | 41    |
| 3.4. Balıklardan İzole Edilen Gram (-) ve Gram (+) Bakterilerin İdentifikasyonda<br>Kullanılan Testlerin Yapılışı .....       | 45    |
| 3.5. Fermente Etlerde <i>Enterococcus</i> İzolasyonu .....                                                                    | 60    |
| 3.5.1. .... Gıda örneklerinde <i>Enterococcus</i> izolasyonu ve identifikasyonunda<br>kullanılan besiyerleri ve testler ..... | 61    |
| 3.5.2. <i>Enterococcus</i> identifikasyonda kullanılan besiyerleri, içerikleri ve testlerin<br>yapılışı .....                 | 63    |
| 3.6. Kongo Kırmızılı Agar Yöntem ile Slime Faktörün Belirlenmesi.....                                                         | 68    |
| 3.6.1. Congo Red Agar .....                                                                                                   | 68    |
| 3.7. Gram (-) ve Gram (+) Bakteri Türlerinin Antibiyotik Dirençlilikleri .....                                                | 69    |
| 3.7.1. Kirby –Bauer disk diffüzyon yöntemi .....                                                                              | 69    |

**Sayfa**

|                                                                                        |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.7.2. <i>Enterococcus</i> türlerinin antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi ..... | 72  |
| 4. BULGULAR .....                                                                      | 75  |
| 5. TARTIŞMA .....                                                                      | 85  |
| 6. SONUÇ .....                                                                         | 97  |
| KAYNAKLAR .....                                                                        | 101 |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                                         | 119 |



## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

| Çizelge                                                                                                                                                 | Sayfa |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Çizelge 1.1. <i>Enterococcus</i> cinsi içerisinde yer alan türler .....                                                                                 | 3     |
| Çizelge 1.2. Antibakteriyel ajanların etkinlik mekanizmaları ve bu mekanizmalara karşı bakterilerin oluşturduğu dirençliliğin moleküler esası.....      | 17    |
| Çizelge 3.1. Balık örneklerinden izole edilen Gram (-) bakteri türleri için kullanılan antibiyotik diskleri ve duyarlılık sınırları.....                | 70    |
| Çizelge 3.2. Balık örneklerinden izole edilen Gram (+) bakteri türleri için kullanılan antibiyotik diskleri ve duyarlılık sınırları.....                | 72    |
| Çizelge 3.3. Fermente et örneklerinden izole edilen <i>Enterococcus</i> türleri için kullanılan antibiyotik diskleri ve duyarlılık sınırları.....       | 73    |
| Çizelge 4.1. Bağırsak ve solungaç örneklerinden izole edilen bakteri izolatlarının balık türlerine göre dağılımı.....                                   | 75    |
| Çizelge 4.2. Balıkların bağırsak ve solungaçlardan izole edilen Gram (+) ve Gram (-) bakteri türlerinin dağılımı .....                                  | 76    |
| Çizelge 4.3. Balıklardan izole edilen <i>E. cloacae</i> ve <i>E. coli</i> izolatlarının antibiyotik dirençlilikleri .....                               | 77    |
| Çizelge 4.4. Balık örneklerinden izole edilen <i>E.cloacae</i> ve <i>E.coli</i> izolatlarının slime oluşumu.....                                        | 78    |
| Çizelge 4.5. Balıklardan izole edilen <i>S.haemolyticus</i> , <i>S.warnerii</i> , <i>S.aureus</i> izolatlarının antibiyotik dirençlilikleri .....       | 78    |
| Çizelge 4.6. Balık örneklerinden izole edilen <i>S.haemolyticus</i> , <i>S.warnerii</i> ve <i>S.aureus</i> izolatlarının slime oluşumu .....            | 79    |
| Çizelge 4.7. Balık örneklerinden izole edilen <i>Staphylococcus</i> 'ların metisilin direnci ve slime oluşumu .....                                     | 80    |
| Çizelge 4.8. Fermente et örneklerinden izole edilen <i>Enterococcus</i> türlerinin fermente et türlerine göre dağılımı.....                             | 81    |
| Çizelge 4.9. Fermente et örneklerinden izole edilen <i>E. faecium</i> , <i>E. flavescens</i> ve <i>E. spp.</i> , izolatlarının slime oluşumu .....      | 81    |
| Çizelge 4.10. Fermente et örneklerinden izole edilen <i>Enterococcus</i> 'ların antibiyotik dirençliliklerinin fermente et türlerine göre dağılımı..... | 82    |
| Çizelge 4.11. Fermente et örneklerinden izole edilen <i>Enterococcus</i> 'ların antibiyotik dirençlilikleri .....                                       | 83    |

| Çizelge                                                                                                                         | Sayfa |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Çizelge 4.12. Fermente et örneklerinden izole edilen <i>Enterococcus</i> izolatlarında Vankomisin direnci ve slime oluşumu..... | 84    |



## RESİMLERİN LİSTESİ

| Resim                                                                  | Sayfa |
|------------------------------------------------------------------------|-------|
| Resim 3.1. Eosin Methylene Blue (EMB) Agar .....                       | 39    |
| Resim 3.2. Mac Conkey Agar .....                                       | 40    |
| Resim 3.3. Baird Parker Agar .....                                     | 42    |
| Resim 3.4. Blood Agar Base .....                                       | 42    |
| Resim 3.5. Mannitol Salt Agar .....                                    | 43    |
| Resim 3.6. Brain Heart Infusion Broth .....                            | 44    |
| Resim 3.7. Brain Heart Infusion Agar .....                             | 44    |
| Resim 3.8. Oksidaz testi.....                                          | 45    |
| Resim 3.9. Katalaz Testi .....                                         | 46    |
| Resim 3.10. Hareket Testi (Pozitif Sonuç) .....                        | 47    |
| Resim 3.11. İndol testi .....                                          | 47    |
| Resim 3.12. Metil Red testi Resim .....                                | 48    |
| Resim 3.13. Voges Proskauer testi .....                                | 49    |
| Resim 3.14. Sitrat testi .....                                         | 51    |
| Resim 3.15. TSI Testi .....                                            | 52    |
| Resim 3.16. Lizin dekarboksilaz testi .....                            | 53    |
| Resim 3.17. Eskülin testi .....                                        | 53    |
| Resim 3.18. Üre testi.....                                             | 54    |
| Resim 3.19. %6,5'luk NaCl de Üreme Testi .....                         | 55    |
| Resim 3.20. Karbonhidrat fermentasyon testi.....                       | 57    |
| Resim 3.21. Koagülaz testi (+) sonuçları.....                          | 58    |
| Resim 3.22. Nitrat testi (+) ve (-) sonuçları .....                    | 60    |
| Resim 3.23. Slanetz-Bartley Besiyeri .....                             | 62    |
| Resim 3.24. 10 <sup>0</sup> C° de ve 45 <sup>0</sup> C° de üreme ..... | 64    |
| Resim 3.25. Arjinin hidrolizi .....                                    | 67    |

| <b>Resim</b>                                          | <b>Sayfa</b> |
|-------------------------------------------------------|--------------|
| Resim 3.26. Kongo Red Agar .....                      | 69           |
| Resim 3.27. Kirby –Bauer disk diffüzyon yöntemi ..... | 70           |



## SİMGELER VE KISALTMALAR

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

| <b>Simgeler</b>    | <b>Açıklama</b>  |
|--------------------|------------------|
| -                  | Negatif          |
| %                  | Yüzde            |
| +                  | Pozitif          |
| $\Delta$           | Sigma            |
| <b>Cm</b>          | Santimetre       |
| <b>dk</b>          | Dakika           |
| $\gamma$           | Gama             |
| <b>Gr</b>          | Gram             |
| <b>L</b>           | Litre            |
| <b>ml</b>          | Mililitre        |
| <b>mm</b>          | Milimetre        |
| $^{\circ}\text{C}$ | Derece Santigrat |
| <b>pH</b>          | Asitlik değeri   |
| $\alpha$           | Alfa             |
| $\beta$            | Beta             |
| $\mu$              | Mikron           |
| $\mu\text{g}$      | Mikrogram        |

| <b>Kısaltmalar</b> | <b>Açıklamalar</b>         |
|--------------------|----------------------------|
| <b>ATM</b>         | Atmosfer Basıncı           |
| <b>BHI</b>         | Brain Heart Infusion Agar  |
| <b>BHIB</b>        | Brain Heart Infusion Broth |
| <b>BPA</b>         | Baird Parker Agar          |
| <b>CF</b>          | Clumping Factor            |
| <b>Cfu</b>         | Colony forming unit        |

| Kısaltmalar           | Açıklamalar                                |
|-----------------------|--------------------------------------------|
| CLSI                  | Clinical and Laboratory Standard Institute |
| CO <sub>2</sub>       | Karbondioksit                              |
| CRA                   | Congo Red Agar                             |
| <i>E. flavescens</i>  | <i>Enterococcus flavescens</i>             |
| <i>E.cloacae</i>      | <i>Enterobacter cloacae</i>                |
| <i>E.coli</i>         | <i>Escherichia coli</i>                    |
| <i>E.faecium</i>      | <i>Enterococcus faecium</i>                |
| <i>E.spp</i>          | <i>Enterococcus spp.</i>                   |
| HACCP                 | Hazard Analysis and Critical Control       |
| KNS                   | Koagülaz negatif Staphylococcus            |
| KOH                   | Potasyum Hidroksit                         |
| LAP                   | Lösin amino peptidaz                       |
| LPS                   | Lipopolisakkarit                           |
| MHA                   | Mueller Hinton Agar                        |
| MİK                   | Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu          |
| MR                    | Metil Red                                  |
| MRSA                  | Metisilin Resistance <i>S. Aureus</i>      |
| MSA                   | Mannitol Salt Agar                         |
| NA                    | Nutrient Agar                              |
| NaCl                  | Sodyum klorür                              |
| NH <sub>3</sub>       | Amonyak                                    |
| PW                    | Pepton Water                               |
| QS                    | Quorum Sensing                             |
| <i>S. aureus</i>      | <i>Staphylococcus aureus</i>               |
| <i>S.haemolyticus</i> | <i>Staphylococcus haemolyticus</i>         |
| <i>S.warnerii</i>     | <i>Staphylococcus warnerii</i>             |
| SPP.                  | Tür                                        |
| TSA                   | Tryptic Soy Agar                           |
| TSB                   | Tryptic Soy Broth                          |
| TSE                   | Türk Standartları Enstitüsü                |
| VAN                   | Vankomisin Direnci                         |
| VB.                   | Ve benzeri                                 |

**Kısaltmalar****Açıklamalar****VRE**Vankomisine Dirençli *Enterococcus***YY.**

Yüzyıl



## 1. GİRİŞ

### Enterococcus türlerinin genel özellikleri

*Enterococcus*'lar (Enterococcaceae) Gram pozitif, katalaz negatif koklar olup insan ve hayvanlarda önemli sağlık sorunlarına neden olabilen fırsatçı patojenlerdir. Yaygın olarak deri, alt solunum yolu, gastrointestinal ve ürogenital sistem florasında bulunmakla birlikte, idrar yolu infeksiyonları, menenjit, endokardit gibi endojen ve ekzojen kaynaklı infeksiyonlara da neden olabilmektedirler (Schouten ve diğerleri 1999; Dargere ve diğerleri 2002; Devriese ve diğerleri 2006). *Enterococcus* türleri arasında hastalık olgularından en çok izole edilenlerin *Enterococcus faecalis* ve *E. faecium*, daha az oranda ise *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. raffinosus*, *E. solitarius* ve *E. hirae* gibi türler olduğu bildirilmiştir (Schouten ve diğerleri 1999; Rodrigues ve diğerleri 2002).

*Enterococcus*'lar aerobik ya da fakültatif anaerobik, Gram (+), katalaz (-), kok şeklinde bakterilerdir. Gelişebilmeleri için B vitaminleri ve bazı temel amino asitler açısından diğer Gram (+) bakterilerden daha fazla miktarda besin maddesine ihtiyaç duyarlar. Bu bakteriler Lancefield D grubu içinde yer alırlar. Laktoz fermentasyonu oluşturabilirler, arabinoz pozitif ve pürivat negatif bakterilerdir. Karbonhidratların fermentasyonu ile L (+) laktik asit oluştururlar ve laktik asit fermentasyonu yapabilmelerinden dolayı tipik homofermentatif laktik asit bakterileri olarak da adlandırılırlar, ama gaz oluşturmazlar (Karataş, 2005; Komprda ve diğerleri, 2010).

İdeal üreme ısıları 35°C'dir. %6.5 NaCl bulunan besiyerinde ürerler. Besiyerinde %40 safra varlığında eskülini hidrolize ederler. *E. cecorum*, *E. columbae* ve *E. saccharolyticus* dışında tüm *Enterococcus*'lar, PYR (L-pyridonidonyl-beta-naphthylamide) pozitifdir. Suşların tamamı lösinaminopeptidaz (LAP) oluşturur. *Enterococcus*'lar glukozdan gaz oluşturmazlar ve glikoz fermentasyonunun son ürünü olarak laktik asit üretirler. 60° C' sıcaklıkta 30 dakikaya kadar dayanıklıdırlar. Kanlı agarda 0,5-1,5 mm boyutunda, (streptokoklardan daha büyük) kabarık, gri-beyaz renkte koloniler oluştururlar. *Enterococcus*'lar bazen zayıf bir alfa hemoliz meydana oluşturabilirler ancak genellikle nonhemolitiklerdir. *E. faecalis* ve *E. durans* suşları kanlı agarda beta-hemoliz yapabilirler. *E. faecalis*'in bazı suşları at veya tavşankanı içeren besiyerlerinde beta hemoliz meydana getirmelerine rağmen, koyun kanı içeren besiyerlerinde hemoliz yapmazlar (Barbosa, 2009; Sayiner, 2008; Ortigosa, 2008).

*Enterococcus*'lar laboratuvar ortamında kolayca üretilmesi ve uzun süre canlılığını korunması açısından kolaydır. *Enterococcus*'ların büyük çoğunluğu 60 °C'de 30 dk sıcaklığa dayanıklıdır. Buzdolabı sıcaklığında aylarca, -70°C'de yıllarca saklanabilir, fakat dondurma ve eritme işlemleri bakterilerin yaşam sürelerini kısaltır. Normal etüv de ve her türlü besiyerinde kolaylıkla ürerler. Trypticase-soy- buyyon, %5 koyun kanlı agar, Brain-Heart infüzyon agar ya da herhangi bir kanlı besiyeri bakterinin üremesini destekler. İzolasyonlarında seçici besiyerleri kullanılabilir. Azid içeren besiyerleri seçici izolasyonda başarılıdır (Sayiner, 2008). Slanetz Bartley besiyeri *Enterococcus*'lar için seçici besiyeridir (Nováková, 2010).

*Enterococcus*'ların tiplendirilmesi için çeşitli moleküler teknikler kullanılmaktadır. Ayrıca bakteriyosin tiplendirmesi, faj tiplendirmesi, biyokimyasal reaksiyon profilleri, antimikrobiyal direnç paternleri ve serolojik yöntemler de kullanılabilir (Sayiner, 2008).

*Enterococcus*'lar içerisinde mannitol, sorbitol, sorboz bulunan sıvı besiyerlerinde asit oluşturma ve arjinini hidrolize etmelerine göre beş gruba ayrılırlar.

Grup 1: *E. avium*, *E. malodoratus*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium*, *E. saccharolyticus*, *E. pallens*, *E. gilvus*'dan oluşur. Bu türler mannitol, sorbitol ve sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturur, ancak arjinini hidrolize etmezler (Tekin, 2004).

Grup 2: *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. casseliflavus*, *E. haemoperoxidus*, *E. mundtii* ve *E. gallinarum*'dan oluşur. Bu gruptaki türler arjinini hidrolize ederler, mannitol içeren sıvı besiyerinde asit oluştururlar, sorboz içeren sıvı besiyerinde asit oluşturmazlar ve sorbitol içeren sıvı besiyerinde değişken reaksiyon gösterirler (Tekin, 2004).

Grup 3: *E. villorum*, *E. dispar*, *E. durans*, *E. hirae*, *E. ratti* ve *E. faecalis* ile *E. faecium*'un mannitol negatif varyantları bu grubu oluşturur. Bu gruptaki türler D antijeni içermez, arjinini hidrolize ederler, fakat mannitol, sorboz ve sorbitol içeren sıvı besiyerlerinin hiçbirisinde asit oluşturmazlar (Tekin, 2004).

Grup 4: *E. sulfurens*, *E. asini*, *E. phoeniculicola* ve *E. cecorum* bu grupta bulunmaktadır. Bu gruptaki türler mannitol ve sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmaz ve arjinini

hidrolize etmezler. Sorbitol içeren sıvı besiyerinde ise *E. cecorum* asit oluştururken, *E. sulfurens* asit oluşturmaz (Tekin, 2004).

Gramup 5: *E. columbae*, *E. canis*, *E. moraviensis* bu grupta bulunur. Bu gruptaki türler arjinini hidrolize etmezler, mannitollü sıvı besiyerinde asit oluştururlar, sorbozdan asit oluşturmazlar ve sorbitollü sıvı besiyerinde değişken reaksiyon verirler (Tekin, 2004).

*Enterococcus* türleri karşılaştırıldığında son zamanlarda tanımlanan türlerin fizyolojik ve biyokimyasal davranışlarında önemli farklılıklar gözlenmiştir. Bunlar 16S rRNA dizilimlerine göre 26 tür olarak tanımlanmıştır. Günümüze kadar tanımlanmış olan 26 *Enterococcus* türü Çizelge 1.1’de sunulmuştur (Klein, 2003).

Çizelge 1.1. *Enterococcus* cinsi içerisinde yer alan türler (Klein, 2003)

|                          |                      |                           |                         |
|--------------------------|----------------------|---------------------------|-------------------------|
| <i>E. haemoperoxidus</i> | <i>E. asini</i>      | <i>E. dispar</i>          | <i>E. mundtii</i>       |
| <i>E. porcinus</i>       | <i>E. raffinosus</i> | <i>E. saccharolyticus</i> | <i>E. casseliflavus</i> |
| <i>E. pseudoavium</i>    | <i>E. gallinarum</i> | <i>E. faecalis</i>        | <i>E. avium</i>         |
| <i>E. malodoratus</i>    | <i>E. cecorum</i>    | <i>E. faecium</i>         | <i>E. ratti</i>         |
| <i>E. flavescens</i>     | <i>E. sulfureus</i>  | <i>E. durans</i>          | <i>E. solitarius</i>    |
| <i>E. columbae</i>       | <i>E. gilvus</i>     | <i>E. hirae</i>           |                         |
| <i>E. villorum</i>       | <i>E. pallens</i>    | <i>E. moraviensis</i>     |                         |

Sitolizin, hemolitik özellik taşımaktadır. Sitolizinin immun sistem üzerinde makrofaj ve polimorfonükleer lökositlere zarar verici etkisi olduğu ve direkt doku harabiyeti yapabildiği gösterilmiştir. *Enterococcus*’lar ayrıca çok sayıda gram pozitif bakteriyi etkileyebilen bakteriyosin olarak da işlev gördüğü gösterilmiştir. İnsanlarda patojen olan *Enterococcus* suşları arasında, sitolizin üretenlerin, nonpatojen olduğu düşünülen suşlardan fazla olduğu gösterilmiştir. Salgınlardan izole edilen *E. faecalis* suşlarında sitolizin üretimi % 60’ lara varabilen sıklıkta saptanabilen bir virülans faktörüdür (Sayiner ve diğerleri, 2008).

Agregasyon faktörü, bir yüzey proteindir. Birçok özelliği ile bakterinin virülansına katkıda bulunmaktadır. Etkin alıcı ve verici hücre birleşmesini sağlayarak plazmid transferini kolaylaştırmaktadır (Sayiner ve diğerleri, 2008).

Özellikle *E. faecium* ve *E. faecalis* suşlarında bulunabilen, tavşan, insan, at, sığır eritrositlerini hemoliz eden hemolizinler virülans rol oynar. Toksik aktivitesi ile birlikte çok sayıda Gram pozitif bakteriyi etkileyebilen bakteriyosin olarak da işlev gördüğü gösterilmiştir. (Sayiner ve diğerleri 2008).

Jelatinaz enzimi üretme yeteneğine sahip olan ve olmayan izojenik *E. faecalis* suşları arasında yapılan çalışmalarda, jelatinaz enzimi üretme yeteneğindeki suşların akut toksik etkilerinin üretmeyen suşlara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Sayiner ve diğerleri, 2008).

İlk kez *E. faecalis* türlerinde tanımlanan ekstraselüler yüzey proteininin kompleks bir yapılıması bulunmaktadır. Karboksi ucu hücre duvarına tutunmayı sağlarken, proteinin iç kısmında tekrarlayan ünitelerden oluşan ve moleküle uzayıp kısalabilme özelliği kazandıran bölge bulunmaktadır. Bu proteinin bakterinin immün yanıtı kaçımasını kolaylaştırdığı düşünülmektedir (Sayiner ve diğerleri, 2008).

Lipoteikoik asit, *Enterococcus*'ların D Grubu antijenini oluşturur. Tümör nekroz faktör ve interferon salınmasına neden olarak, immün cevabın düzenlenmesini sağlar (Sayiner ve diğerleri, 2008).

*Enterococcus*'ların patojenite faktörlerinden birisi de yaygın olarak antibiyotiklere karşı direnç gösterme özellikleridir (Shankar ve diğerleri, 2004; İşleroğlu ve diğerleri, 2008). *Enterococcus*'larda antibiyotiklere karşı olan direnç detaylı olarak araştırılmıştır (Fisher ve Philips, 2009). *Enterococcus*'lar yarı sentetik penisilinlere (ör; oksasilin), aminoglikozidlere (düşük seviyede), vankomisine (*E. gallinarum*, *E. casseliflavus* ve *E. flavescens* gibi bazı türler düşük seviyede), likosamidlere (çoğunda), polimiksinlere, streptogramin A (*E. faecalis*) ve monobaktamlara karşı doğal dirence sahiptirler (Poeta ve diğerleri 2005). Antibiyotiklere karşı oluşan doğal direnç kromozomlar üzerindeki genler aracılığı ile meydana gelirken, kazanılmış olan direnç ise plazmidler veya transpozonlar aracılığı ile meydana gelmektedir (Sarantinopoulos ve diğerleri, 2001, İşleroğlu ve diğerleri, 2008).

#### *Staphylococcus* türlerinin genel özellikleri

*Staphylococcus*'lar Micrococcaceae (Staphylococcaceae) familyası içinde yer alan, katalaz pozitif, Gram pozitif koklardır. İnsanda en sık hastalığa neden olan türler ise *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus*'tur. *Staphylococcus*'lar doğada; tozda, toprakta, hayvanların deri, mukoza dokularında yaygın olarak bulunan, insanların deri, burun boşluğu ve lezyonlarında çoğalan bakterilerdir. İnsan ve hayvanların üst solunum yolları ve derileri üzerinde normal florayı oluşturan ve doğada çok yaygın olarak bulunan *Staphylococcus*'lar,

potansiyel patojen bakteriler olup sporadik veya salgın şeklinde görülebilen *Staphylococcus* enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Bulundukları ortamda çeşitli toksin ve enzimler sentezleyerek insan ve hayvanlarda enfeksiyonlara neden olurlar (Bannerman ve diğerleri, 2006; Crossley ve diğerleri, 2009).

*Staphylococcus* 'lar, yuvarlak, Gram pozitif, hareketsiz, sporsuz, fakültatif anaerob (sadece *S. saccharolyticus* anaerob), katalaz pozitif, oksidaz negatif ve üzüm salkımı şeklinde kümeler tarzında 0.5-1.5 µm çapında koklardan oluşmaktadır. Eski kültürlerde bazı koklar çabuk rengsizleşerek Gram negatifmiş gibi görünürler.

Rutin olarak kullanılan besiyerlerinde kolayca ürerler ve 37 °C'de 24-48 saat içinde 2-4 mm çapında düzgün koloniler meydana getirirler. *Staphylococcus* 'lar karotenoidlerden dolayı pigment oluştururlar. Anaerobik koşullarda ise pigment oluşturma yeteneği ortadan kalkmaktadır.

Laboratuvarında 10-42 °C'de üreyebilmelerine rağmen optimum üreme ısısı 37 °C'dir. Jeloz besiyerlerinde bolca ürerler ve yuvarlak, kenarları mat, kabarık, parlak, S tipinde koloniler yaparlar. Gerek bu kolonilerin ve gerekse katı besiyerlerindeki üreme ortamının renkleri *Staphylococcus* 'larda bazı ayrılıklar gösterirler. *S. aureus* altın sarısı, *S. epidermidis* ise porselen beyazı renginde koloni meydana getirir. İnsanlarda hastalık etkeni olan *Staphylococcus* 'ların kökenleri sarı ve turuncunun arasında çeşitli renklerinde koloni yapabilirler. Pigmentleri karotenoid yapısında olup hücre zarında yer almaktadır ve oluşması üreme ortamı koşullarından etkilenmektedir.

Kanlı agar (Blood Agar) plaklarında üretilen *Staphylococcus* 'ların çoğu kolonilerinin etrafında tam hemoliz yaparlar, diğerleri ise hemoliz oluşturmazlar. Alfa hemoliz yapan *Staphylococcus* 'lar tesbit edilmemiştir. Spor oluşturmamalarına rağmen dış etkenlere ve dezenfektanlara karşı oldukça dayanıklıdır. Kültürler de 4 °C'de 2-3 ay, -20 °C' de 3-6 ay canlılıklarını koruyabilirler. *Staphylococcus* 'lar 60 °C'lik ısıya 30 dk dayanabilirler. Lizostafin *Staphylococcus* 'ları eritir ancak lizozime direçlidirler. Fenolde (%2) 15 dakikada inaktive olurken, %9'luk NaCl ve sakkaroz tolerans gösterebilmektedirler ve halofilik bakteri grubunda yer alırlar. %40 safra bulunan ortamlarda üreyebilirler. (Goodfellow ve diğerleri, 2012; Bannerman ve diğerleri, 2006).

İntoksikasyon tipi gıda zehirlenmelerine neden olan *S. aureus* enterotoksinleri içerisindeki en toksik olan enterotoksin A, ısıya en dayanıklı olan toksin ise enterotoksin B' dir. Enterotoksin B için 20-25 µg, enterotoksin A için 1 µg hatta 0,1-0,2 µg alınması intoksikasyonlara neden olabilir. Diğer taraftan *S. aureus* intoksikasyonlarının oluşması için bakterinin gıdada çoğalarak hücre sayısını 6 log kob/g düzeyine veya üzerine çıkarması gerekmektedir (Tunail, 2000).

*S. aureus*'tan dışında enterotoksin oluşturan suşlar da bulunur. Bunların arasına yenileri de eklenmektedir. Bu zamana kadar enterotoksin oluşturdugu belirlenenler; *S. haemolyticus*, *S. xylosus*, *S. equorum*, *S. lentus*, *S. capitis*, *S. intermedius*' dur (Tunail, 2000).

Anaerob ortamda birçok karbohidratı metabolize ederek asit oluşturlar fakat arabinoz, sellobiyoz, dekstrin, inositol, rafinoz ve ksilozdan asit oluşturmazlar. *S. aureus*'u diğer türlerden ayıran özellikleri anaerobik ortamda glukozu fermente etmeleri ve K-toksin oluşturmalarıdır (Atıcı, 1999).

*S. aureus*'un toksin üretimini etkileyen diğer faktörler; pH, atmosfer şartları, diğer mikroorganizmaların varlığıdır. Son yıllarda *S. aureus*' un toksin oluşturma mekanizmasının "Quorum Sensing" (QS) denilen bakterilerin yeterli hücre yoğunluğuna ulaşması ile bağlantılı, bakteriler arası sosyal davranış biçimlerinden birisi olduğu belirlenmiştir (Bilge ve Karaboz, 2005).

*S. aureus* insanlarda hastalık etkeni olarak sık rastlanmakta ve virülans düzeyi yüksek bir bakteridir. Penisilinin tedaviye 1945' te girmesinden itibaren *S. aureus* suslarında β-laktamaza bağlı penisilin direncinin 5 yıl içerisinde % 50' lere kadar çıkmıştır. Bugün penisilin direnci % 95' in üstündedir. 1960 yılında penisilinaza dayanıklı semisentetik penisilin olan metisilinin kullanıma girmesi ile birlikte bir yıl içinde metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) susları Avrupa' da saptanmaya başlanmıştır (Dündar, 2000).

*S. aureus* civa klorür, civa, tellürit ve sodyum azid gibi kimyasal maddeler ve neomisin, polimiksin gibi birtakım antibiyotiklere karşı da direnç göstermektedir (Tunail, 2000).

Slime üretimi *Staphylococcus*'larda önemli bir patojenite faktörü olarak kabul edilmektedir. Bu faktörün mikroorganizmanın konak hücreye veya yapay yüzeylere adezyonunu

sağlayarak etkili olduğu gösterilmiştir (Christensen ve diğerleri, 1994; Keskin ve diğerleri, 2003; Cengiz ve diğerleri, 2004).

*Staphylococcus*'ların değişik virulans fakörleri ve toksijenik mekanizmalarından dolayı in vivo ve in vitro olarak üretildiği ortama salgıladıkları konakçı üzerine etkili olan  $\alpha$ -toksin,  $\beta$ -hemolizin,  $\gamma$ -hemolizin, epidermolitik toksin, pironejenik toksin, leukosidinler, stafilokoagulaz, enterotoksin, bakteriyosin ve mikotoksinler, lizozim, nükleazlar (DNaz ve RNaz), slime faktör, hyaluronidaz gibi ekstraselüler, peptidoglikan, kapsüler substantlar, clumping faktör ve protein-A gibi maddeleri vardır. Bunlardan ekstraselüler olanların patojenite ile yakından ilişkili olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Yukarıda adı geçen ekstraselüler maddelerin tespit edilmesi *Staphylococcus*'ların cinsinin üyelerinin tanınmasında çok önemli rol almaktadır.

*Staphylococcus*'lar sentezledikleri koagülaz enzimi sayesinde bir fibrin tabakasıyla kaplanarak fagositozdan korundukları gibi normal serumun bakterisid etkisini de engelleyerek patojenite kazanmış olmaktadır (Goodfellow, 2012; Bennett, 2013).

*Staphylococcus* türlerinde koagülaz üretiminden sonra deoksiribonükleaz (DNaz) aktivitesi patojeniteyi belirleyen en önemli özelliklerden birisidir (Bayraktar, 2004).

TNase testi *S. aureus*'un ısıya dayanıklı deoksiribonükleazını ortaya çıkarmak nedeniyle onu diğer mikroorganizmalardan ayırt etmekte kullanılan bir testtir. (Bennett, 2013).

*S. aureus*'un neredeyse bütün suşları hemolizin enzimi üretir. Salgılanan bu enzimin dört farklı sitotoksik molekülü vardır. Hemolizin tipleri; alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ), gamma ( $\gamma$ ) ve delta ( $\Delta$ ) olarak bulunmaktadır. Hemolizin proteinlerin esas görevi konakçı dokularını, bakterinin gelişmesine uygun hale getirmektir (Müşak ve Esenal, 2008).

Üreaz, üre siklusunda ve aminoasit metabolizmasında rol oynayarak üre yıkımı sonucunda CO<sub>2</sub> ve NH<sub>3</sub> oluşturur. NH<sub>3</sub> dokular için toksiktir. Aşırı amonyum, bakteriler için de toksik olabilir. Bu kimyasaldan çeşitli enzimler ve kombine detoksifikasyon mekanizmalarıyla korunabilirler. Üreaz aktivitesinin biyofilm oluşumunun sürdürülmesinde önemli olduğu bildirilmektedir (Chakraborty ve diğerleri, 2011).

*Staphylococcus* 'lar stafilokinaz enzimi sayesinde fibrinolitik etki yapmaktadır. Plazminojen veya profibrinolizin isimli maddeyi aktive ederek plazmin (fibrinolizin) oluşturmaktadır (Baird-Parker, 1963).

Gıdaların çoğu hidroliz olmaya uygun ve önemli miktarda yağ içermektedir. Yağların hidrolizi sonucunda yağ asitleri serbest hale geçerek istenmeyen tat ve aroma değişiklikleri ortaya koymaktadır. Lipolitik değişiklikler gıdalarda bazen istenmeyen durumlar meydana getirmektedir. *Staphylococcus* 'lar ürettikleri lipolitik enzimler ile gıdalarda bozulmalara neden olmaktadır (Fischetti ve diğerleri, 2006; Von Eiff ve diğerleri, 2002).

*S. aureus* izolatlarının birçoğu tarafından üretilen kazeinaz, özellikle süt kazeini üzerinde proteolitik etkiye sahiptir. Bu aktiviteden dolayı kazeini pıhtılaştırarak sütün anormal bir şekil almasını sağlar (Fischetti ve diğerleri, 2006; Chakraborty ve diğerleri, 2011).

Çoğunlukla *S. aureus* ve *S. intermedius* suşlarında hücre duvarlarında antijenik spesifiteye sahip, Protein A (SP-A) olarak adlandırılan, protein yapısında komponentler yer alır. Özellikle *S. aureus*'un hücre duvarı komponentlerinden biri olan SP-A'nın büyük bir kısmı kovalent bağlarla peptidoglikan tabakaya bağlanmıştır, bir kısmı ise bir stafilolitik enzim olan lizostafinin aktivitesine ekstraselüler olarak serbestçe ortama salınmaktadır. (Schleifer, 1986; Carbonnelle ve diğerleri, 2007; Fischetti ve diğerleri, 2006)

*Staphylococcus* 'lar sahip oldukları hyalüronidaz enzimi ile bağ dokusunun hücre matriksindeki mukopolisakkarit asidin bir grubu olan hiyalüronik asidi hidroliz eder. Çoğu *S. aureus* izolatu tarafından sentezlenen bu enzim, yumurta sarısı ve insan serumunda bulunan lipoprotein kompleksini ayrıştırma özelliğine sahiptir (Baird-Parker, 1963).

Slime oluşumu ilk kez 1982 yılında Christensen tarafından *S. epidermidis* için tanımlanmıştır. Slime üretimi kommensal *Staphylococcus*larda da görülmekle beraber, klinik anlamlı yabancı cisim enfeksiyonu yapan KNS'lerde dahafazla yaygındır. Slime üretimi ile, klinik anlam taşıyan enfeksiyon arasında, istatistiksel açıdan önem taşıyan ilişki olduğu gösterilmektedir. Genel olarak *Staphylococcus*lar tarafından slime üretimi aerobik ortamda, anaerobik ortama göre daha fazla görülmektedir. (Altay ve Akan, 2003; Arciola, ve diğerleri, 2002; Usluer ve Akgün, 2009).

*S. aureus* uygun olan bir ortamda hızla çoğalmakla birlikte suşa bağlı olarak A, B, C1, C2, C3, D, E, F, G, H toksinlerinden birini veya birçoğunu oluşturabilmektedir. F toksini "Toksik Şok Sendromu Toksini" (TSST-1) olarak adlandırılmaktadır ve ciddi toksik rahatsızlıklara da yol açmaktadır. (Le Loir ve diğerleri, 2003; Johnson ve diğerleri, 1991)

*Staphylococcus* 'lar bulundukları ortamda kendilerine özgü toksin ve çeşitli enzimler sentezleyerek insan ve birçok hayvanlarda enfeksiyona yol açabilmektedir. (Bennett, 2013; Le Loir, 2003).

#### Enterobacteriaceae familyasının genel özellikleri

Enterobacteriaceae familyası içerisinde yer alan türler çevrede yaygın olarak bulunmaktadırlar. İnsan ve hayvanların bağırsak florasında doğal olarak bulunan bazı türler; *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Morganella* spp., *Providentia* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp.'dir (Murray ve ark. 2005; Paterson, 2006; Falagas ve Bliziotis, 2007). Bu suşlar; *E.coli*'nin bazı türleri gibi kommensal olarak zararsız olsalar da, diğerleri hayvanlarda ve insanlarda patojen olarak bulunmaktadırlar. Enterobacteriaceae'lar geniş bir alana yayılmaları sebebiyle Enterobacteriaceae üyelerinin besin zincirine de bulaşmaları kaçınılmazdır (ILSI,2011).

Enterobacteriaceae familyasının üyeleri Gram negatif, kısa ve ya uzun sporsuz, basil şeklinde bakterilerdir. Bazısı hareketsiz olmakla beraber çoğu hareketli olup peritriş flagellaya sahiptir. Aerob ve fakültatif anaerobturlar. Tümü glukozu aerobik ve anaerobik ortamda hem asit hem de gaz oluşturarak fermente ederler. Nitratları nitrite indirgerler. Hepsi oksidaz negatif ve katalaz pozitifdir. Genel kullanım besiyerlerinde kolayca ürerler. Selenit buyyonu, MacConkey, Salmonella Shigella agar, Kanlı agar kullanılan başlıca besiyerleridir (Bertiken 2005; Murray, 2009).

Optimum üreme sıcaklıkları 37 °C' dir. Çoğu pigmentsiz olmasına rağmen bazıları kırmızı ve sarı pigment yapabilir. Katı besiyerinde S, M (kapsüllü) veya R (avirulan) tipi koloni oluştururlar. Çok az tür (*Proteus vulgaris*, *P. mirabilis*) besiyerine yayılarak ürediğinden koloni oluşturmaz (Bertiken, 2005).

Enterobacteriaceae familyası içerisinde; insan ve hayvan bağırsak florasında sürekli olarak bulunanlar, bağırsak florasında bazen bulunanlar ve bir kısmı bitkilerde patojen olan bakteriler yer almaktadır (Bilgehan, 1993).

Bu familya üyelerinden birçoğu için bağırsaklar iyi bir üreme ortamı teşkil eder. Onlara genellikle bağırsakta yaşayan anlamına gelen enterik bakteriler denir. Familyanın ismi de yine onların bulundukları yere izafeten verilmiştir (Bilgehan, 1996).

Familya içerisinde koliform mikroorganizmalar olarak gruplandırılan bakteriler vardır. Bu grup içinde bulunan önemli türler; *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*'dir. Fekal koliform olarak ayrımı yapılan grup ise, insanların da dahil olduğu sıcak kanlı hayvanların sindirim sistemlerinde yaşayan mikroorganizmalardır. Bu bakteriler dışkı, gübre gibi kaynaklardan doğrudan veya dolaylı yoldan gıdalara bulaşabilir. *Klebsiella* ve *Citrobacter* cinsleri de fekal koliform olarak kabul edilse de, fekal koliformlar yüksek oranda *E. coli*'den oluşmaktadır (Kalafatoğlu, 1995).

Birçok Enterobacteriaceae türlerinin tehlikeye açık kimselerde (Örneğin: zayıf, diyabetli, immun yetmezlikli, immunosupressif ilaç kullanan, yanıklı, kanserli, yaşlı ve kateterli kimseler ) fırsatçı patojen olarak birçok hastalıklara yol açtıkları ve bu hastalık örneklerinden başta *E.coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Providencia*, *Serratia* ve *Salmonella* olmak üzere birçok bakterilerin izole edildiği ve ayrıca yine bunların birçoğunun hastane enfeksiyonu etkenleri olarak görüldükleri bilinmektedir (Murray, 2009).

Enterobacteriaceae ailesi bakterilerde antibiyotik direnci, antibiyotik ilk tedaviye konulduğunda yüksek oranda duyarlı bulunurken, uygulamadan bir süre sonra yaygın ve gittikçe artan oranda direnç saptanabilmektedir. Direnç oranları coğrafik bölgelere ve türlere göre farklılık gösterir. Doğal(kendiliğinden) ve kazanılan olmak üzere iki çeşit direnç mekanizması vardır. İntrinsik tip antibiyotik henüz kullanıma girmeden önce saptanan genetik özelliktir. Kazanılan tip antibiyotik kullanımının selektif baskısı sonucu suşların çoğunda görülen dirençtir. Genetik çalışmalar, oldukça yüksek oranda saptanan bu direncin pilazmitler aracılığıyla taşındığını ortaya koymuştur (Bertiken, 2005).

*Escherichia* cinsi, Enterobacteriaceae familyasında tanımlanan hareketli ve hareketsiz bakterilerden oluşmaktadır. *Escherichia* türleri; *E. coli* (inactive), *E. fergusonii*, *E. hermannii*, *E. vulneris*, *E. blattae*'dir. Tipik tür *E. coli*'dir *E.coli*, 1,1-1,5 x 2,0-6,0 µm boyutlarında çomak şeklinde, sporsuz, hareketli, fakültatif anaerobik bir bakteridir. Hareketsiz suşları da vardır. Birçok karbonhidratı asit ve gaz oluşturarak fermente eder. Nitratları nitrite indirger. Nutrient agar, kanlı agar ve enterobakterilerin diferensiyel ve selektif besiyerlerinde (EMB, MacConkey agar) kolayca ürerler (Murray, 2009).

Bu bakteriler şekerleri asit ve gaz oluşturarak parçalar, laktozu ve mannitolu ayrıştırır indol testinde ve metil kırmızısı testinde pozitif, Voges-proskauer testinde ise negatif sonuç verirler. Sitratlı ve KCN'li besiyerlerinde üremezler. Çoğu üreyi parçalayamaz ve fenilalanini deamine edemez ve H<sub>2</sub>S oluşturmazlar. Glukonatları oksitlemez ve lizin dekarboksilaz, glutamik asit dekarboksilaz yaparlar. Fakültatif anaerobdurlar. Optimal üreme sıcaklıkları 37°C'dir. 15°C-45°C sıcaklık aralığında üreyebilirler (Donnenberg, 2005).

*E.coli* fiziksel ve kimyasal etkenlere karşı oldukça dayanıklıdır. Doğal ortamlarda aylarca canlılığını yitirmeden kalabilir. Genel olarak dezenfektanlara, bazı boya maddelerine, safra ve safra tuzlarına ve %7 NaCl'ye karşı duyarlı fakat ısı ve soğuğa karşı dirençlidirler. Fenol ve kreosol gibi dezenfektanlara karşı dirençlidir ve 55°C' de 1 saatlik ısıtma ile inaktive olmaz (Arda, 1997).

*E.coli*'de O somatik, H kirpik antijeni bir de K kapsül antijeni bulunur. O Antijenleri: Somatik, ısıya dayanıklı lipopolisakkarit yapısında antijenlerdir. Kaynatmaya ve alkole dirençli, formole dayanıksızdır. H antijenleri: Miktarca az ve monofazik olan koli kirpik antijenleri hareketli kökenlerde bulunurlar, protein yapısında ve termolabildirler. 100°C'de ısıtılmakla, alkol ve proteolitik fermentlerle harap olurlar, formole dayanırlar. K antijenleri: Kapsül antijenleri niteliğindeki antijenlerdir. Bu antijenleri bulunduran *E.coli* bakterileri O antiserumları ile aglütine olmazlar. Fimbria antijenleri: MR fimbriaları bulunduran *E.coli* bakterilerinde özel fimbria antijenleri de bulunur (Murray, 2009).

*Enterobacter*'ler yaklaşık olarak 0,6–1,0 µm'ye 1,2 – 3,0 µm boyutlarında, peritriş flagellalarıyla hareketli düzgün çomakçıklardır. Sporsuz çoğu kez kapsülsüz, kapsüllü olmaları halinde de ince bir kapsüle sahip olan bakterilerdir. Başta glukoz olmak üzere şekerleri asit ve gaz oluşturarak parçalarlar. Genel kullanım besiyerlerinde kolayca

üreyebilirler. Klinik suşlar genellikle 37°C 'de, çevreden izole edilen suşlar ise 20-30°C 'de üreme gösterirler (Bilgehan, 1993).

*Enterobacter*'ler fakültatif anaerob bakterilerdir. *Enterobacter* türlerini *Klebsiella*'larla pek çok ortak özellikleri bulunur. *Klebsiella* gibi laktozu fermente ederler, VP oluştururlar ancak *Klebsiella*'nın aksine hareketli bakterilerdir ve genellikle ornitini dekarboksile ederler. Oluşturdukları hücre dışı kapsül metaryali genellikle *Klebsiella* kadar fazla değildir. Tür ayrımı çeşitli biyokimyasal özelliklerine göre yapılır (Öngen, 2005).

*Enterobacter cloacae* O somatik antijenlerine göre 30 kadar tipi ayrılır ve kapsül antijenleri *Klebsiella*'ların kapsül antijenleri ile ilişkili değildir. *E. aerogenes*'in kapsül antijenleri *Klebsiella*'nınki ile benzerlik göstermekte ve izole edilen suşlar *Klebsiella* kapsül antiserumları ile tiplendirilebilmektedir. *Enterobacter*'lerin endotoksini dışında potansiyel virülans özellikleri çok az anlaşılabilmektedir. Serum direnci ve fagositoza direnç sağlayan kapsüllerine ek olarak, *E. cloacae* genellikle aerobaktin oluşturur, doku kültürü hücrelerine tutunur ve olasılıkla *Klebsiella* suşlarında olduğu gibi tip-1 fimbri oluşturmaya bağlı olarak mannoza duyarlı hemagglütinasyon özelliği gösterirler. Shiga toksin oluşturan *E. cloacae* suşları da bildirilmiştir

*Enterobacter*'lere doğada, toprak ve sulara bulunur ve seyrek olarak insan ve hayvanların bağırsak floralarında rastlanılır (Bilgehan, 1993). *Enterococcus* türlerinin bir çok antibiyotiğe doğal olarak dirençli olmaları, plazmid ve transpozon aracılığıyla kazanılmış direncin diğer suşlara da aktarılması, vankomisinde dahil olmak üzere antibiyotiklere çoklu direnç gösteren suşların hızla yayılmasına yol açmıştır (Vural ve diğerleri, 1999).

*Enterobacter*'ler fırsatçı patojen bakterilerdir. Sıklıkla izole edilen türleri *E. cloacae* ve *E. aerogenes* ve *E. sakazakii*'dir. *Enterobacter* enfeksiyonlarının kaynağı daha çok hastaların endojen barsak floralarındaki *Enterobacter* suşlarıdır; aynı zamanda hastadan hastaya da yayılırlar. *E. sakazakii*'nin başta menenjit ve sepsis olmak üzere yenidoğanda enfeksiyonları sık görülür. *Enterobacter*'ler ayrıca endolftalmit, endometrit, yara enfeksiyonları, disk iltihabı, endokardit ve osteomyelit gibi çeşitli enfeksiyonlarda da etken olabilirler (Öngen, 2005).

*E. cloacae* insan gastrointestinal sistemin normal florasında 40 ila% 80 arasında bulunur ve çevrede yaygın bir şekilde bulunur. *Enterobacteriaceae* familyasının çoğu üyesi gibi hastaneye yatmış ve immün yetmezliği olan hastalarda fırsatçı patojen olarak enfeksiyon yapabilir. *E. cloacae* ampisilin, dar spektrumlu sefalosporinler ve geniş spektrumlu sefalosporinlere direnç geliştirmiştir. Biyofilm oluşturma yeteneği ve çeşitli sitotoksin salgılamaları (enterotoksinlerin hemolizinler, gözenek oluşturucu toksin) patojenitesi açısından önemlidir (Dudley ve diğerleri, 1980; Gaston, 1988; John ve diğerleri, 1982).

Çoğu Gramam negatif bakterilerde fimbria veya pili denen yüzey uzantıları vardır. Bu uzantılar bakterinin mukozalara tutunmasını sağlar. Mikroorganizmaların konak dokuya yerleşmesindeki temel basamaktır. P fimbria, üriner yol enfeksiyonu ve kısmen piyelonefrit yapabilen *E. coli* suşları ile; S fimbria ise sepsis veya menenjitli yenidoğanlardaki *E. coli* suşları ile ilişkilidir (Erdem, 1999).

*Enterobacteriaceae* familyası üyelerinde hücre duvarının LPS' inin Lipid A bölümü, endotoksin üretiminden sorumludur (Erdem, 1999).

Genellikle ince barsakları etkileyip bağırsak lümenine bol sıvı atılımına ve sonuçta da diyareye neden olan toksinler ekzotoksinlerdir. Kolera toksinine benzer. Bazı *E.coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii* ve *Enterobacter* suşları enterotoksinler salgılamaktadır (Erdem, 1999).

Hemolizinlerin *E. coli*'nin neden olduğu bazı hastalıklarda önemli olduğu gösterilmiştir. Çeşitli enterobakter suşlarınca salgılanan, hücre dışı ürünlerdir (Erdem, 1999).

*Enterobacterler* konak organizmada canlı kalabilmek ve bağırsak dışı dokulara yayılabilmek için, demir sağlamak üzere, çeşitli mekanizmalar geliştirirler. Birçok enterobakter (*Esherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Enterobacter*) iki tip siderefor (Fenolat siderofor enterobaktin ve hidrosamat siderofor aerobaktin) sentezler (Erdem, 1999).

Kapsül, antikorların bakteriye bağlanma ve lökositlerin bakteriyi fagosite etme özelliğini azaltarak, bakterinin virulansına katkıda bulunur. Kapsülün polisakkarit yapısı kapsülü hidrofilik yapar, bu da fagositozu önler (Erdem, 1999).

İnsanların beslenmesinde et ve et ürünleri büyük bir öneme sahiptir. Fermente et ürünleri, düşük pH ve düşük su aktivitesi, düşük nem içeriği, yüksek tuz konsantrasyonu, ile uzun bir raf ömrüne sahip olan dayanıklı ürünlerdir. Fermente et ürünleri genel olarak belirli oranda et ve yağ parçacıklarının oluşturduğu bir emülsiyonu ile tuz, ve baharat vb'nin belirli bir kılıf içinde fermentasyonun yapılması ve kurutulmasından ibarettir. Fermente et ürünleri, mikroorganizmalarının çoğalmaları ve metabolik faaliyetleri sonucunda elde edilmektedir. Ürünün kalitesi, fermentasyonda görev alan mikroorganizmaların tipine, hammadde seçimine ve üretim aşamasındaki koşullara bağlı olarak büyük değişiklikler göstermektedir. Fermente et ürünlerinin üretilmeleri esnasında biyolojik yöntemlere ek olarak, kurutma ve koruyucu madde ilavesi gibi fiziksel ve kimyasal muhafaza yöntemleri de yer almaktadır. Fermente et ürününün kıvamı, lezzeti, aroması ve renk olgunlaşma sırasındaki bakteriyel, biyokimyasal ve enzimatik reaksiyonlara bağlı olarak oluşmaktadır. Fermente et ürünlerinin olgunlaşması ve buna bağlı olarak kalite niteliklerinin gelişmesinde en önemli faktör fermentasyonda görevli olan bakterilerin bakteriyel aktiviteleridir. Olgunlaşma sürecinde özellikle *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Micrococcus* ve *Staphylococcus*'lar etkili olmaktadır. *Lactobacillus*'lar özellikle olgunlaşma sürecinde meydana getirdikleri laktik asit ile fermente et ürünlerinin yapısal nitelikler, kıvam, renk ve lezzetin gelişmesinde ve patojen mikroorganizmaların baskılanmasında etkili bir rol oynarlar (Danacıoğlu, 2008).

Yeterli çoğunluğu algılama (quorum sensing) olarak bilinen hücre sinyalizasyonunun gıda kaynaklı patojenlerin biyofilm oluşumunda rol oynadığı gösterilmiştir. Bazı bakteri türlerindeki gen ekspresyonu quorum sensing ile düzenlenmektedir. Bu, bakteri tarafından üretilen kimyasal otoendüktör moleküllerinin aracılık ettiği hücre yoğunluğuna bağlı sinyalleme sistemidir. Quorum sensing tarafından düzenlenen hücresel oluşumlara simbiyoz, konjugatif plazmidlerin transferi, sporulasyon, antimikrobiyal peptit sentezi, virülansın düzenlenmesi ve biyofilm oluşumu örnek verilebilir (Donlan 2002; Stoodley ve diğerleri, 2002).

Biyofilm yüzeylerde bakteriler tarafından üretilen proteinler, nükleik asitler ve polisakkaritlerin jel-matriks içinde oluşturduğu mikrokolonidir. Biyofilmin iç kısmındaki hücrelere su ve besin sağlamak için kanallar kullanılır. Bu karmaşık biyofilm ağda, hücreler bireysel davranmaktan çok kolektif yaşayan bir sistem gibi davranırlar. Biyofilm oluşturan organizmalar planktonik hücrelere göre çevresel etkilere veya antibiyotik ve biyositlere karşı önemli ölçüde daha dayanıklıdır. Enfekte dokuların ya da tıbbi cihazlar üzerinde ki mevcut

biyofilm hücrelerinin konak immün yanıtları planktonik hücrelere göre daha az duyarlıdır (Donlan, 2002; Stoodley ve diğerleri, 2002; Sauer, 2003). Genomiks ve proteomiks çalışmalarında gösterildiği gibi biyofilmlerdeki bakterilerin gen ve protein ekspresyonu planktonik hücrelerden farklıdır (Sauer, 2003).

Biyofilm in vitro olarak oluşurken, bakteri hücreleri yüzeye ters bağlanarak ekzopolimerik malzemenin oluşumu ile geri dönüşümsüz bağlanma gerçekleşir. Bu aşamada mikrokolonilerin oluşumu ve biyofilm olgunlaşması başlar. Kümeler halinde bulunan paketlenmiş hücreleri içeren, bu hücreler arasında su, besin ve atık taşınmasını sağlayan kanallar ile üç boyutlu olgun biyofilm oluşur. Hücrelerin biyofilmden ayrılması ile yeni biyofilm oluşumu başlar (Stoodley ve diğerleri, 2002).

Biyofilmler, bakterileri antimikrobiyal bileşiklerin, biyositlerin, kimyasal (örneğin pH ve oksijen gibi) ve fiziksel streslerin (basınç, sıcaklık ve dondurma gibi) inhibitör etkilerinden, suyun bağlanmasını arttırarak bakteriyel hücreleri planktonik hücreler için stres unsuru olan dehidrasyondan korur. Biyofilm içindeki mikroorganizmaların birbirine yakınlıkları besin, metabolit ve genetik materyallerinin değiş tokuşuna izin verir (Donlan, 2002; Trachoo, 2003). Hücre bölünmesi olgun bir biyofilmden nadir görülür. Biyofilmler karışık bakteri popülasyonlarından oluştuğu gibi tek bir bakteri türünden de oluşabilir (Donlan, 2002; Stoodley ve diğerleri, 2002).

Biyofilmi meydana getiren bakteriler biyofilmin içerisindeki yoğunluğu, besin maddeleri ve oksijen konsantrasyonuna göre farklılıklar gösterir. Biyofilmden en dış kısmında bulunan bakteriler besin maddelerine ve oksijene biyofilmin iç kısımlarında bulunanlara göre daha kolay bir şekilde ulaşabilmektedir. Oksijen biyofilmin yüzey kısımlarında bakteriler tarafından tüketildiği ve bundan dolayı dip kısımlarda anaerobik bir ortamın meydana geldiği bilinmektedir. Bu nedenle biyofilmlerde bazı antibiyotiklerin, örneğin; aminoglikozidlerin etkinliği azalmakta ve bunlara karşı bir direnç gelişebilmektedir. Direnci etkileyen faktörlerden bir diğeri de oluşan asidik atık maddelerden sebebiyle pH daki değişim ve bu değişimin bazı antibiyotikler üzerine antagonistik etki yapmasıdır (Stoodley ve diğerleri, 2002; Trachoo, 2003; Waters ve Bassler, 2005).

Antibiyotikler aktif hücreleri primer olarak hedeflediklerinden, biyofilm içinde oluşan bu heterojen yapıdan dolayı antibiyotik duyarlılığında farklılıklara neden olmaktadır.

Bakterilerin düşük üreme hızları özellikle olgunlaşmış biyofilmlerde gözlenmektedir. Besin miktarlarının sınırlı olması nedeniyle biyofilmin içindeki bakterilerin yavaş üreme hızına sahip olmaları direncin bir diğer nedeni olarak ileri sürülmektedir. Biyofilmi oluşturan hücrelerin önemli bir kısmının antibiyotik etkisi ile ortadan kalktığı, küçük bir kısmının ise canlılığını sürdürdüğü bilinmektedir. Antibiyotiğe karşı dirençli olan bu fenotipik varyantlar biyofilmi oluşturma yetenekleri ile dirençli biyofilmlerin oluşmasını sağlamaktadır (Stoodley ve diğerleri, 2002; Trachoo, 2003; Waters ve Bassler, 2005).

Biyofilmlerdeki bu dirence etki edem tüm faktörler göz önüne alındığında, biyofilmi meydana getiren bakterinin türü ve kullanılan antimikrobiyal ajanlara bağlı olarak farklı direnç mekanizmalarının oluşabileceği ve oluşan bu direncin multifaktöriyel olduğu görülmektedir. Biyofilmlere klinik açıdan bakıldığında özellikle kalıcı tıbbi araçların varlığında ve bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda gelişen enfeksiyonlarda önemli rolleri olduğu, tedavi maliyetleri ve mortalitelerinin yüksek olduğu görülmektedir. Aynı zamanda biyofilmdeki fenotipin özellikle antibiyotik direnci açısından planktonik fenotipten çok farklı olması, mikrobiyologlar ve tedaviyi uygulayan klinisyenler açısından ciddi bir problem meydana getirmektedir (Stoodley ve diğerleri, 2002; Trachoo, 2003; Waters ve Bassler, 2005).

Bu çalışmada fermente et ürünleri ve balıklardan izole edilen Gram (-) ve Gram (+) bakteri izolatlarında slime faktör varlığının araştırılması ve bu izolatların çeşitli antibiyotiklere karşı dirençliliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Antibiyotikler bazı bakteri ve fungus türleri tarafından sentezlenen ve diğer mikroorganizmaları öldüren ya da gelişimlerini durduran maddelerdir. Günümüzde antibiyotik terimi patojenlere zarar veren her türlü kimyasal için kullanılmaya başlanmıştır. Bu yüzden, mikroorganizmalar, hayvanlar ve bitkiler tarafından doğal olarak üretilen bu tür kimyasallarda antibiyotik olarak isimlendirilmektedir. Antibiyotiklerde olması gereken en önemli özellik seçici toksisite olup, konak hücreye zarar vermeksizin hedef aldığı mikroorganizmaya etki etmesidir. Penisilin ve sefalosporin gibi antibiyotikler bakteri hücre duvarındaki peptidoglikan tabakasını hedef alırlar. İnsan hücrelerinde peptidoglikan tabakası bulunmadığından insanları etkilememektedir. Yine günümüzde, doğal olarak üretilen birçok antibiyotik madde suni yollardan daha etkili olmaları için modifiye edilmektedir (Waksman, 1947).

Antibiyotiklerin bakteriler üzerindeki etkileri 5 temel şekilde görülmektedir Bunlar; hücre duvarı sentezinin inhibisyonu, hücre membranı fonksiyonunun inhibisyonu, protein sentezinin inhibisyonu, nükleik asit sentezinin inhibisyonunu veya DNA replikasyonunun ya da transkripsiyonun engellenmesi ve Metabolik antagonizm dir. (Madigan ve Martinko, 2010). Antibiyotiklerin etki mekanizmaları ve bu mekanizmalara karşı bakterilerde oluşa direncin moleküler esasları Çizelge 1.2’ de özetlenmiştir (Walsh, 2000).

Çizelge 1.2. Antibakteriyel ajanların etkinlik mekanizmaları ve bu mekanizmalara karşı bakterilerin oluşturduğu dirençliliğin moleküler esasları

| Antibiyotik                         | Hedef                                          | Etki biçimi                                                           | Direnç mekanizması                                                    |
|-------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| Hücre duvarı                        |                                                |                                                                       |                                                                       |
| $\beta$ -laktamlar                  | Transpeptidazlar/Transglikozilazlar (PBP ler)  | Hücre duvarının peptidoglikan katmanında çapraz bağlanmayı bloke eder | $\beta$ -laktamazlar, PBP mutantları                                  |
| Vankomisin                          | Peptidoglikan ve lipid II’ nin D-Ala-D-Ala ucu | Çapraz bağlanma için gerekli olan substratların ayrılması             | D-Ala-D-Lac ya da D-Ala-DSer’ e D-Ala-DAla’nın yeniden programlanması |
| Protein sentezi                     |                                                |                                                                       |                                                                       |
| Eritromisin sınıfındaki makrolidler | Peptidiltransferaz, ribozomun merkezi          | Protein sentezini bloke eder                                          | rRNA metilasyonu, ilaç efluksu                                        |
| Tetrasiklinler                      | Peptidil transferaz                            | Protein sentezini bloke eder                                          | İlaç efluksu                                                          |
| Aminoglikozitler                    | Peptidil transferaz                            | Protein sentezini bloke eder                                          | İlaçların enzimatik modifikasyonu                                     |
| Oksazolidinonlar                    | Peptidil transferaz                            | Protein sentezini bloke eder                                          | Bilinmemekte                                                          |
| DNA replikasyonu/tamiri             |                                                |                                                                       |                                                                       |
| Florokinonlar                       | DNA giraz                                      | DNA replikasyonunu bloke eder                                         | İlaç direncine göre giraz mutasyonları                                |



## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

*Enterococcus*'lar doğada yaygın olarak bulunurlar. *Enterococcus*'lar asıl konak olarak insan ve hayvanların gastrointestinal sistem florasında bulunur. *Enterococcus*'ların dünya genelinde meydana getirdikleri hastane enfeksiyonu salgınları ile dikkatleri üzerlerine çekmişlerdir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar da *Enterococcus*'ların hastadan hastaya bulaşının ve hastaneler arasında bile yayılabilmesinin nedeni olarak *Enterococcus*'ların normal bağırsak florasında bulunmalarının sebep olduğu saptanmıştır. Hastane enfeksiyonlarıyla yapılan çalışmalarda *E. faecalis*'in hastane enfeksiyonlarının % 85-95'inde, *E. faecium*'un ise % 5-10'unda hastane enfeksiyonların da başlıca etken olduğu saptanmıştır (Çetinkaya ve diğerleri, 2000; Zırakzadeh ve Patel, 2006).

Vankomisin dirençli *Enterococcus* 'ların neden oldukları enfeksiyonların kliniğine ait direnç özelliklerinin tespit edilmesi ve ilk bilgilerin açıklanmasından sonra *Enterococcus* kaynaklı hastane enfeksiyonlarının epidemiyolojisinde iki önemli değişiklik meydana gelmiştir. (Uttley ve diğerleri 1988; Leclercq ve diğerleri 1988). Birincisi insidansda ortaya çıkan hızlı artış ikincisi ise tür dağılımında meydana gelen değişimdir. Vankomisinin özellikle 1989 yılından itibaren hastanelerde yaygın olarak kullanılmaya başlanmasından sonra, Avrupada ve ABD'de ilk zamanlarda glikopeptit grubu antibiyotikler olmak üzere aminoglikozit ve beta-laktam grubu antibiyotiklere karşı çok sayıda dirençli klinik izolat ve vaka bildirimi bulunmuş, vankomisin dirençli *Enterococcus* 'ların özellikle *E. faecium*'un klonal seleksiyona uğrayarak hastane ortamında baskın olduğu, tek başlarına veya *Staphylococcus*'larla birlikte hastane enfeksiyonlarındaki insidanslarını hızla artırdıkları görülmüştür (Çetinkaya ve diğerleri, 2000).

Hastanelerde yatan hastalarda, ekzojen veya endojen kökenli olarak hastane enfeksiyonları meydana gelmektedir. Hastanelerde enfekte olmuş hastaların bulunmasıyla geniş bir alanı enfekte eden *Enterococcus*'lar, duyarlı olan hastalarda idrar yolu, kan, bos gibi steril vücut sıvılarına yerleşerek, üriner sistem enfeksiyonlarına, endokardit, sepsis veya bakteriyemi, intraabdominal enfeksiyonlar, pelvik enfeksiyonlar, menenjit ve cerrahi yara enfeksiyonlarına sebep oldukları tespit edilmiştir (Yıldırım, 2007).

Klinik örneklerden izole edilen suşların % 80-90'ını *E. faecalis*, % 5-10 kadarını ise *E. faecium* oluşturur. Çoklu ilaç direnci gösteren *E. faecium* suşlarının son yıllarda hastane

enfeksiyonlarında bir artış gösterdiği saptanmıştır. Sık olarak rastlanmasada *E. flavescens*, *E. durans*, *E. raffinosus*, *E. casseliflavus*, *E. gallinorum*, *E. avium*, *E. hirae* ve *E. mundtii* gibi diğer *Enterococcus* türlerinin hastane enfeksiyonlarında klinik örneklerden izolasyonu yapılabilirken, *E. malodoratus*, *E. pseudoavium* ve *E. sulfureus* türleri ile PYR testi negatif olan ve atipik *Enterococcus*'lar olarak adlandırılan *E. columbae*, *E. cecorum* ve *E. saccharolyticus* türlerinin insanlardan izolasyonu şimdiye kadar yapılamamıştır (Sood ve diğerleri, 2008).

Çiftçi ve diğerleri (2009) tavuklardan izole ettiği 67 *E. faecalis* suşlarının slime faktör üretimi ve antibiyotik direnci incelenmişlerdir. *Enterococcus* slime faktör üretimi %59,7 olarak bulunmuştur. Antibiyotik dirençleri testinde gentamisin, penisilin, streptomisin, vankomisin, danofloxacin ve enrofloksasin kullanmışlardır. Direnç oranları sırasıyla %62,68, %76,11, % 67,16, % 13,43, % 47.76, % 43.28 olarak bulunmuştur. Slime faktörü pozitif *Enterococcus*'lar için antibiyotik direnç oranlarını sırasıyla 82,50, % 87,50, % 92,50,% 17,50,% 72,50 ve % 60.00% olarak saptamışlardır. Sonuç olarak; slime faktör faktörü tavuk artrit için kolonizasyon faktör olarak rol oynayabileceğini ve slime faktör pozitif *Enterococcus*ların bu antibiyotiklere daha dirençli olduğunu göstermişlerdir. Vankomisin dışında test edilen antibiyotiklere karşı slime faktörü pozitif ve negatif *Enterococcus*'lar arasında direnç oranlarını ( $p < 0.05$ ) istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır.

Barbosa ve diğerleri (2010) Kuzey Portekiz de yapmış olduğu bir çalışmada, geleneksel fermente etlerinden (Alheira, Chouriça de Vinhais, Salpicao de Vinhais) *Enterococcus* izolasyonu yaparak, yüksek oranda jelatinaz ve hemolizin virülans özelliği ve genotipik olarak 13 farklı virülans gen tespit etmişlerdir. Buna göre *Enterococcus* türleri, virülans özelliklerinden dolayı gizli patojen tür olabileceğini belirtmişlerdir.

*Enterococcus* cinsine ait bakteriler, genelde fekal çevrelerde yoğun olarak bulunmalarına karşın, gıdalarda üretim aşamalarında hijyenik olmayan koşullar sonucunda ortaya çıkarlar (Sanchez, 2006; Giraffa, 2003). Ayrıca intestinal ve çevresel kontaminasyonla da süt ve et gibi çiğ gıdalarda kolonize olabilirler. pH, sıcaklık ve tuza karşı olan dirençleri sayesinde, gıda üretimi sırasında canlı kalarak son ürünü de kontamine edebilirler. Bu sebeple gıdalarda bulunmaları kontaminasyonun bir göstergesi olarak kabul edilirler (Karataş, 2005; Hugas,

2003). Bu özelliklerinden dolayı *Enterococcus*'ların sularda ve bazı gıda ürünlerinde hijyen indikatörü olarak kullanılmaktadır (Karataş, 2005; Arizcun ve diğerleri 1997).

*Enterococcus*'lar ısıya dayanıklı olmaları nedeniyle ısı uygulanmış, yarı steril edilmiş ve işlenmiş etler gibi steril olmayan yiyeceklerde yaşayabilen mikroorganizmalardır. Örneğin sütlerde düşük ısıda uzun zaman pastörizasyon işleminden sonra yaşayabilirler. Kutulanmış, dilimlenmiş jambonlarda bozulmaya neden olan ajanlardır (Knudtson ve Hartman, 1992).

*Enterococcus*'lar, tuz, pH, ve sıcaklığa karşı dirençli olmaları nedeniyle pastörizasyon işleminden sonrada canlılıklarını sürdürebildikleri için pişmiş, dilimlenmiş ya da paketlenmiş etlerde çapraz kontaminasyonla gelişerek, diğer birçok laktik asit bakterileri gibi bozulma yapan mikroorganizmalar olarak tanımlanmıştır. Yüksek sayılarda fermente sucuklarda bulunduklarında bozulmaya sebep olabilecekleri belirtilmiştir (Karataş, 2005).

*Enterococcus* gıdaların işlenmesi sırasında kullanılan hammadde de kontaminasyona neden olmakta ve son ürünlerde de bulunabilmektedir. Bu kontaminasyon faktörleri toprak, fabrikalardaki yıkama suları, gıda fabrikalarında ürün yapımında kullanılan kaplar ve çalışan kişilerin el ve vücut florasındaki yetersiz temizliktir (Giraffa, 2002).

*Enterococcus*'lar spor oluşturmeyen bakteriler arasında ısıya toleransı en az fazla olan bakterilerdir. Bundan dolayı pişmiş ve işlenmiş etlerde bozulmaya neden olurlar (Franz ve diğerleri, 1999).

*Enterococcus*'ların hayvanların gastrointestinal sisteminde doğal olarak bulunması kesimhanelerdeki etlere bulaşma ihtimalini arttırmaktadır. Tavuk çiftliklerinde *E. faecalis* izole edilen Gram pozitif türleri içinde ilk sırayı almaktadır (Franz ve diğerleri, 1999).

*Enterococcus*'lar gıdalarda floranın bir parçası olması sebebiyle yalnız kötü hijyen koşullarının göstergesi değildirler (Karataş, 2005; Giraffa, 2002). *Enterococcus*'lar gıdaların çoğunda doğal olarak bulunan ve birçok gıdanın fermentasyonunda rol alan önemli mikroorganizmalardır (Karataş, 2005; Guessas ve diğerleri, 2004). Fermente et ürünlerinin ve bazı peynir çeşitlerinin mikrofloralarının önemli bir kısmını oluştururlar (Karataş, 2005; Giraffa, 2003). Aynı zamanda, *Enterococcus*'lardan bazıları, et ürünlerinde, şarap ve meyve sularında bozulma yaparlar (Karataş, 2005; Semedo, 2003).

Son yıllarda gıda kaynaklı hastalıkların mikrobiyal kontaminasyon sebebi olmasından dolayı patojenleri inhibe eden maddelere karşı ilgi artmaktadır. *Enterococcus*'ların ürettiği bakteriyosin maddesine enterosin denmektedir. *Enterococcus*'lar süt ürünlerinden, fermente sosislerden, balıktan, sebzelerden ve fermente yağlardan izole edilebilmektedir. (Sümerkan, 2002; Strompfova, 2008).

Gıdaların işlenmesi aşamalarında hijyen kurallarına uymayan personelin yanı sıra gıdanın işlenmesinde kullanılan alet ve ekipmanların özellikle fekal mikroorganizmalarca gıdaların kontaminasyonuna neden olmaktadır (Keeratipibul ve diğerleri, 2009).

*E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinde yapılan araştırmaların büyük bir kısmında, gıdalarda sıklıkta en fazla izole edilen mikroorganizmalar olduğu belirtilmiştir. *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. mundtii*, *E. raffinosus* daha az sıklıkta bulunmaktadır (Giraffa, 2002; Nes ve diğerleri, 2007).

Kinley ve diğerleri (2010) yapmış olduğu çalışmada, işlenmiş hayvan ürünlerinde *Salmonella* ve *Enterococcus* varlığı araştırılarak, *Enterococcus* varlığı %81.3 oranında tespit edilmiş ve *Enterococcus*'un kontaminasyona sebep olduğunu belirtmişlerdir.

Çıtak ve diğerleri (2009) yapmış olduğu çalışmada, dondurulmuş gıdalarda indikatör mikroorganizmaların varlığı ve bu indikatör mikroorganizmaların gıdada belirli bir sınırın üstünde bulunması, ürünlerdeki hijyen ekikliği ve sanitasyon işlemlerinde ve gıdanın işlenmesi aşamasında insan, hayvan, toprak, su ve dışkı kaynaklı bir bulaşma sonucu toksijenik mikroorganizmalarla kontamine olabilecek koşullarda üretilip tüketime sunulduğunun bir göstergesi olarak kabul etmektedir.

Fisher ve diğerleri (2009) yapmış oldukları çalışmada, sosislerde ve peynirlerde *Enterococcus* kontaminasyonu daha sıklıkla izole edilerek, bu gıdalar ısı işlemi gördüğü için raf ömürleri daha uzun süreli olduğunu bildirmişlerdir.

Fontana ve diğerleri (2009) Arjantininde fermente sosislerle yapmış olduğu çalışmada, sıklıkla *E. faecium* (%56) ve *E. faecalis* (%17) izolasyonu yaparken, daha az sıklıkla *E. durans*, *E. casseliflavus* and *E. mundtii* (%27) izolasyonu yapmışlardır.

Korenova ve diğerkleri (2009) Slovakya’da yapmış olduğu bir çalışmada, koyun sütü ve et ürünlerinde kontaminasyona neden olarak yüksek oranda *Staphylococcus* ve *Enterococcus* bakterilerini tanımlanmışlardır. Valenzuela ve ark. (2009), yapmış olduğu çalışmada, hayvansal gıdalardan izole edilen 25 *Enterococcus* izolatının 16’sı *E. faecium*, 9’u *E. faecalis* olarak bulunmuştur.

Barbosa ve diğerkleri (2009) yapmış olduğu çalışmada, fermente etlerden izole edilen 182 *Enterococcus* izolatlarından 76’sı *E. faecalis*, 44’ *E. faecium*, 1’i *E. casseliflavus* ve 31’i *Enterococcus* spp. olarak tespit edilmiştir.

İnat (2008) pastırma üretiminde kontaminasyona neden olan kaynaklarının belirlenmesi ve iyileştirme koşullarının araştırılması amacıyla yaptığı çalışmada, farklı zamanlarda üretilen 40 adet pastırma, üretim prosesi boyunca (20 adet deneysel üretim ve özel bir şirkette ticari olarak üretilen 20 adet pastırma) mikrobiyolojik ve kimyasal olarak (pH ve aw) analiz edilmiştir. Bu amaçla, üretim prosesinin farklı aşamalarında (salamura sonrası, yıkama, baskılama, emenleme ve kurutma işlemi), et, buy otu tohumu unu (*Trigonella foenum Graecum* L), toz kırmızı biber, salamurada kullanılan tuz, ekipmanlar (bıçaklar, parçalama kütükleri ve baskı makinesi) ve işçi ellerinden toplam 240 adet örnek alındı. Alınan bu örnekler aerob genel canlı, laktobasil, mikrokok/*Staphylococcus*, koagulaz pozitif *Staphylococcus*, enterobakter, koliform bakteri sayısı, *B. cereus*, *Enterococcus*, *Pseudomonacae* spp., maya/küf ve slfıt indirgeyen anaerob bakteriler yönünden analiz edildi. Analiz bulguları; yıkama, baskılama ve emenleme işlemleri sonrasında aerob genel canlı sayısının, emenleme işlemi sonrası laktobasil, enterobakter, *Enterococcus*, mikrokok/*Staphylococcus* ve maya/küf sayılarının, baskılama işlemi sonrası ise koliform bakteri sayısı ve *Pseudomonacae* spp. sayılarının yükseldiğini göstermiştir. Elde edilen veriler pastırma üretiminde baskılama ve emenleme işlemlerinin önemli bir kontaminasyon kaynağı oluşturduğunu, çalışanların elleri ve parçalama kütüklerinin de diğerk kontaminasyon kaynaklarını oluşturduğunu göstermektedir.

Ogier ve diğerkleri (2008) yapmış olduğu bir çalışmada, süt örneklerinde, hayvanların fecesleri ya da direk su kaynakları ile *Enterococcus* kontaminasyonuna sebep olabileceğini belirtmişlerdir.

Gomes ve diğerkleri (2008) yapmış olduğu çalışmada, et, süt ve sebzeden en fazla izole edilen *Enterococcus* türü *E. faecium* olduğunu, bunu takiben *E. faecalis*, *E. casseliflavus* ve *E. gallinarum* olarak saptamıştır.

Moreno ve diğerkleri (2006) *E. faecium* ve *E. faecalis* türlerini peynir, balık, sosis, dana kıyma ve domuz etinde çoğunlukla izole etmişlerdir.

Çıtak ve diğerkleri (2005) çiğ süt ve beyaz peynir ile yapmış olduğu çalışmada, %62.6 *E. faecalis*, %30.1 *E. faecium*, %7.14 *E. durans* izolasyonu yapmıştır. Yine Çıtak ve diğerkleri (2005) yapmış oldukları bir diğerk çalışmada, çiğ süttten izole edilen 177 *Enterococcus* izolatının %54.2'si *E. faecalis*, %29'u *E. faecium*, %6.2'si *E. durans* %5'i *E. hirae* \dispar, %3'ü *E. gallinarum*, %2.2'si *E. mundtii* ve %0.5'i *E. raffinosus* olarak izole etmiştir.

Martin ve diğerkleri (2005) yapmış olduğu çalışmada, sosislerden izole edilen *Enterococcus* türlerinden *E. faecium* sıklıkla izole etmiştir.

Karataş (2005) yapmış olduğu çalışmada Adana'daki çeşitli marketlerden 20 adet sucuk ve 30 adet peynir örneğinden *E. faecium*, *E. durans*, *E. avium* izole etmiştir.

Sustackova ve diğerkleri (2004) yapmış olduğu çalışmada, et ürünlerinden izole edilen *Enterococcus* izolatlarının %67'si *E. faecalis*, %13.7'si *E. faecium* olarak tespit etmiştir.

Papamanoli ve diğerkleri (2003) fermente sucuklardan izole ettikleri laktik asit bakterilerinin %4'ünün *Enterococcus* spp.'nin oluşturduğunu saptamışlardır.

Bodil ve Klein (2003) *Enterococcus*'ların birçok gıdada bulunduğunu ve özellikle de hayvansal kökenli gıdalarda bulunduğunu ve *E. faecium*'un fermente gıdalardan sıklıkla izole edildiğini bildirmişlerdir.

Giraffa (2003) *E. faecim*'un 68 °C'de 30 dakikalık ısıt işlem sonunda canlılığını sürdürebildiğini göstermiştir ve bunun sonucu olarak fermente ya da fermente olmayan gıdalarda *Enterococcus*'ların bulunmasının yüksek bir ihtimal olduğunu belirtmiştir.

Peters ve diğerkleri (2003) yapmış olduğu çalışmada *E. faecalis* ve *E. faecium*'un ardından *E. durans*, *E. hirae* ve *E. avium* izole edilmiştir.

Giraffa ve diğerkleri (2002) yapmış olduğu çalışmada, *E. faecalis* ve *E. faecium* türleri ile yapılan birçok araştırmada gıdalarda en fazla izole edilen mikroorganizmalar olduğu belirtilmiştir. *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. mundtii*, *E. raffinosus* daha az sıklıkta izole edilmiştir.

Giraffa ve diğerkleri (1997) İtalya’da yapmış oldukları bir araştırmada gıda ürünlerinde *Enterococcus*’ların varlığı üretim ve yapım sırasındaki yetersiz sanitasyon koşullarının bir göstergesi olduğunu tespit etmişlerdir.

Wierzchowska ve diğerkleri (2016) çiğ, pişmiş ve tüketime hazır 60 adet karides örneğini *Enterococcus* spp. Varlığı, virulans faktörleri, antibiyotik dirençlilikleri ve biofilm oluşturma yetenekleri açısından değerlendirmişlerdir. İzolatlar sırasıyla tüketime hazır karideslerden (%80, 16/20), çiğ karides (%55, 11/20) ve pişmiş karides (%40, 8/20) örneklerinden izole edilmiştir. 35 izolat arasında *E. faecalis* (%62,9), *E. faecium* (%28,6) dominant tür olarak bulunmuştur. Çalışılan izolatların yarısından fazlası (%65,7) en az bir antibiyotik sınıfına karşı dirençli ve 16 tane suşun (%45,7) çoklu antibiyotik direncine sahip olduğu gözlemlenmiştir. İzolatlar arasında tetrasikline (%48,6) karşı yüksek direnç tespit edilmiştir. İzolatların hafif yada zayıf biofilm oluşturma yeteneklerine sahip oldukları tespit edilmiştir.

Camargo ve diğerkleri (2014) gıdalarda *Enterococcus* bulunma sıklığını araştırmışlar ve %95,2 pozitiflik tespit etmişlerdir. *E. faecium* ve *E. faecalis* en sıklıkla izole edilen türlerdir ve streptomycin antibiyotiğine karşı yüksek oranda direnç gözlemlenmiştir.

Wierzchowska ve diğerkleri (2012) satışa hazır gıdalarda 92 adet *Enterococcus* türü izole etmişler ve *E. faecalis* (44), *E. faecium* (32) ve *Enterococcus* spp. (16) olarak sınıflandırmışlardır. 15 antibiyotik seçilmiş (ampicillin, penicillin gentamicin, streptomycin, vancomycin, teicoplanin, norfloxacin, levofloxacin, ciprofloxacin, tetracycline, tigecycline, rifampicin, nitrofurantoin, linezolid, fosfomycin, chloramphenicol ve quinupristin/dalfopristin) disk diffüzyon metodu ile antibiyotik duyarlılığına araştırılmıştır. İzolatların tamamı levofloxacin, ciprofloxacin ve vancomycine karşı duyarlı olarak bulunmuştur. İnsanlarda yaygın olarak kullanılan tetrasiklin, nitrofurantoin ve quinupristin/dalfopristine karşı dirençli oldukları gösterilmiştir.

Feglo ve Sakyi (2012) Kasım 2008-Şubat 2009 yılları arasında sokakta satılan tüketime hazır 60 adet gıda örneğinde bakteriyel kontaminasyon varlığını araştırmışlar ve *E.cloacae* (%6,7), *S.aureus* (%3,7) ve *E. coli* (%2,2) türlerini tespit etmişlerdir. Tüketime hazır gıdaların enterik bakteriler ve diğer gıda zehirlenmelerine neden olan bakterilerle kontamine olduğunu göstermişlerdir.

Nyenje ve diğerleri (2012) tüketime hazır gıdalardan izole ettikleri 51 adet *L. ivanovii* ve 33 adet *E. cloacae* suşunun antimikrobiyal duyarlılıklarını değerlendirmişlerdir. *E. cloacae* suşlarının tamamının ve *L. ivanovii* suşlarının %96'sının en az dört yada daha fazla antibiyotiğe karşı dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. *E. cloacae* ciprofloxacin'e %100, chloramphenicol ve gentamicin'e %91, nalidixic aside %97 ve streptomycin'e %94 oranında duyarlı olarak bulunmuştur. Bu çalışmayla tüketime hazır gıdalarda çoklu antibiyotik direnci sahip olan suşların varlığı gösterilmiştir ve bu dirençli bakterilerin insanlara kontamine olan gıdalardan bulaştığı fikrini ortaya koymuştur.

Boss ve diğerleri (2016) antibiyotik dirençliliğini araştırmak amacıyla yaygın olarak kullanılan indikatör organizmalar *E. coli*, *Enterococcus* spp., *S. aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* varlığını 44 adet deniz ürünü örneğinde çalışmışlardır. *E. faecalis* (%59), *E. coli* (%55), *P. aeruginosa* (%27) ve *S. aureus* (%9) olarak tespit edilmiştir. En yüksek antibiyotik dirençliliği *E. faecalis*' de tetrasikline karşı (%16) tespit edilirken *E. coli*'de ciprofloxacin'e %22 ve *S. aureus*' da penisiline %56 olarak tespit edilmiştir.

Kročko ve diğerleri (2011) hayvansal orjinli çiğ gıdalarda yapmış oldukları çalışmada 349 adet *Enterococcus* izolatında *E. faecalis* (%49), *E. faecium* (%29) ve *E. spp* (%13) olarak tespit etmişlerdir. İzolatlarda tetrasiklin ve gentamisin dirençliliği yaygındır. Kümes hayvanları izolatlarında (%91) oranında tetrasiklin direnci ve çoklu antibiyotik dirençliliği tespit edilmiştir. Kümes hayvanları ve süt izolatlarında vankomisin dirençli tür olarak *E. faecalis* tespit edilirken, domuz örneklerinde vankomisin dirençli tür olarak *E. faecium* tespit edilmiştir.

Trivedi ve diğerleri (2011) gıdalardan izole ettikleri 250 adet *Enterococcus* izolatında 8 adet antibiyotik de duyarlılık araştırmışlardır. Pcr yöntemi kullanılarak *E. faecalis* (127), *E. faecium* (77), *E. casseliflavus* (21), *E. mundtii* (19) ve *E. durans* (6) tespit etmişlerdir. 114 (%46) izolatı cephalothine, 94 (%38) izolatı da ofloxacin'e dirençli olarak bulmuşlardır.

Düşük antibiyotik dirençliliğini ampicillin, chloramphenicol, gentamicin ve teicoplanin’de gözlemlemişlerdir. Vankomisine dirençli izolat tespit edilmemiştir.

Sergelidis ve diğerleri (2012) yapmış oldukları çalışmada tüketime hazır balık örneklerinde *Staphylococcus* varlığı ve antibiyotik dirençliliği yönünden araştırmışlardır. *S. aureus* (%7), *S. epidermidis* (%13) *S. xylosus* (%12) *S. sciuri* (%4), *S. warneri* (%3), *S. saprophyticus* (%2), *S. schleiferi* (%1) ve *S. auricularis* (%1) olarak tespit edilmiştir. İzolatların çoğu oxacilline karşı dirençli olarak bulunmuştur.

Wierzchowska ve diğerleri (2014) 858 adet tüketime hazır gıda örneklerinde *Staphylococcus* varlığı ve antibiyotik dirençliliği yönünden araştırmışlardır. Elde edilen 113 izolatta sırasıyla *S. aureus*, *S. xylosus*, *S. saprophyticus* ve *S. epidermidis* tespit etmişlerdir. İzolatların yarısından fazlası (%54,9) en az bir antibiyotiğe dirençlidir ve %35,4’ünde ise çoklu antibiyotik direncine rastlanmıştır. Çoğu izolat sırasıyla cefoxitin (49.6%), clindamycin (39.3%), tigecycline (27.4%), quinupristin-dalfopristin (22.2%), rifampin (20.5%), tetracycline (17.9%), ve erythromycin (8.5%) antibiyotiklerine karşı dirençli bulunmuştur.

*Staphylococcus*’lar doğada yaygın bir şekilde en çok memelilerin ve kuşların cildinde ve muköz membranlarında bulunmaktadır. Konakta ağız, meme bezleri ve intestinal, genitoüriner ve alt solunum sisteminde bulunabilirler. Ayrıca insanda deri üzerinde normal flora oluşturan, potansiyel patojen bakteriler şeklinde sporadik veya salgın şekilde enfeksiyonlara (primer ve sekonder) sebep olabilirler. (Fredricks, D.N. 2001; Masakove diğerleri, 2005). *Staphylococcus* cinsi içerisinde yer alan türler, insanlarda ve hayvanlarda birçok hastalıklığı meydana getirmektedir. *S. aureus* insanlarda, nazokomiyal enfeksiyonlara, toksin nedenli enfeksiyonlara, invazyon ve/veya sistemik yayılım sonucu ortaya çıkan enfeksiyonlara, deri ve yumuşak doku enfeksiyonların, cerrahi yara, santral sinir sistemi, solunum sistemi, üriner sistem, kardivasküler sistem, kas ve iskelet sistemi enfeksiyonlarına neden olmaktadır. KNS’lar ise insanlarda endokardit, osteomyelit, oküler operasyonlara bağlı gelişen endoftalmit, üriner sistem enfeksiyonlarına, nazokomiyal ve toplumsal kökenli gelişen enfeksiyonlara, immunsuprese bireylerde bakteriyemi ve vücuda uygulanan protez implantlarını takiben gelişen enfeksiyonlara sebep olmaktadır (Goodfellow ve diğerleri, 2012; Crossley ve diğerleri, 2009).

İnsanlarda sıklıkla izole edilen türler *S. aureus*, *S. saprophyticus* ve *S. epidermidis*'dir. Bunlardan *S. aureus* öncelikli patojendir, diğer ikisi ise fırsatçı patojen olarak tanımlanmaktadır (Carbonnelle ve diğerleri, 2007).

*Staphylococcus*'lar bulundukları ortamda kendine özgü toksin ve çeşitli enzimler sentezleyerek insan ve birçok hayvanlarda enfeksiyona yol açabilmektedir. (Bennett, 2013; Le Loir ve diğerleri, 2003).

*S. aureus* 'un insanlarda patojenik etkisinin olduğu ve çeşitli enfeksiyonlara sebep olduğu bilinmektedir. Bu nedenle gerek patojenitesi gerekse meydana getirdiği gıda zehirlenmeleri nedeniyle *Staphylococcus*'lar üzerine çok sayıda araştırma yapılmıştır ve yapılmaya da devam edilmektedir (Yücel ve Anil, 2011). *Staphylococcus* cinsi, kırmızı ve beyaz et ürünlerinde ve diğer gıda maddelerinde kalite ve hijyende rol oynayan en önemli bakteri gruplarından biri olarak bilinmektedir. Bu mikroorganizmalar genellikle gıdayı hazırlayan kişiden de gıdaya geçebilmektedir.

Balıklardan izole edilen *Staphylococcus* türleri en çok deride ve dışa açılan vücut boşluklarını örten mukozalarda bulunabilmektedir. (Austin, 2006).

*Staphylococcus* 'a bağlı olarak insanlarda en sık görülen enfeksiyon tipleri: solunum ve üriner sistemi enfeksiyonları, lokalize deri enfeksiyonları (mastit, *Staphylococcal* haşlanmış deri sendromu, TSST-1, bakteriyemi, endokardit, menenjit) ve yabancı cisim sonrası gelişen enfeksiyonlar olarak tarif edilir (Crossley ve diğerleri, 2009).

*Staphylococcus*'lar basit deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından, sepsis gibi ağır tablolara uzanan çok geniş bir hastalık spektrumunu içerirler. Hastaneye yatış, tanı ya da tedavi amaçlı kullanılan yabancı cisimler *S. aureus* enfeksiyon sıklığını arttıırırlar. Başta influenza enfeksiyonu olmak üzere viral enfeksiyonlar *S. aureus* enfeksiyon sıklığını arttırır. Diyabetik hastalar *S. aureus* enfeksiyonları için önemli bir risk grubudur (Tünger, 2004).

*S. aureus* suşlarının polistren ve cam mikrotitre plakalar üzerinde ,teflon kateterler ve diğer tıbbi cihazlarda biyofilm oluşturdukları gösterilmiştir (Götz, 2002; Beenken ve diğerleri, 2004). İnsanlarda biyofilm ile ilişkili enfeksiyonları endokardit, osteomyelit, deri enfeksiyonları sayılabilir. (Yarwood ve Schlievert, 2003).

Gıdaların hazırlanması, paketlenmesi, taşınması ve depolanması işlemlerinde ortaya çıkan çeşitli sebeplerle mikroorganizma kaynaklı kontaminasyonlar sıklıkla karşılaşılan bir durumdur. Kontaminasyonun sonucunda gıda maddelerinin kalitesinin bozulmasıyla birtakım ekonomik kayıplar görülmekte ve böyle bir gıdayı tüketen insanlarda çeşitli klinik tablolar ve gıda zehirlenmeleri görülebilmektedir. (Demiret ve Karapınar, 2000).

Araştırmalar *S. aureus* bulaşmasında gıdalar arasında ilk sırada süt, kırmızı/beyaz et ve balık et ürünleri gösterilmektedir. *Staphylococcus*'ların insanlarda patojen olan türleri bulunduğu gibi, fermente et ürünlerinde ve başta sucuk olmak üzere çeşitli gıdaların üretiminde starter olarak kullanılan türleri de vardır. *S. carnosus* bunların en tipik örneğidir (Özcan, 2003).

Son 10 yıl içerisinde domuz, sığır, tavuk, balık etleri ve süt ürünleri başta olmak üzere farklı gıdalarda ilişkin gıda zehirlenme vakaları giderek artmaktadır (Campus, 2010).

*S. aureus*'un sebep olduğu intoksikasyon tipi gıda zehirlenmeleri dünya çapında en yaygın olarak görülen gastroenteritislerden bir tanesidir. Gıda kaynaklı mikrobiyolojik hastalıklar içinde Staphylococcal zehirlenmelerin oranının ABD'de %14, Macaristan'da %40 ve Japonya'da %20-25 olduğu tahmin edilmektedir. Zehirlenme gıda ile birlikte önceden salgılanmış bir ya da daha fazla toksinin tüketilmesi ile meydana gelir. Yapılan araştırmalar Staphylococcal gıda zehirlenmelerinde kıyma (köfte ve hamburger), balık eti ve et ürünlerinin yüksek riske sahip olduğunu göstermiştir (Halkman, 2005).

Eskiden gıda kaynaklı tüm Staphylococcal gıda zehirlenmelerinin nedeni olarak koagülaz pozitif *S. aureus* suşları sorumlu tutulurken ve buna ilaveten gıdalarda koagülaz ve termonukleaz üreten *S. aureus* suşlarının arınması ve sayılması üzerinde vurgularken günümüzde pek çok *S. aureus* suşunun enterotoksin üretmediği, buna karşı bazı koagülaz negatif *S. aureus* suşlarının enterotoksin oluşturabildiği belirlenmiştir (Marie-louise ve Danielsson-Tham, 2013).

Pastörize süt ve mamullerini sonradan kontamine eden *S. aureus* 'ların üremeleri ve toksin oluşturmaları daha hızlı olarak meydana gelmektedir. Çünkü pastörizasyon işlemi ile bu mikroorganizmalarla rekabet halindeki diğer mikroorganizmalar pastörizasyonla imha edilmiş olup, ortam bu bakterilere bırakılmıştır (Selçuk, 1991).

Etin baslangıç mikrobiyal yükünün teknolojik ve hijyenik kurallara uygun olması gerekmektedir. Aksi halde ette bulunan bu mikroorganizmalar kısa sürede üreyerek etin bozulmasına neden olmaktadır. Balık ve su ürünlerinde bozulmayı etkileyen bazı önemli faktörler: balık çeşidi, balığın avlanma durumu, mikroorganizma bulaşma düzeyi, çalışan ve personal hijeni, muhafaza sıcaklığıdır (Todd, 2009).

Besleyici değeri yüksek olan balık etinin nötre yakın pH değeri, kanının iyi akıtılamaması, iç organlarının hemen çıkarılmaması, bağdoku bakımından zayıf ve deri yüzeyinin ıslak olması gibi nedenlerle kasaplık hayvanlara göre daha fazla bozulma ve sağlık için tehlike oluşturması olasıdır (Huss ve diğerleri, 2000).

Genellikle temiz sularda avlanılan balık ve diğer su ürünleri oldukça düşük oranda bakteri taşımaktadır. Balık canlı iken kas dokusu steril durumdadır Ancak balık öldüğü zaman vücut savunması da durur ve avlama sırasında ve sonrasında yüzeysel bakteri sayısı önemli ölçüde artar. Avlamadan sonra, mikroorganizmalar ve enzimler serbest hale geçerek kas içine yayılır. Kas dokusundaki mikroorganizma sayısı başlangıçta yavaş daha sonraları hızla artar (Çaklı ve Kışla, 2003; Huss, 2000)

Balıkların mikroflorası; cinse, yaşadığı sulara, mevsim ve gelişim dönemine göre farklılık gösterir. (Çaklı ve Kışla, 2003). Derisinde, solungaçlarda, barsak içeriğinde ve çevrede bulunan mikroorganizmalar birinci derece’de bulaşmaya neden olurken; işleme, taşıma ve pazarlama aşamalarında ise ikincil bulaşmayı oluşturur ve balık muhtevasında önemli değişimlere sebep olur (Erdem, 2010).

Böylece balıklarda uygun olmayan muamele ve depolama şartları eklendiğinde avlanma sonrası, tüketicilere ulaşmadan önce balıkların büyük bir kısmında başlayan mikrobiyal, enzimatik, kimyasal ve fiziksel reaksiyonlar nedeni ile balığın lezzeti, kokusu, görünüşü ve tekstüründe bozulmalar ve gıda kaynaklı zehirlenmeler meydana gelir (Hisar, 2004; Huss, 2007).

Balıklarda patojenik mikroorganizmaların vücuda giriş yapabilme noktaları arasında deri, solungaçlar ve sindirim kanalı yer almaktadır. Balıkların en hassas kısımları solungaç bölgesidir. Eğer tüketime sunulan balığın bağırsakları çıkarılmazsa, intestinal bakteriler intestinal duvarlara ve intestinal boşluklardan da etin içine ve solungaçlara doğru kısa

zamanda ulaşır (Huss ve diğerleri, 2000). Canlı ya da taze balıkların yüzeyinde 102-107/cm<sup>2</sup>, solungaç dokusunda 102-106/g ve bağırsakta ise 103-108/g canlı mikroorganizma bulunmaktadır (Patır ve Duman, 2006).

*Staphylococcus*, *Aeromonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Corynebacterium* ve *Micrococcus* cinsi gibi bakteriler tatlı sularda bulunurken, *Shewanella putrefaciens*, *Vibrio* ve *Photobacterium* gibi gelişmeleri için genellikle sodyuma ihtiyaç duyan G (-) halofilik bakteriler deniz sularında baskın durumdadır. Sıcak sularda taze olarak yakalanan balıklar genellikle *Micrococcus*, *Corynebacterium* ve *Bacillus* gibi Gram (+) mezofilik bakterileri taşırlar. Soğuk sularda ise *Moraxella*, *Flavobacterium* ve *Vibrio* cinsi psikrofilik Gram (-) bakteriler baskındır. Ilık sulardan yakalanan balıkların mikroflorasında ise psikrotrofik, aerobik ya da fakültatif anaerobik Gram (-) çubuk şeklindeki bakteriler ve özellikle *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Photobacterium* ve *Aeromonas* bulunur (Hisar, 2004; Çaklı ve Kışla, 2003)

Taze olarak depolanmış balıkların iç bakteriyel popülasyonu oldukça heterojendir. Zaman geçtikçe psikrotrofik bakteriler doğal olarak dominant florayı meydana getirmekte ve ile 1-2 hafta içinde bakteriyel popülasyonda değişiklikler görülmektedir (Şeker ve diğerleri, 2006).

Gıda kaynaklı infeksiyonların en önemli kaynaklarından birisinin biyofilmler olduğu belirtilmektedir. Gıda endüstrisinde biyofilmlerin sorun oluşturduğu en önemli sektörler arasında süt, et ve balık eti ürünleri bulunmaktadır. Gıda işletmelerinde sanitasyon aşamalarında meydana gelen eksiklikler herhangi bir yüzeyde kolaylıkla biyofilm oluşmasına sebep olmaktadır. Biyofilmler de gıda güvenliğini olumsuz yönde etkilemektedir. Ayrıca, biyofilm oluşumunu engellemenin mümkün olmadığı, bakterilerin biyofilm yapısı içinde genetik değişimlere uğrayabileceği düşünüldüğünde gıda işletmelerinde tehlike analizleri ve kritik kontrol noktaları (HACCP) kriterlerinin çok iyi belirlenmesi ve uygulanması gerekmektedir (Abdallah, 2014).

Konu ile ilgili günümüze kadar birçok araştırma yapılmakla birlikte, özellikle biyofilm oluşumunun engellenmesiyle ilgili yeni teknolojik gelişmeler konunun önemini ve güncelliğini korumaktadır. Büyük ölçüde gıda kaynaklı hastalıklara biyofilmler de neden olabilmektedir. Biyofilmler gıda endüstrisinde antimikrobiyal ajanlara ve temizliğe dirençli

olan yerleşmiş mikroorganizma topluluğu şeklinde bir problem olarak ortaya çıkmaktadır (Srey, 2013).

Staphylococcal gıda zehirlenme riski bakterial gelişmenin veya toksin oluşumunun azalması ile kayda değer ölçüde azaltabilmektedir. Yeterli ısı işlem ile gıdanın depolama koşulları bu konuda en etkili önlemlerdir (Le Loir, 2003).

İnsan ve hayvanların kolon florasında normal olarak bulunan *E. coli*'nin bazı suşları bağırsak enfeksiyonuna (diyare) neden olur. Bağırsak patojeni olarak tanımlanan bu serotipler gruplara ayrılırlar.

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC): Yalnız insanlarda bulunur ve gastroenterite neden olur. Bakterinin ısıya dirençli (stabil toksin ST) ve duyarlı (labil toksin LT) olmak üzere iki farklı toksini vardır ve plazmit genleri tarafından kontrol edilir. LT ve ST enterotoksinlerin etkisiyle bağırsak boşluğuna bol sıvı elektrolit salgılaması sonucu semptomlar oluşur. Hastalık genelde kendi kendini sınırlayan, ateşsiz veya düşük ateşle birlikte, bulantı, karın ağrısı ile seyreder. Gelişmekte olan ülkelerde 2 yaşın altındaki çocuklarda bakteriyel diyarenin en önemli nedenidir. Bölgeye dışarıdan gelen erişkinlerde diyareye sebep olabilir.

Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC): Kolon epitelyum hücrelerine yayılarak hücrelere zarar veren ve bu özelliği plazmitte kodlanmış suşlardır. Dizanteri benzeri patoloji ile ortaya çıkar. Ateş, karın ağrısı, sulu diyare görülür.

Enteropatojenik *E.coli* (EPEC): İnce barsak mukoza hücrelerine plazmit kontrolündeki pililer yardımı ile tutunarak o bölgedeki hücrelere (mikrovililere) zarar verir. Daha çok yeni doğanlarda görülen diyareye neden olur.

Enterohemorojik *E. coli* (EHEC): Kanlı diyareye ve Hemolitik Üremik Sendromu (HÜS)'na yol açar. EHEC suşları lizojen bakteriofaj tarafından kodlanan bir verotoksin salgılar. O157:H7 suşu sorbitolu fermente etmemekle diğer *E.coli* suşlarından ayrılır ve bakteriolojik tanıda önemlidir (Tulek, 2001; Donnenberg, 2005; Bertiken, 2005).

Bakteriyemi, endokardit, septik artrit, osteomyelit ve deri / yumuşak doku enfeksiyonları, ve alt solunum yolu üriner sistem ve karın içi enfeksiyonlarına neden olan iyi bilinen nozokomiyal patojendir (Fata ve diğerleri, 1996). *E. cloacae*, çeşitli tıbbi intravenöz ve diğer

hastane cihazları kontamine etme eğilimindedir (Dugleux ve diğerleri 1991). Nozokomiyal salgınlar da belli cerrahi ekipman ve ameliyat temizlik solüsyonlarında kolonize olmaları ile ilişkilidir (Wang ve diğerleri, 2000).

*E. cloacae* enfeksiyonları ağır şekilde seyredebilir. *E. cloacae*'ye bağlı idrar enfeksiyonu geçiren kişilerde sık sık idrara çıkma dürtüsü, ağrı, idrar yaparken yanma hissi ve az miktarda idrar yapma görülür. Ağır vakalarda enfeksiyon böbreklere ilerleyebilir.

Bu bakteri aynı zamanda solunum sisteminde enfeksiyonlara neden olur. Hastalarda enfeksiyon nefes darlığı, sarı balgam, ateş ve ağır öksürük ile seyreder. *E. cloacae*'nın neden olduğu pnömoniler diğer bakterilerin neden olduğu pnömonilerden daha hafif seyreder, ancak yüksek ölüm oranına sahiptir.

*E. cloacae* kalp kapakçığı enfeksiyonu ve endokarditite neden olabilir. Hastalarda kilo kaybı, aşırı yorgunluk, öksürük, kanlı idrar ve ateş görülebilir.

*E. cloacae* septik artrite neden olabilir. Bu, bakteriler kan yolu ile eklemlere yerleşerek eklemlerde ağrı, şişme, eklem çevresinde ısı artışı, eklem hareketlerinde zorlanma ve ateş görülebilir (Dugleux ve diğerleri, 1991; Wang ve diğerleri, 2000)

Enterobacteriaceae familyası içinde büyük önem taşıyan koliform grubu bakteriler insanlarda gıda zehirlenmeleri ve enfeksiyonlara neden olmaktadır. İşlenmemiş veya yüksek düzeyde fekal bulaşmaya maruz kalmış topraklarda bulunan bakteriler toprağın doğal ortamında genellikle ölme eğilimindedirler. Ancak uygun besin maddeleri ve yeterli nemin bulunduğu ortamlarda yaşamlarını devam ettirebilir ve sayılarını arttırabilirler. (Splittstoesser, 1983).

Gıdalarda bulunan koliform grubu bakteriler ürüne insan veya hayvan dışkısı veya toprak bulaştığını, yetersiz hijyenik taşıma ve işleme koşullarını, yetersiz ısıl işlemi gösterir (Halkman, 1999)

Koliform bakterilerin bulundukları ortamda tifüs, paratifüs ve enteritis grubu bakterilerin de bulunabileceği ve dolayısı ile bir enfeksiyon tehlikesinin olabileceği göz önüne alınırsa, koliform grubu bakterilerin sağlık açısından zararlı etkileri ortaya çıkmaktadır. (Ergülü, 1983; Frank ve diğerleri, 1978).

Gıdalarda koliform mikroorganizmaların bulunması; kötü sanitasyon koşullarının, yetersiz pastörizasyon uygulamalarının, pişirme ve pastörizasyon sonrası bulaşma olduğunun bir göstergesidir (Halkman, 2005). *Enterobacteriaceae* içerisindeki özellikle koliform grubu üyeler süt mikroflorasında sık görülür ve sütün hijyenini bozarlar.

Yapılan araştırmalara göre *Enterobacter*'lerin meyve, sebze, toprakta ve suda yaygın bir şekilde bulunması gıdalardaki esas kontaminasyon kaynakları olduğu düşündürmektedir. Aynı zamanda bakterinin çevreye yayılımında böceklerin önemli bir üstlendiği saptanmıştır (Huber, 2000; Iversen ve Forsythe, 2003). El ile işlenen gıdalarda gıdayı işleyen kişilerin ellerinde %25 oranında bu bakterilerin bulunmasının sebebinin bitkisel ürünler ile temas olabileceği belirtilmektedir (Huber, 2000).

*Enterobacteriaceae* familyası içerisindeki bakterilerin bitki, böcek, hayvan ve insanlar olmak üzere çok geniş bir konak alanları vardır. Bu familyaya ait türlerden bir kısmı insan ve hayvanların normal bağırsak florasında bulunurken bir kısmı organizma üzerinde patojen etkiye sahiptir. Doğaya dışkı yoluyla dahil olan fekal koliformlar, doğal çevrede yaşamaları zor olduğundan genellikle ölürler. Güneş, çevredeki diğer mikroorganizmalar, protozoa, toksik endüstriyel atıklar gibi etkenler fekal koliformların hayatta kalmasını engellemektedir. Fakat bu mikroorganizmalar suda birkaç saatten, birkaç güne kadar canlı kalabilirler (Bilgehan, 1993).

Sulama suyu ile sulama sonucu sebzeler su ve/veya toprak ile kontamine olmakta ve dizanteri, ishal, yersiniozis gibi çeşitli hastalıklara neden olan patojen bakterileri taşıyabilmektedirler (Pingulkar ve diğerleri, 2001). Toprakta doğal olarak bulunan *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* veya insanların ve hayvanların bağırsak florasında bulunabilen *Campylobacter* spp., *Shigella* spp., *Salmonella* spp. *E. coli*, gibi patojen bakteriler örnek olarak verilebilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kaynak olarak gübre, dışkı, işlenmemiş sulama sularını göstermektedir (WHO, 1998). Araştırmaya göre Almanya'da bulunan çiftlik ve süpermarketlerdeki sebzelerde fenotipik olarak yapılan araştırmada *E. Gergoviae* ve *E. cloacae* türleri izole edilmiştir (Schwaiger ve diğerleri 2011). Başka bir araştırma da ise salatalar ve maruldan izole edilen patojen bakteriler arasında ise; *Citrobacter freundii*, *Aeromonas hydrophila*, *Klebsiella pneumoniae* ve *E. coli* türlerine rastlanmıştır (Soriano ve diğerleri 2000). Yakın tarihte meydana gelmiş enfeksiyonlardan

biri ise Japonya'daki beyaz turp filizlerinde izole edilmiş ve 10.000 vaka ile sonuçlanan *E. coli* O157:H7 enfeksiyonudur (Taormina ve Beuchat, 1999).

Türkiye'de yapılan bir araştırmada hazır olarak tüketime sunulan sebzelerden izole edilen *Enterobacteriaceae* familyasına ait *E. Coli* ve *Salmonella* spp.,' lerin izole edildiği görülmektedir (Ayçiçek ve diğerleri, 2006; Taban ve diğerleri, 2013; Özpınar ve diğerleri, 2013; Gurler ve diğerleri, 2015).





### 3. MATERYAL VE METOD

Araştırmamızda Mart 2013-Ocak 2014 Ankara’da tüketime sunulan 52 adet balık 16 adet Sazan (*Cyprinus carpio*); 12 adet Alabalık (*Salmo trutta*); 12 adet Palamut (*Sarda sarda*); 12 adet Deniz levreği (*Dicentrarchus labrax*) örnekleri ile Ankara’nın çeşitli marketlerinden toplanan 80 adet fermente et örnekleri (20 sucuk, 20 sosis, 20 salam, 20 pastırma) materyal olarak kullanılmıştır.

Çalışılan örneklerden izole edilen Gram (-) bakteriler Bergey’s of Manuel Systematic Bacteriology (Murray ve Smith, 1986) ve Manuel of Clinical Microbiology’de (Murray ve diğerleri 1999) belirtilen çeşitli biyokimyasal testlerle tanımlanmış, BBL Crystal E/NF ID kiti ile Gram (+) bakterilerin ayrıca doğrulanması için Becton Dickinson (BD) BBL Crystal Identification Systems ve Gram-Positive ID kit kullanılmıştır (Washington ve diğerleri 2006).

Fermente et örneklerinden izole edilen *Enterococcus*’lar ve ayrıca balık örneklerinden izole edilen Gram (+) ve Gram (-) bakteri izolatlarında Kongo Red agar testi ile slime varlığı ve Kirby-Bauer disk difüzyon testi ile antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması yapılmıştır.

Araştırmamızda Türk Standardı (TS) TS 3135’de (TS-3135,1998) belirtilen esaslara göre fermente et örnekleri ve balık örnekleri tat ve koku değişimine neden olmayacak ve örneklerin mikrobiyal yükünü etkilemeyecek şekilde steril kaplara alınarak 0°C- +2°C sıcaklık koşullarında laboratuvar ortamına getirilerek aynı gün içerisinde çalışılmıştır.

#### 3.1. Balık Örneklerinden Gram (-) Bakterilerin İzolasyonu

Balık solungaç ve bağırsaklarından bistüri yardımı ile alınıp parçalanan 5’er gramlık örneklerin steril 45 ml Buffered Pepton Water (Merck 1.07228.0500) kullanılarak  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ’lük dilüsyonları yapılmıştır.  $10^{-1}$ ’lik dilüsyonlardan alınan 1 ml’lik örnekler 9 ml’lik tamponlanmış peptonlu suya aktararak  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  dilüsyonları elde edilmiş, bu dilüsyonlardan 0,1 ml alınarak eosin methylene blue (EMB; Merck 1.01347) agar besiyerine steril dragalski ile ekimleri yapılmış ve plaklar 37°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında üreyen koloniler arasında farklı morfolojideki koloniler

alınıp tek koloni ekimi yapılmıştır. Tek koloni olarak elde edilen saf kültürler Mac Conkey agar (Merck 1.04465.0500) besiyerinde stoklanmıştır.

### 3.2. Gram (-) Bakterilerin İdentifikasyonu İçin Yapılan Testler

Mac Conkey Agar da üremiş olan koloniler Gram boyama yöntemi ile boyanmış ve Gram (-) özellikteki koloniler seçilmiştir. Bu izolatlara; Bergey's of Manuel Systematic Bacteriology ve Manuel of Clinical Microbiology'de belirtilen biyokimyasal testler esas alınarak oksidaz, katalaz, hareket, indol üretimi, Metil-Red (MR), Voges-Proskauer (VP), sitrat, TSI, lizin dekarboksilaz, eskülin, üre, oksidasyon-fermantasyon testi, tuzsuz-tuzlu (%6,5'lik) buyyonda üreme, inositol, sorbitol, ramnoz, sukroz, mannitol, laktoz, ksiloz, arabinoz, adonitol, rafinoz salisin fermentasyon testleri uygulanmıştır.

#### 3.2.1. Gram (-) bakterilerin izolasyonu için kullanılan besiyerleri

##### Buffered pepton water (Merck 1.07228.0500)

|                                |         |
|--------------------------------|---------|
| Pepton                         | 10 gr   |
| Sodium chloride                | 5 gr    |
| Disodium hydrogen phosphate    | 9 gr    |
| Dipotassium hydrogen phosphate | 1,5 gr  |
| Distile su                     | 1000 ml |

pH=7,2 ± 0,2' ye ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak distile suda eritilip erlenlere 45 ml tüplere 9 ml pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir.

##### Eosin methylene blue (EMB) agar (Merck 1.01347)

|                                |         |
|--------------------------------|---------|
| Peptone                        | 10 gr   |
| Dipotassium hydrogen phosphate | 2 gr    |
| Lactose                        | 5 gr    |
| Sucrose                        | 5 gr    |
| Eosin Y yellowish              | 0,4 gr  |
| Methylene Blue                 | 0,07 gr |

|            |         |
|------------|---------|
| Agar       | 13,5 gr |
| Distile su | 1000 ml |

pH=7,1  $\pm$  0,2' ye ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak distile suda eridikten sonra otoklavda 121 °C 15 dakika steril edilmiştir.



Resim 3.1. Eosin Methylene Blue (EMB) Agar

Mac conkey agar (Merck 1.05465.0500)

|                     |          |
|---------------------|----------|
| Pepton from gelatin | 7 gr     |
| Pepton from casein  | 1,5 gr   |
| Pepton from meat    | 1,5 gr   |
| Sodium chloride     | 5 gr     |
| Lactose             | 10 gr    |
| Bile salt mixture   | 1,5 gr   |
| Neutralred          | 0,03 gr  |
| Crystal violet      | 0,001 gr |
| Agar                | 13,5 gr  |
| Distile su          | 1000 ml  |

pH=7,1  $\pm$  0,2' ye ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak distile suda eridikten sonra otoklavda 121 °C 15 dakika steril edilmiştir.



Resim 3.2. Mac Conkey Agar

### 3.3. Balık örneklerinden Gram (+) Bakterilerin İzolasyonu

Çalışmamızda balık solungaç ve bağırsaklarından bistüri yardımı ile alınıp parçalanmış 5'er gramlık örneklerin steril 45 ml Buffered Pepton Water ,(Merck 1.07228.0500) kullanılarak  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ 'lük dilüsyonları yapılmıştır.  $10^{-1}$ 'lik dilüsyonlardan alınan 1 ml'lik örnekler 9 ml'lik tamponlanmış peptonlu suya aktarılarak  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  dilüsyonları elde edilmiş, bu dilüsyonlardan 0,1 ml alınarak egg yolk tellürit emülsiyonu ilave edilmiş Baird-Parker (Oxoid CM 275) agar ,Mannitol Salt agar (Merck) ve Blood agar (Oxoid CM 331) besiyerine steril dragalski ile ekimleri yapılmış ve plaklar 37 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında üreyen koloniler arasında farklı morfolojideki koloniler alınıp tek koloni ekimi yapılmıştır. Tipik Staphylococcus kolonileri siyah, konveks, etrafında berrak zon oluşturan (Baird-Parker Agarda), beyaz, sarı ve pembe renkte üreyen (Mannitol Salt Agarda) kolonilerdir. Tek koloni olarak elde edilen saf kültürler Brain Heart İnfusion Agar (Oxoid CM 225) besiyerinde stoklanmıştır.

Stoklama amacı ile de Brain Heart İnfusion Broth (BHIB) (OXOID CM 375) besiyerinde, pasajları yapılarak 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda kolonilerin tanımlaması için Gram boyama, oksidaz, katalaz, plazma koagülaz, karbonhidrat fermentasyonu ve çeşitli biyokimyasal testler yapılmıştır. Dichotomous şemasına göre suşların tanımlaması yapılmıştır.

Boyamaları Gram (+) üzüm salkımı kok şeklinde, oksidaz (-), katalaz (+) olan koloniler Staphylococcus olarak adlandırılmıştır. Staphylococcus olarak adlandırılan bu kolonilere

koagülaz testi uygulanarak koagülaz pozitif (KPS) ve koagülaz negatif (KNS) *Staphylococcus*lar ayırt edilmiştir.

Koagülaz test sonucu (+) ve VP (+) olan koloniler *S. aureus* olarak tanımlanmıştır. Dichotomous şemada belirtilen karbonhidrat fermentasyon testleri ksiloz, sukroz, trehaloz, maltoz ve mannitoldur. Ayrıca nitrat redüksiyonu, novobiosin duyarlılığı, üreaz test sonuçlarına göre KNS'lerin tür tayinleri yapılmıştır (Normanno ve diğerleri, 2007).

### 3.3.1. Gram (+) bakterilerin izolasyonu için kullanılan besiyerler

#### Baird parker agar (OXOID CM 275)

|                  |      |
|------------------|------|
| Trypton          | 5 g  |
| Lab-Lemco powder | 1 g  |
| Yeast extract    | 10 g |
| Sodyum piruvat   | 12 g |
| Glisin           | 5 g  |
| Agar             | 20 g |

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

#### Egg Yolk Tellurite (OXOID SR 34)

|                  |        |
|------------------|--------|
| Potasyum telürit | 1 ml   |
| Egg yolk         | 5 ml   |
| Distile su       | 100 ml |



Resim 3.3. Baird Parker Agar

Blood Agar Base (OXOID CM 331)

|                             |      |
|-----------------------------|------|
| Kalp Kası                   | 2 g  |
| Pancreatic digest of casein | 13 g |
| Maya extract                | 5 g  |
| NaCl                        | 5 g  |
| Agar                        | 15 g |

pH  $\pm$  7,3'e ayarlandıktan sonra toz halindeki Blood Agar Base (BBL) besiyerinden 40 g tartılıp 1000 ml distile su içinde çözülmüştür. 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir. Otoklavdan çıkan besiyeri 45-50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra %5 oranında kan ilave edilerek karıştırılıp kullanılmıştır (Biswas ve diğerleri, 2010).



Resim 3.4. Blood Agar Base

Mannitol salt agar (MERCK)

|                |      |
|----------------|------|
| Pepton         | 10 g |
| Meat extract   | 1 g  |
| Sodyum klorür  | 75 g |
| D (-) mannitol | 10 g |
| Agar-agar      | 12g  |

*Staphylococcus*'lar için seçici bir besiyeri olarak kullanılmıştır. 108 g besiyeri 1 L distile suyla karıştırılıp 121 °C'de 15 dakika steril edilip kullanılmıştır (Kateete ve diğerleri, 2010).

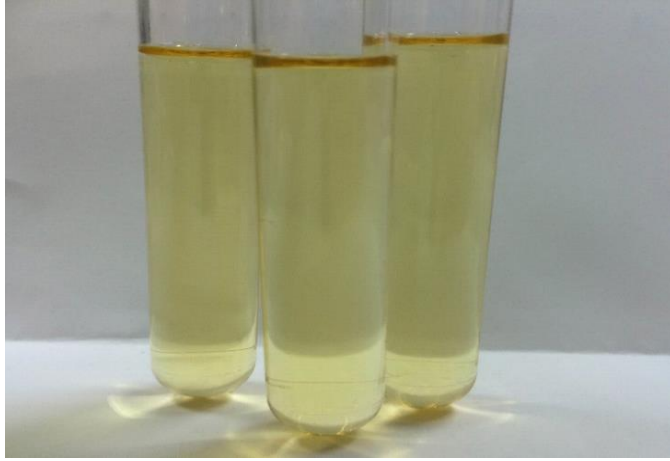


Resim 3.5. Mannitol Salt Agar

Brain heart infusion broth (OXOID CM 225)

|                            |         |
|----------------------------|---------|
| Calf Brain infusion solids | 12,5 g  |
| Beef heart infusion solids | 5 g     |
| Proteaz pepton             | 10 g    |
| Sodyum klorür              | 5g      |
| Disodyum fosfat            | 2,5 g   |
| Distile su                 | 1000 ml |

pH=7,4+0,2'ye ayarlandıktan sonra besiyerleri 1'er ml tüplere dağıtılmış ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.



Resim 3.6. Brain Heart Infusion Broth

Brain heart infusion agar (OXOID CM 375)

|                            |         |
|----------------------------|---------|
| Calf Brain infusion solids | 12,5 g  |
| Beef heart infusion solids | 5 g     |
| Proteaz pepton             | 10 g    |
| Sodyum klorür              | 5g      |
| Disodyum fosfat            | 2,5 g   |
| Agar No. 1                 | 10 g    |
| Distile su                 | 1000 ml |

pH=7,4+0,2'ye ayarlandıktan sonra besiyerleri 1'er ml tüplere dağıtılmış ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.



Resim 3.7. Brain Heart Infusion Agar

### 3.4. Balıklardan İzole Edilen Gram (-) ve Gram (+) Bakterilerin İdentifikasyonda Kullanılan Testlerin Yapılışı

#### Gram boyama

Klasik Gram boyama yöntemi ile kristal viyole, lugol, alkol ve bazik fuksin hazırlanarak Gram boyama yapılmıştır. Mikroskopik olarak Gram (-) görülen koloniler şüpheli olarak düşünülmüştür.

#### Oksidaz testi

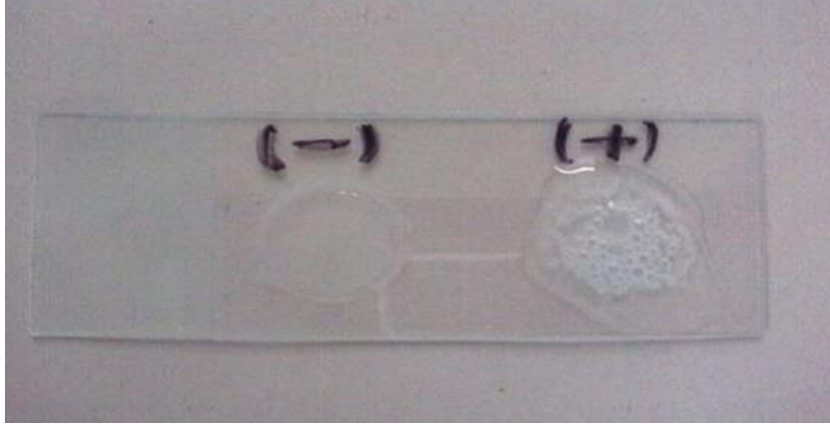
Tetrametil p-fenilendiamin dihidrokloridin (%1'lik) çözeltisi hazırlanarak Whatman No.1 kurutma kağıdına emdirilmiştir. Daha sonra kurutma kağıdının üzerine şüpheli koloniler öze ile alınarak reaksiyona sokulmuştur. 5-10 saniye içinde renk oluşturmayan koloniler oksidaz negatif, mavi renk oluşturan koloniler oksidaz pozitif olarak değerlendirilmiştir.



Resim 3.8. Oksidaz testi

#### Katalaz testi

Stok kültür üzerinde üreyen koloniler temiz bir lam üzerinde serum fizyolojik içinde süspanse edilerek üzerine %3'lük hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) damlatılmıştır. Hava kabarcıklarının görülmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir.



Resim 3.9. Katalaz Testi

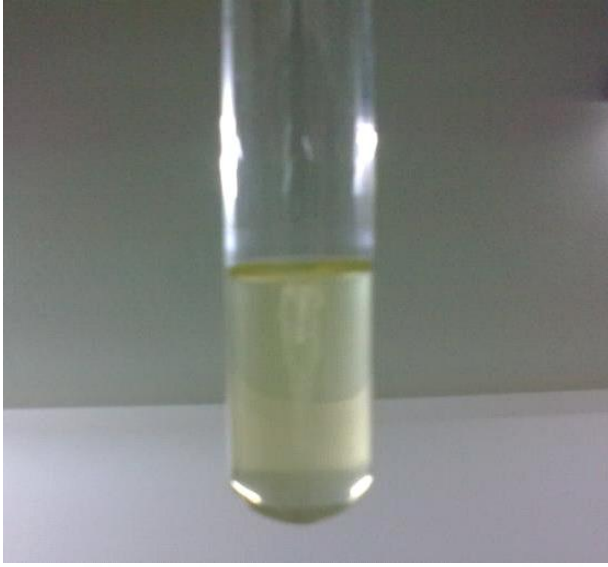
#### Hareket testi

Stok kültür üzerinde üreyen koloniler iğne öze ile alınarak SIM besiyerinin dip kısmına kadar dik şekilde batırılarak ekilmiştir. 30-35 °C’de 48 saatlik inkübasyon sonucunda ekim çizgisi boyunca ters çam ağacı biçiminde üreme gösteren koloniler hareket pozitif olarak değerlendirilmiştir.

#### SIM Besiyeri (Oxoid CM:435)

|                          |         |
|--------------------------|---------|
| Trytone                  | 20 gr   |
| Peptone                  | 60,1 gr |
| Ferrous ammonium sulfate | 0,2 gr  |
| Sodium trisulfate        | 0,2 gr  |
| Agar                     | 3,5 gr  |
| Distile su               | 1000 ml |

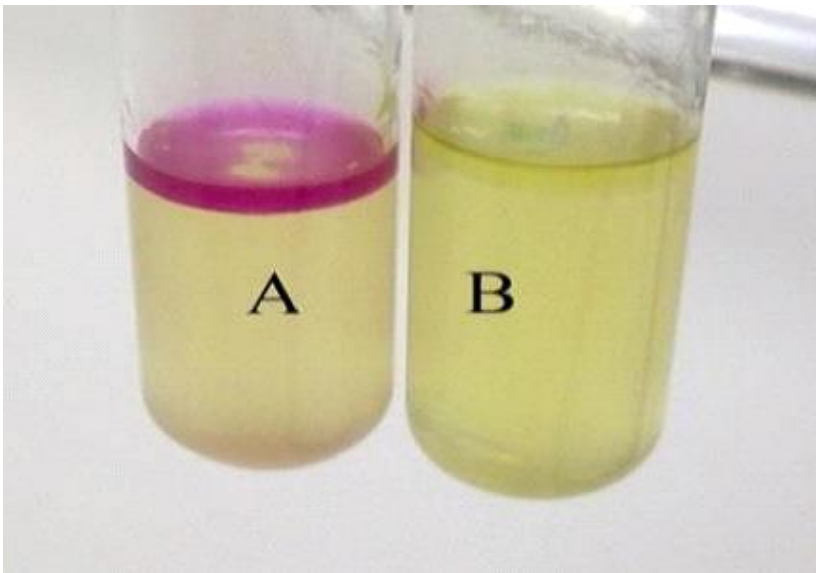
pH=7,3 ± 0,2’ ye ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak distile suda eridikten sonra otoklavda 121 °C 15 dakika steril edilmiştir.



Resim 3.10. Hareket Testi (Pozitif Sonuç)

#### İndol testi

Stok kültürden öze ile alınarak tryptone water bulunan tüplere ekim yapılmış, 30-35 °C’de 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kültüre 0,5 ml Kovak’s indol ayıracı (Merck 109293) aktarılıp, tüp çalkalanmıştır. Tüpün üst kısmında kiraz kırmızısı renkte bir tabakanın oluşması testin pozitif, sarı bir tabakanın oluşması ise negatif olduğunu gösterir.



Resim 3.11. İndol testi

A: İndol pozitif B: İndol negatif

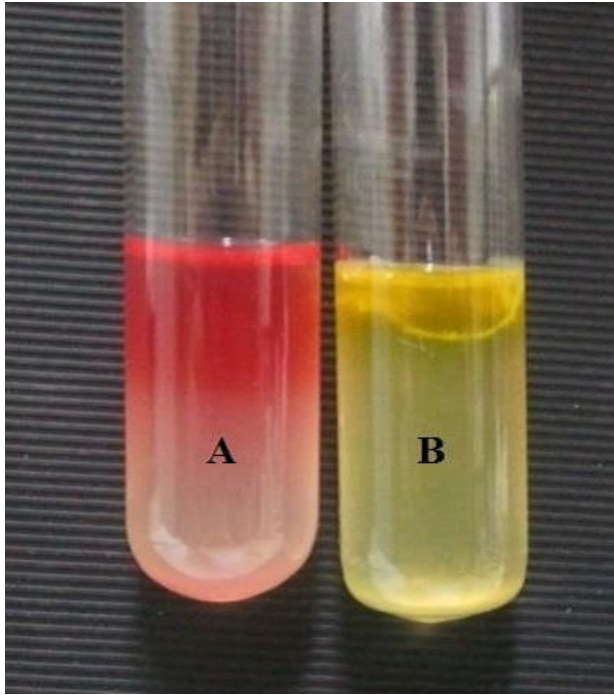
### MetilRed (MR)–Voges-Proskauer (VP) testi

İzolatlar MR-VP sıvı besiyerine ekilip 37 °C’de 2-7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Metil Red testi için, 5 ml kültüre, 5 damla metil red indikatörü eklenmiştir. Rengin kırmızı-pembeye dönmesi testin pozitif, sarı kalması ise negatif olarak değerlendirilmiştir. Voges-Proskauer testi için, inkübasyon sonucunda besi yerine 0,6 ml  $\alpha$ -naphtol+etil alkol karışımı olan VP indikatörü ve 0,2 ml % 40’ lık KOH ilave edilmiştir. Test sonucunda kırmızı renk oluşumu pozitif, sarı renk oluşumu negatif olarak değerlendirilmiştir.

### Metil Red-VogesProskauer (MR-VP) Broth (Merck 1.05712.0500)

|                  |         |
|------------------|---------|
| Pepton from meat | 7 gr    |
| D (+) Glucose    | 5 gr    |
| Phosphate buffer | 5 gr    |
| Distilated water | 1000 ml |

pH=6,9  $\pm$  0,2’ ye ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak distile suda eritilip tüplere 5 ml pipetlendikten sonra otoklavda 121 °C 15 dakika steril edilmiştir.



Resim 3.12. Metil Red testi Resim

A: MR (+) B: MR (-)

MR indikatörü

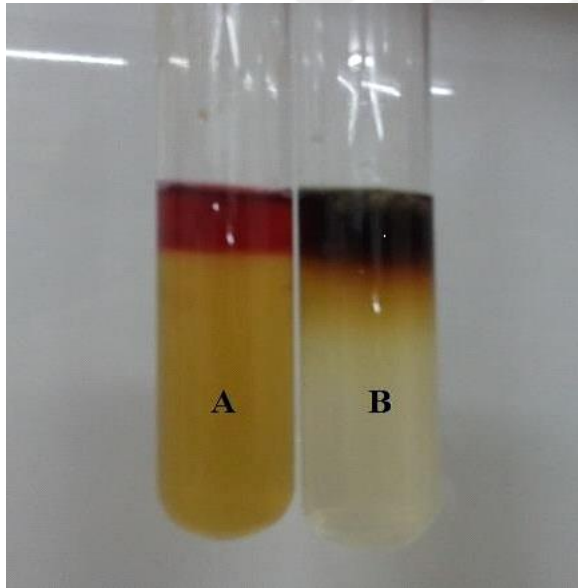
|                     |        |
|---------------------|--------|
| Metil red           | 0,2 gr |
| % 95'lik etil alkol | 50 ml  |
| Distile su          | 50 ml  |

Metil red 50 ml etil alkol içerisinde homojen hale getirildikten sonra çözeltiye 50 ml distile su eklenerek 100 ml'lik indikatör solüsyonu hazırlanır.

VP indikatörü

|                                 |        |
|---------------------------------|--------|
| Alfa naftol( $\alpha$ -naphtol) | 5 gr   |
| Etil alkol                      | 100 ml |

5 gr  $\alpha$ -naphtol 100 ml'lik etil alkol içerisinde homojen hale getirilerek indikatör solüsyon hazırlanır.



Resim 3.13. Voges Proskauer testi

A: VP (+) B: VP (-)

% 40'luk KOH

|                    |        |
|--------------------|--------|
| Potasyum Hidroksit | 40 gr  |
| Distile su         | 100 ml |

40 gr potasyum hidroksit 100 ml distile su içerisinde homojen hale getirilerek % 40'lık KOH solüsyonu hazırlanır.

### Sitrat testi

Stok kültürden bir öze dolusu koloni Simon Sitrat Agar besiyeri olan tüplerdeki yatık yüzeye sürülerek ekim yapılmıştır. Yeşil renkli besiyerini maviye dönmesi sitrat pozitif olarak değerlendirilmiştir.

#### Simmons Sitrat Agar (Oxoid CM 155)

|                               |         |
|-------------------------------|---------|
| Magnesium sulfate             | 0,2 gr  |
| Ammonium dihydrogen phosphate | 0,2 gr  |
| Sodium ammonium phosphate     | 0,8 gr  |
| Sodium citrate                | 2 gr    |
| Sodium chloride               | 5 gr    |
| Bromothymol blue              | 0,08 gr |
| Agar                          | 15 gr   |
| Distile su                    | 1000 ml |

pH=6,6  $\pm$  0,2'ye ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak distile suda eritilip tüplere 6-7 ml pipetlendikten sonra otoklavda 121 °C 15 dakika steril edilmiştir. Besiyeri otoklavdan çıkarıldıktan sonra sıcaklık 50-60 °C civarında iken tüpler 1-1,5 cm yüksekliğinde bir çubuğa yatırılarak besiyeri yatık şekilde katılaştırılmıştır.



Resim 3.14. Sitrat testi

A: Sitrat negatif B: Sitrat pozitif

### TSI testi

Stok kültürden iğne öze ile yoğun miktarda örnek alınıp, yatık agar yüzeyine sürme ekim yapılmış ve öze bu işlem sonunda besiyerinin batırılıp çıkarılmıştır. 37 °C’de 24 saat inkübasyon sonunda sonuçları aşağıdaki şekilde değerlendirilmiştir.

| Dip kısım                | Yatık yüzey | Sonuç       |
|--------------------------|-------------|-------------|
| Değişme yok veya kırmızı | Kırmızı     | Alkali      |
| Sarı                     | Sarı        | Asit        |
| Sarı                     | Kırmızı     | Asit-Alkali |

### Triple Sugar Iron Agar (Merck 1.03915)

|                     |       |
|---------------------|-------|
| Peptone from casein | 15 gr |
| Peptone from meat   | 5 gr  |
| Meat extract        | 3 gr  |
| Yeast extract       | 3 gr  |
| NaCl                | 5 gr  |
| Lactose             | 10 gr |
| Sucrose             | 10 gr |

|                          |          |
|--------------------------|----------|
| D(+) glucose             | 1 gr     |
| Amonium iron(III)citrate | 0,5 gr   |
| Sodium thiosulfate       | 0,5 gr   |
| Phenol red               | 0,024 gr |
| Agar                     | 12 gr    |
| Dsitle su                | 1000 ml  |

pH=7,4  $\pm$  0,2'ye ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak distile suda eritilip tüplere 9 ml pipetlendikten sonra otoklavda 121  $^{\circ}$ C 15 dakika steril edilmiştir. Besiyeri otoklavdan çıkarıldıktan sonra sıcaklık 50-60  $^{\circ}$ C civarında iken tüpler 1-1,5 cm yüksekliğinde bir çubuğa yatırılarak besiyeri yatık şekilde katılaştırılmıştır.



Resim 3.15. TSI Testi

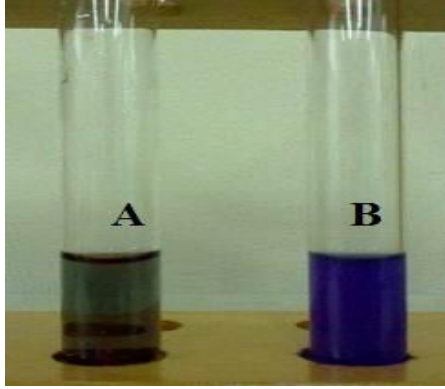
#### Lizin Dekarboksilaz testi

Tek koloni alınan bakteri örneği besiyerine inoküle edilir. Üzeine steril mineral yağ örtülür. Tüpler 30  $^{\circ}$ C'de inkübe edilir. Aminoasitlerin dekarboksilasyonu koyu mor bir rengin oluşması ile anlaşılır. Negatif sonuçlarda sarı renk oluşur.

#### Lizin dekarboksilaz testi besiyeri

|                                                            |       |
|------------------------------------------------------------|-------|
| Pepton                                                     | 5 gr  |
| Yeast extract                                              | 3 gr  |
| % 50 etanol içerisinde Brom krezol moru 'nin % 0,2 eriyiği | 10 gr |
| L-lysine monohydrochloride                                 | 10    |

Ortam içeriği 1000 ml distile su içinde çözülür, 121 $^{\circ}$ C'de 15 dakika steril edilir.



Resim 3.16. Lizin dekarboksilaz testi

A: Negatif sonuç B: Pozitif sonuç

### Eskülin hidrolizi

Eskülin hidrolizasyonu için hazırlanan besiyerine mikroorganizmanın taze kültüründen çizgi ekimi yapılmıştır ve 30 °C'de 24 saatte inkübasyona bırakılmıştır. Besiyerinde gözlenen siyah renk pozitif, renksiz üreyenler ise negatif olarak kabul edilir.

Eskülin hidrolizi besiyeri

|                    |         |
|--------------------|---------|
| Pepton             | 10 gr   |
| Sodium sitrat      | 1 gr    |
| Eskülin            | 1 gr    |
| Demir (III) sitrat | 0,05 gr |

pH=7,0 ± 0,2' ye ayarlanıp ortam içeriği 1000 ml distile su içinde çözdürülür, 121 °C'de 15 dakika steril edilir.



Resim 3.17. Eskülin testi

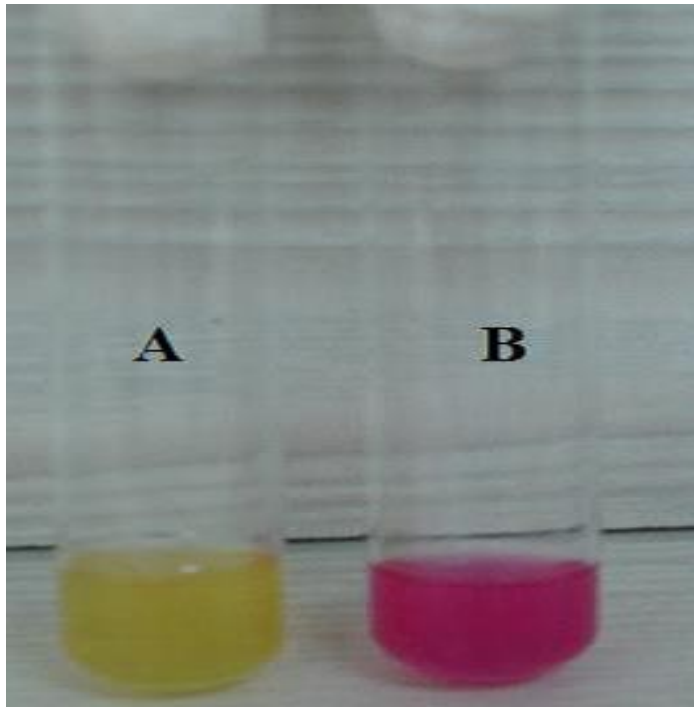
Üre testi

Örnekler besiyerine inoküle edilerek 25 °C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda besiyerinde pembe renk oluşumu ile reaksiyon pozitif olarak değerlendirilmiştir.

## Üre Agar Base (Oxoid CM 53)

|                                |          |
|--------------------------------|----------|
| Peptone                        | 1 gr     |
| Glucose                        | 1 gr     |
| Sodium chloride                | 5 gr     |
| Disodium phosphate             | 1,2 gr   |
| Potassium dihydrogen phosphate | 0,8 gr   |
| Phenol red                     | 0,012 gr |
| Agar                           | 15 gr    |

Besiyerinden 2,4 gr alınıp 95 ml distile su ilave edilmiştir.pH=6,8 ± 0,2’ye ayarlanıp, 121 °C’de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Daha sonra 5 ml steril üre ilave edilerek tüplere dağıtılmıştır.



Resim 3.18. Üre testi

A: Üreaz negatif B: Üreaz pozitif

### Oksidasyon-Fermentasyon (O/F-Glukoz) testi

Oksidasyon-Fermentasyon (O/F-Glukoz) testi için stok kültürden 2 ayrı tüpe daldırma şeklinde ekim yapılmıştır. Tüplerden birinin ağzı steril sıvı parafinle kapatılmıştır. 37 °C’de 48 saatlik inkübasyon sonucunda her 2 tüpte yeşil rengin sarıya dönüşmesi fermentatif, yalnız parafinsiz tüpün sarıya dönüşmesi oksidatif, her 2 tüpte hiçbir renk değişikliğinin olmaması non-oksidatif fermentasyon olarak değerlendirilmiştir.

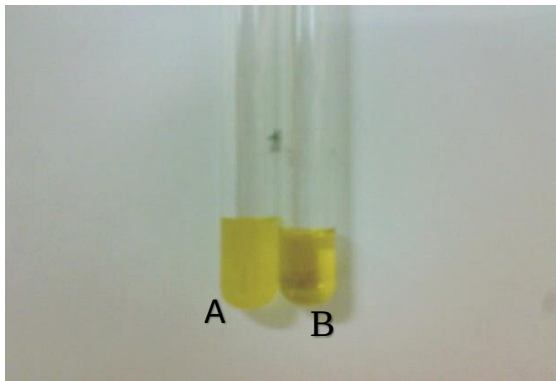
### Oksidasyon-Fermentasyon (O/F-Glukoz) Besiyeri

|                       |         |
|-----------------------|---------|
| Tryptone              | 2 gr    |
| Sodium chloride       | 5 gr    |
| Dipotassium phosphate | 0,3 gr  |
| Brom Thymol Blue      | 0,08 gr |
| Agar                  | 2 gr    |
| Distile su            | 1000 ml |

Toz halindeki maddeler 25 °C’de pH=6,8±0,2 koşullarında 1000 ml distile su içerisinde çözdürülerek, 121 °C’de 15 dakika otoklavda steril edilir. Sterilizasyon sonrasında 50 °C’ye kadar soğutulan besiyerinin üzerine % 10’luk steril glukoz solüsyonundan 100 ml ilave edilerek steril tüplere 4 ml taksim edilmiştir.

### Tuzlu ve tuzsuz (% 6,5) buyyonda üreme

Tuz içermeyen ve % 6,5 tuz içeren nutrient buyyonlara ekim yapıp, 30 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Buyyonlardaki üreme durumu bulanıklığa göre değerlendirilmiştir.



Resim 3.19. %6,5’luk NaCl de Üreme Testi

A: %6,5 luk NaCl de üreme pozitif  
 B: %6,5 luk NaCl' de üreme negatif

Nurient Broth (Merck 1.05443.0500)

|              |      |
|--------------|------|
| Beef extract | 5 gr |
| Pepton       | 3 gr |

pH=7,0  $\pm$  0,2'ye ayarlanıp ortam içeriği 1000 ml distile su içinde çözündürüldükten sonra , 121°C'de 15 dakika otoklavda steril edilir.

#### Karbonhidrat fermentasyon testleri

Purple broth base (BD Difco 211558)

|                                 |         |
|---------------------------------|---------|
| Protease peptone No: 3          | 10 gr   |
| Beef extract (Lab-Lemco powder) | 1 gr    |
| Sodium chloride                 | 5 gr    |
| Brom Cresol Purple              | 0,02 gr |
| Distile su                      | 1000 ml |

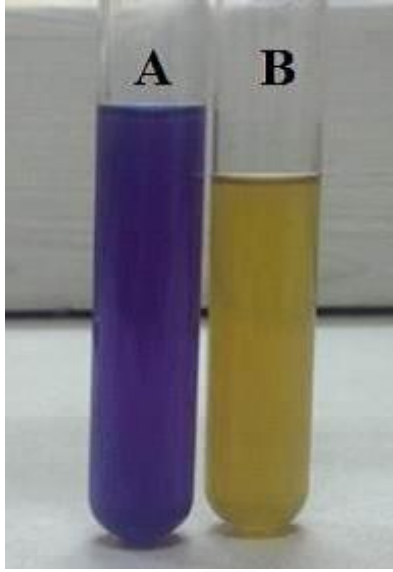
pH=6,8  $\pm$  0,2'ye ayarlanıp ortam içeriği 1000 ml distile su içinde çözündürüldükten sonra , 9 ml tüplere pipetlenerek 121°C'de 15 dakika otoklavda steril edilir.

#### Karbonhidrat Solüsyonu

Çalışmamızda kullanılan karbonhidrat solüsyonları inositol, sorbitol, ramnoz, sukroz, mannitol, laktoz, ksiloz, arabinoz, adonitol, rafinoz ve salisindir.

|              |       |
|--------------|-------|
| Karbonhidrat | 1 gr  |
| Distile su   | 10 ml |

Hazırlanan solüsyonlar 0,2-0,45  $\mu$ m'lik membran filtreden geçirilmiştir. Bu solüsyondan steril pipet ile 1 ml alınıp önceden hazırlanmış 9 ml'lik temel besiyerine ilave edilmiştir. 30 °C ve 37 °C'de 1-7 gün inkübe edilmiştir. Şekeri kullanarak asit üreten türler besiyerinin rengini sarıya dönüştürmüştür. Negatif reaksiyonda ise renk değişikliği gözlenmemiştir.



Resim 3.20. Karbonhidrat fermentasyon testi

A: Negatif sonuç B: Pozitif sonuç

Gram (-) bakteri türlerinin BBL Crystal Enteric/Nonfermenter (E/NF) Identification (ID) system ile doğrulanması

BBL Crsytal E/NFID kitin içerdiği Testler

BBL Crsytal E/NFID kitin içerdiği biyokimyasal testler

|             |                            |                        |    |
|-------------|----------------------------|------------------------|----|
| Arabinoz    | p-n-p- fosfat              | γ-L-glutamil           | p- |
| nitroanilid |                            |                        |    |
| Mannoz      | p-n-p-α-β- glikozit        | Eskülin                |    |
| Sükroz      | p-n-p-β-galaktosid         | p-nitro-DL-feninalanin |    |
| Melibiyoz   | Prolin nitroanilid         | Üre                    |    |
| Ramnoz      | p-n-p-bis-fosfat           | Glisin                 |    |
| Sorbitol    | p-n-p-ksilozit             | Sitrat                 |    |
| Mannitol    | p-n-p-α-arabinosid         | Malonik asid           |    |
| Adonitol    | p-n-p-fosforilkolin        | Trifenil tetrazolyum   |    |
| klorür      |                            |                        |    |
| Galaktoz    | p-n-p-β-glukuronid         | Arjinin                |    |
| İnositol    | p-n-pN-asetil glukosaminid | Lizin                  |    |

### Koagülaz testi

Staphylococcus olarak ön tanımlaması yapılan koklara tüpte plazma koagülaz testi uygulanmıştır. Tüpte koagülaz testinde 1/5 oranında steril serum fizyolojik ile karıştırılan defibrine insan plazması kullanılmıştır. Test yapılırken 1.5 ml sulandırılmış plazmaya 2-3 bakteri kolonisi ilave edilen tüpler 37 °C’ de 2, 4, 8 ve 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Farklı süreler sonunda plazmanın koagüle olup olmadığına dikkat edilmiştir. Plazmayı koagüle ederek pıhtılaştıranlar koagülaz (+) Staphylococcus olarak tanımlanmıştır (Kateete ve diğerleri 2010).



Resim 3.21. Koagülaz testi (+) sonuçları

### Gram boyama

Klasik Gram boyama yönteminde kristal viyole, iyot-lugol, alkol-aseton ve safranin kullanılmıştır. Sonuç olarak Gram (+) mor renkli üzüm salkımı görünümünde kok şeklinde bakteriler seçilerek alınmıştır ve Staphylococcus olma yönünde şüpheli görülmüştür (Biswas ve diğerleri, 2010).

### Oksidaz testi

N-N-dimetil p-fenilendiamin dihidrokloridin (%1’lik) çözelti hazırlanarak Whatman No.1 kurutma kağıdına emdirilir. Bu kurutma kağıdının üzerine, BHI Agar besiyerindeki stok Staphylococcus kolonileri öze ile alınarak reaksiyona sokulur. 5-10 saniye içinde pembe renk oluşturan koloniler oksidaz (-), mavi-mor renk oluşturan koloniler oksidaz (+) olarak değerlendirilir. Çalışmamızda Staphylococcus tanımlanmasında oksidaz negatif koloniler değerlendirilmeye alınmıştır (Biswas ve diğerleri, 2010).

### Katalaz testi

Şüpheli koloniler temiz bir lam üzerine %3'lük  $H_2O_2$  ilave edilerek süspansiyon edilmiştir. Gaz çıkışı pozitif olarak değerlendirilen koloniler Staphylococcus olarak tanımlanmıştır (Biswas ve diğerleri, 2010).

### Üreaz aktivite testi

Koagülaz negatif Staphylococcus (KNS) izolatları üreaz besiyerine inoküle edilerek 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda pembe renk pozitif, sarı renk negatif reaksiyon olarak kabul edilmiştir (Biswas ve diğerleri, 2010).

#### Üre Agar Base ( OXOID CM 53)

|                            |         |
|----------------------------|---------|
| Pepton                     | 1 g     |
| Glukoz                     | 1 g     |
| Sodyum klorür              | 5 g     |
| Disodyum fosfat            | 1,2 g   |
| Potasyum dihidrojen fosfat | 0,8 g   |
| Fenol kırmızısı            | 0,012 g |
| Agar                       | 15 g    |

Besiyerinden 2,4 g alınıp 95 ml distile su ilave edilmiştir. pH=6,8+0,2 ayarlanıp, 121 °C'de 15 dakika otoklavlanmıştır. Daha sonra 5 ml steril üre ilave edilerek tüplere dağıtılmıştır.

### Nitrat redüksiyon testi

KNS izolatları besiyerine inoküle edilip 37 °C'de 3-7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Test sonucunu değerlendirmek amacıyla tüpteki besiyerlerinin üzerine 1 ml solüsyon A ve 1 ml solüsyon B ilave edilmiştir. Tüpteki kırmızı renk oluşum pozitif reaksiyon olarak kabul edilmiştir.

#### Nitrat redüksiyon besiyeri

|                 |      |
|-----------------|------|
| Pepton          | 10 g |
| Sodyum klorür   | 5 g  |
| Potasyum nitrat | 2 g  |

|            |         |
|------------|---------|
| Agar       | 3 g     |
| Distile su | 1000 ml |

pH=7,7'ye ayarlanıp tüplere 5 ml dağıtılarak 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

#### Solüsyon A

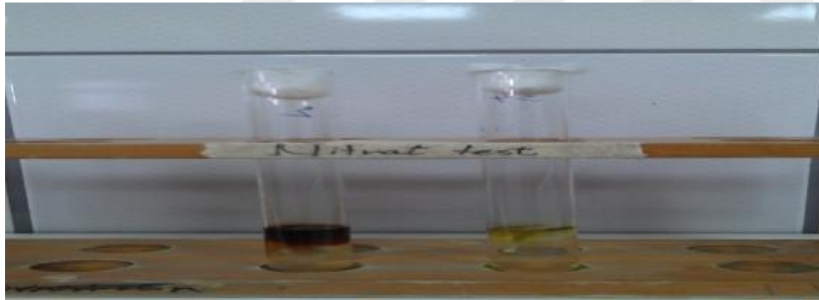
|                  |        |
|------------------|--------|
| Sülfanilik asit  | 0,8 g  |
| Asetik asit (5N) | 100 ml |

#### Solüsyon B

|                  |        |
|------------------|--------|
| Alfa-naftol      | 0,5 g  |
| Asetik asit (5N) | 100 ml |

#### 5N Asetik Asit'in hazırlanışı

|             |        |
|-------------|--------|
| Asetik asit | 60 ml  |
| Distile su  | 140 ml |



Resim 3.22. Nitrat testi (+) ve (-) sonuçları

### 3.5. Fermente Etlerde *Enterococcus* İzolasyonu

Çalışmamızda 10 Gram fermente et örneği 90 ml çift kuvvetle hazırlanmış Azid dekstrozu besiyerine ilave edilerek blendırda 2 dk parçalanarak  $10^{-1}$  dilüsyon hazırlanmıştır. Ön zenginleştirme amacıyla 37 °C'de 48-72 saat inkübe edilmiştir. Ön zenginleştirme sonucunda  $10^{-1}$  dilüsyonda 100µl Slanetz-Baryley besiyerine ekim yapılarak 48-72 saat inkübe edilmiştir.

Fermente et örneklerinden 37 °C'de 48-72 saat inkübasyon sonucunda Slanetz-Baryley besiyerinde üreyen tipik kırmızı ve pembe renkli koloniler koyun kanlı agara pasajlanarak

24-48 saat 37 °C’de inkübasyona bırakılmıştır ve bu kolonilere Enterococcus izolasyonu için çeşitli biyokimyasal testler uygulanmıştır.

Yapılan Gram boyama ve katalaz testleri sonucunda; Gram pozitif, katalaz negatif özellik gösteren kolonilere 10 °C’de ve 45 °C’de üreme, %6,5’lik NaCl’de üreme, eskülin hidrolizi ve PYR testi uygulanmıştır. Gram pozitif (+), katalaz negatif (-) 10 °C’de ve 45 °C’de üreme pozitif (+), eskülin hidrolizi pozitif (+) ve PYR testi pozitif (+) olan kolonilere Enterococcus ön tanısı konmuştur. Ön tanısı yapılan Enterococcus izolatlarının tür seviyesinde adlandırılması için %10’luk karbonhidrat fermentasyon testi (Mannitol, Sorbitol, Sorboz, L-Arabinoz, D-Raffinoz, Sukroz, Laktoz) arjinin hidrolizi ve hareket testi uygulanmıştır. Enterococcus türlerinin tanımlanmasında Bergey’s of Manuel Systematic Bacteriology (Hardie, 1986) ve Manuel of Clinical Microbiology’de (Faclam ve diğerleri 1995) belirtilen biyokimyasal testler esas alınmıştır. Ayrıca doğrulanması için Becton Dickinson (BD) BBL Crystal Identification Systems ve Gram-Positive ID kit kullanılmıştır (Washington ve diğerleri, 2006).

### 3.5.1. Gıda örneklerinde *Enterococcus* izolasyonu ve identifikasyonunda kullanılan besiyerleri ve testler

#### Azide dekstroz broth (Oxoid CM 868)

|                            |        |
|----------------------------|--------|
| Pepton                     | 40 gr  |
| Glukoz                     | 10 gr  |
| Sodyum Klorid              | 10 gr  |
| Dipotasyum Hidrojen Fosfat | 5,4 gr |
| Sodyum azid                | 0,4 gr |
| Distile su                 | 1000ml |

pH 6.8 ± 0,2’ye ayarlanıp besiyerindeki maddeler iki katı tartılarak 1000 ml distile suda eritilip tüplere 10 ml pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda 121 °C’de 15-20 dk steril edilmiştir.

#### Peptonlu Su (Oxoid CM9)

|               |       |
|---------------|-------|
| Pepton        | 10 gr |
| Sodyum Klorid | 5 gr  |

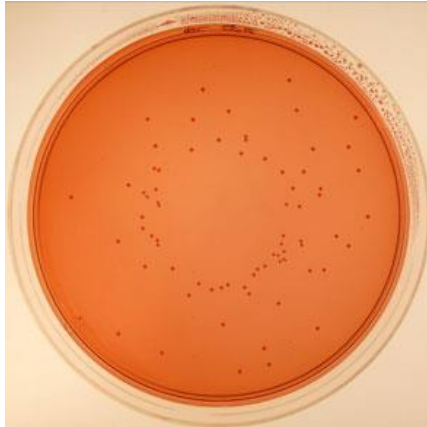
|            |        |
|------------|--------|
| Distile su | 1000ml |
|------------|--------|

pH  $7,2 \pm 0,2$ 'ye ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak distile suda eritilip tüplere 9 ml pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 15-20 dk steril edilmiştir.

Slanetz-bartley besiyeri (LAB166)

|                                       |         |
|---------------------------------------|---------|
| Trypton                               | 20 gr   |
| Maya Özü                              | 5 gr    |
| Glukoz                                | 2 gr    |
| Disodyum fosfat $2\text{H}_2\text{O}$ | 4 gr    |
| Sodyum azid                           | 0.4 gr  |
| Tetrazolium klorid                    | 0.1 gr  |
| Agar                                  | 10 gr   |
| Distile Su                            | 1000 ml |

pH  $7,2 \pm 0,2$ 'ye ayarlanıp besiyerindeki maddeler otoklavlanmadan bek alevinde iyice eridikten sonra steril plaklara 10'ar ml dağıtılmıştır.



Resim 3.23. Slanetz-Bartley Besiyeri

Blood agar base (Oxoid CM 331)

|                             |      |
|-----------------------------|------|
| Kalp Kası                   | 2 g  |
| Pancreatic digest of casein | 13 g |
| Maya extract                | 5 g  |
| NaCl                        | 5 g  |

Agar

15 g

pH  $\pm$  7,3'e ayarlandıktan sonra toz halindeki Blood Agar Base (BBL) besiyerinden 40 g tartılıp 1000 ml distile su içinde çözülmüştür. 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir. Otoklavdan çıkan besiyeri 45-50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra %5 oranında kan ilave edilerek karıştırılıp kullanılmıştır (Biswas ve diğerleri, 2010).

### 3.5.2. *Enterococcus* identifikasyonda kullanılan besiyerleri, içerikleri ve testlerin yapılışı

#### Gram boyama yöntemi

Klasik Gram boyama yöntemi ile boyanarak Gram pozitif (+), kok ve zincir şeklinde üreme gösteren koloniler çalışılmıştır.

#### Katalaz testi

Stok kültür üzerinde üreyen koloniler temiz bir lam üzerinde serum fizyolojik içinde süspanse edilerek üzerine %3'lük Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) damlatılmıştır. Kabarcıkların görülmesi halinde test pozitif kabul edilmiştir. Katalaz negatif olan Gram pozitif koklar çalışılmaya esas teşkil edecek şekilde seçilmiştir.

#### %6,5'lik NaCl'de üreme

%6,5 NaCl 'lü buyyon

|                            |         |
|----------------------------|---------|
| Brain Heart Infusion Broth | 37 gr   |
| NaCl                       | 60 gr   |
| Distile su                 | 1000 ml |

Besiyerindeki maddeler tartılarak distile suda eritilip tüplere 5ml pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda 121 °C'de 15-20 dk steril edilmiştir.

%6,5 NaCl 'lü buyyon içeren tüplere 3-4 koloni inoküle edilerek 37 °C'de 24-72 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda buyyonda bulanıklığın görülmesi testin pozitif olduğunu göstermiştir.

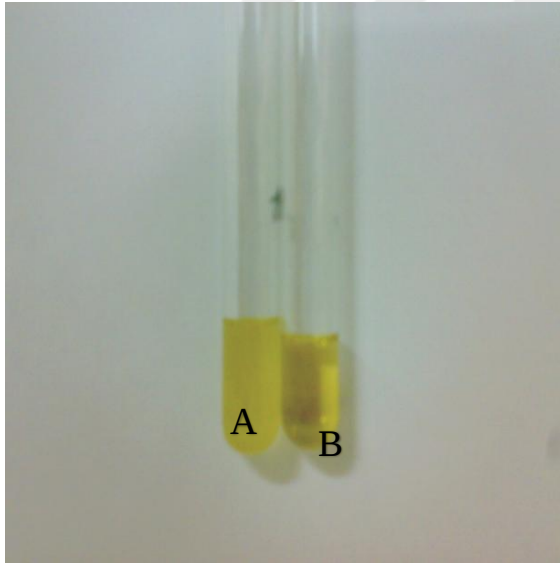
### 10 °C’de ve 45’ °C de üreme

Todd Hewit Broth (LAB M 75)

|                              |         |
|------------------------------|---------|
| 450 gr yağsız kıyma karışımı | 10 gr   |
| Tripton                      | 20 gr   |
| Sodyombikarbonat             | 2 gr    |
| Sodyum Klorid                | 2 gr    |
| Dipotasyum Fosfat            | 0,4 gr  |
| Distile su                   | 1000 ml |

pH  $7,8 \pm 0,2$ ’ye ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak distile suda eritilip tüplere 5ml pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda 121 °C’de 15-20 dk steril edilmiştir.

Todd Hewit Broth’a ekilen koloninin 2 ayrı ekimi yapılarak 10 °C’de 7 gün, 45 °C’de 1 gün inkübe edilmiştir. Bulanıklığın görülmesi durumunda test pozitif olarak kabul edilmiştir.



Resim 3.24. 10°C’de ve 45°C’de üreme

A: 10°C’de ve 45°C’de üreme pozitif

B: 10°C’de ve 45°C’de üreme negatif

### Eskülin hidrolizi

|                      |       |
|----------------------|-------|
| Hearty Infusion Agar | 40 gr |
| Eskülin              | 1 gr  |

|               |         |
|---------------|---------|
| Ferrik Klorid | 0,5 gr  |
| Distile su    | 1000 ml |

Besiyerindeki maddeler tartılarak 1000 ml distile suda eritilip tüplere 5 ml pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda 121 °C’de 15-20 dk steril edilmiştir.

Stok kültür üzerinden alınan koloniler ekim yapılarak 24-48 saat inkübe edilmiştir. Besiyerinde siyah pigment oluşumu eskülin hidrolozi testinin pozitif olduğunu göstermiştir.

#### PYR (Pyrolidonyl arylamidase) testi (Oxoid ID0580)

##### PYR Agar

|                                       |         |
|---------------------------------------|---------|
| Todd Hewit Broth                      | 22 gr   |
| L pyroglutamik asit beta naphtylamide | 0,1 gr  |
| Agar                                  | 7 gr    |
| Distile su                            | 1000 ml |

Kimyasal maddeler ısıtılarak eritilmiş ve 121 °C’de 15-20 dk steril edildikten sonra 10 ml steril petrilere dağıtılmıştır.

##### PYR Ayıracı

|                             |        |
|-----------------------------|--------|
| P-Dimetilaminocinnamaldehyt | 0,2 gr |
| Sodyum dodesilsülfat        | 2,5 ml |
| Glacial asetik asit         | 2,5 ml |
| 2-metoksietanol             | 5 ml   |
| Distile su                  | 90 ml  |

P-Dimetilaminocinnamaldehyt diğer maddeler içinde eritilerek (+) 4 °C’ de saklanmıştır. Bütün izolatlar PYR agara ekimleri yapılarak 35 °C de inkübe edilmiştir. Üreyen kolonilerin üzerine %2’lik PYR ayıracı damlatılmıştır. Kırmızı ve pembe renk oluştuğunda test pozitif sarı ve turuncu renk oluştuğunda test negatif olarak değerlendirilmiştir.

#### Hareket testi

##### SIM Besiyeri (Oxoid CM 435)

|         |       |
|---------|-------|
| Trypton | 20 gr |
|---------|-------|

|                      |         |
|----------------------|---------|
| Pepton               | 60,1 gr |
| Ferroz amonyumsulfat | 0,2 gr  |
| Sodyum trisülfat     | 0,2 gr  |
| Agar                 | 3,5 gr  |
| Distile su           | 1000 ml |

pH 7,3±0,2'e ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak 1000 ml distile suda eritilip tüplere 5ml pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda 121 °C'de 15-20 dk steril edilmiştir.

*Enterococcus* kültürlerinden alınan koloniler iğne öze ile besiyerinin dip kısmına kadar dik bir şekilde batırılarak ekilmiştir. 37 °C'de 48 saat inkübasyon sonucunda ekim çizgisi boyunca ters çam ağacı biçimi gösteren koloniler hareket pozitif olarak değerlendirilmiştir.

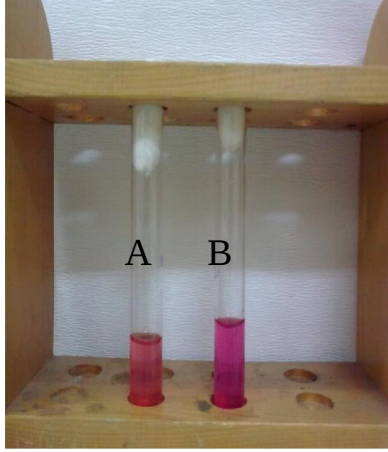
#### Arjinin hidrolizi

Arjinin dihidroliz besiyeri (Thornley)

|                                 |         |
|---------------------------------|---------|
| Pepton                          | 1 gr    |
| NaCl                            | 5 gr    |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | 0,3 gr  |
| Fenol Kırmızısı                 | 0,01 gr |
| L-arjinin monohidroklorid       | 10 gr   |
| Agar                            | 3 gr    |
| Distile su                      | 1000 ml |

pH 7,2±0,2'e ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak 1000 ml distile suda eritilip 4ml tüplere pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda 121 °C'de 15-20 dk steril edilmiştir.

Stok kültürden alınan koloniler besiyerine ekimi yapılarak 27 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda besiyerinin renginin portakal kırmızısından mor renge dönüşmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir.



Resim 3.25. Arjinin hidrolizi

A: Arjinin hidrolizi negatif

B: Arjinin hidrolizi pozitif

#### Karbonhidrat fermantasyon testi

Purple Broth Base (BD Difco 211558)

|                     |         |
|---------------------|---------|
| Proteaz pepton no:3 | 10 gr   |
| Sığır özütü         | 1 gr    |
| Sodyum Klorid       | 5 gr    |
| Brom Krezol Moru    | 0,02 gr |
| Distile su          | 1000 ml |

pH  $6,8 \pm 0,2$ 'e ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak 1000 ml distile suda eritilip 9 ml tüplere pipetlenerek otoklavda  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 15-20 dk steril edilmiştir.

#### Karbonhidrat Solusyonu

|                                                                               |       |
|-------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Karbonhidrat (mannitol, sorbitol, sorboz, arabinoz, raffinoz, sukroz, laktoz) | 1 gr  |
| Distile su                                                                    | 10 ml |

Solüsyon hazırlandıktan membran filtreden geçirilerek steril edilmiştir.

|                             |      |
|-----------------------------|------|
| Karbonhidrat Temel Besiyeri | 9 ml |
| Karbonhidrat Solüsyonu      | 1 ml |

İzolatların %10'luk mannitol, sorbitol, sorboz, L-arabinoz, D-raffinoz, sukroz, laktoz içeren karbonhidrat fermantasyon besi yerine ekimi yapılarak  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 7 gün inkübe edilmiştir.

Besiyerindeki brom krezol moru indikatörünün renginin sarıya dönüştüğü görüldüğünde test pozitif olarak değerlendirilmiştir.

#### Enterococcus izolatlarının tür seviyesinde tanımlanması

*Enterococcus* izolatlarının saflık kontrolleri yapıldıktan sonra tür seviyesindeki tanımlanmaların doğrulanması Becton Dickinson (BD) BBL Crystal Identification Systems ve Gram-Positive ID kit [Washington ve diğerleri 2006] ile yapılmıştır. Tryptic Soy Agar besiyerine tek koloni yöntemine göre ekimleri yapılan *Enterococcus* izolatları 37 °C’de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda üreyen *Enterococcus* kültürleri tanımla kitlerine ait solüsyonlara 0,5 Mc Farland bulanıklığına eş değer şekilde ekilip solüsyonun tamamı kit paneline aktarılmıştır. Paneller 18-24 saat 35-37 °C’de inkübe edildikten sonra) BBL Crystal Panel Viewer cihazı ve Gram-Positive ID kit’e ait renkli okuma kartı ile değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonuçları bilgisayar ortamında BBL Crystal Identification Systems programına göre yapılarak *Enterococcus* türleri tanımlanmıştır.

### **3.6. Kongo Kırmızılı Agar Yöntem ile Slime Faktörün Belirlenmesi**

*Enterococcus*, *Staphylococcus*, *E. cloacae* ve *E. coli* izolatlarının Nutrient Agar (NA) besiyerindeki 18-24 saatlik taze kültürlerinden alınıp Congo Red Agara ekimleri yapılmıştır. Siyah renkte üreyen koloniler kuvvetli pozitif (+++) (3cm ↑), orta pozitif (++) (1-2 cm) ve zayıf pozitif (+) (1 cm ↓) olarak değerlendirilmiştir (Gündoğan ve diğerleri, 2006).

#### **3.6.1. Congo Red Agar**

|                            |        |
|----------------------------|--------|
| Brain heart infusion soiid | 17,5 g |
| Triptoz                    | 10 g   |
| Glikoz                     | 2 g    |
| Sodyum klorid              | 5 g    |
| Disodyum hidrojen fosfat   | 2,5 g  |
| Sükroz                     | 50 g   |
| Kongo red                  | 0,8 g  |
| Agar                       | 10 g   |

pH =7,3±0,2'ye ayarlanıp besiyeri 97,8 g/l olacak şekilde distile suda çözülüp, 121 °C'de 15 dk otoklavlanmıştır (Arciola ve diğerleri 2002).



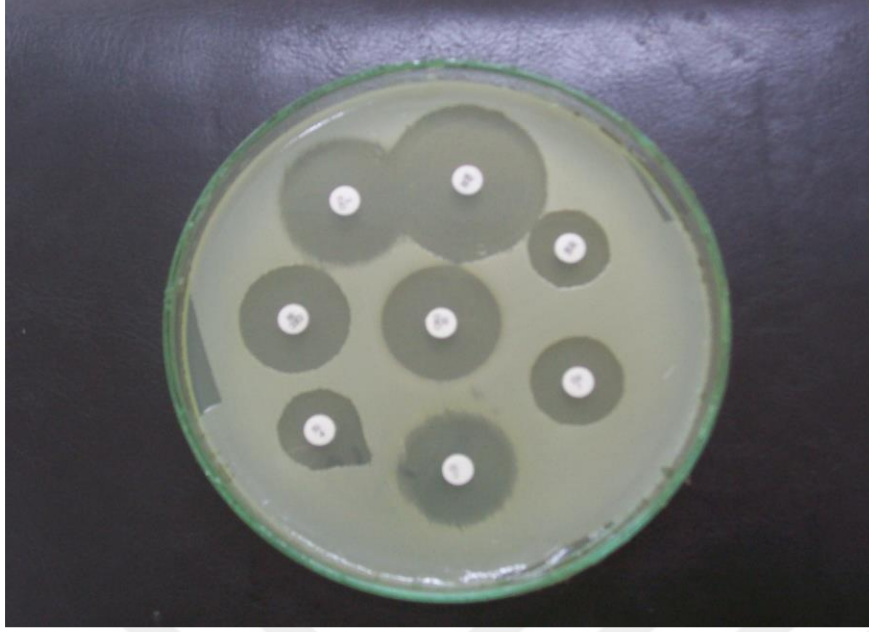
Resim 3.26. Kongo Red Agar

### 3.7. Gram (-) ve Gram (+) Bakteri Türlerinin Antibiyotik Dirençlilikleri

Çalışmamızda Gram (-) ve Gram (+) bakteri türlerinin antibiyotik duyarlılıkları CLSI da (Clinical and Laboratory Standard Institute) (CLSI 2013) belirtilen kriterlere göre Kirby-Bauer disk diffüzyon yöntemi ile belirlenmiştir.

#### 3.7.1. Kirby –Bauer disk diffüzyon yöntemi

Gram (-) ve Gram (+) bakteri türleri Müller Hilton besiyeri ne ekilerek 37 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra, kültürlerden 2-3 koloni alınarak, 0,5 Mc Farland bulanık standardına eşdeğer şekilde serum fizyolojik içinde süspanse edilmiştir. Süspansiyondan steril eküvyon çubuk ile alınarak Müller Hilton besiyeri yüzeyine sürme yöntemi ile ekilmiştir. Besiyeri yüzeyi kuruduktan sonra antibiyotik diskleri yerleştirilerek 37 °C 18-24 saat inkübasyon sonucunda oluşan antibiyotik inhibisyon zon çapları milimetrik olarak ölçülmüştür. Elde edilen zon çapları CLSI'da (CLSI 2013) belirtilen zon çapları ile karşılaştırılarak Gram (-) ve Gram (+) bakteri türlerinin antibiyotik dirençlilik değerlendirmeleri yapılmıştır.



Resim 3.27. Kirby –Bauer disk diffüzyon yöntemi

Mc Farland bulanıklık tüpü

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

|                                                                          |         |
|--------------------------------------------------------------------------|---------|
| 0,048 M BaCl <sub>2</sub> (%1,173 gr BaCl <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O) | 0,5 ml  |
| + 0,18M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> / H <sub>2</sub> O (%1 v/v)       | 99,5 ml |

0,5 Mc Farland = 10<sup>8</sup> cfu/ml

Çizelge 3.1. Balık örneklerinden izole edilen Gram (-) bakteri türleri için kullanılan antibiyotik diskleri ve duyarlılık sınırları

| Antibiyotik          | Antibiyotik konsantrasyonu (µg) | Zon çapı (mm) |          |
|----------------------|---------------------------------|---------------|----------|
|                      |                                 | Hassas        | Dirençli |
| Ampisilin (AMP)      | 10 µg                           | ≥17           | ≤13      |
| Sefotaksim (CTX)     | 30 µg                           | ≥26           | ≤22      |
| Gentamisin (CN)      | 10 µg                           | ≥15           | ≤12      |
| Tetrasiklin (TE)     | 30 µg                           | ≥15           | ≤11      |
| Seftriakson (CRO)    | 30 µg                           | ≥23           | ≤19      |
| Kloramfenikol(C )    | 30 µg                           | ≥18           | ≤12      |
| Siprofloksasin (CIP) | 5 µg                            | ≥21           | ≤15      |
| Aztreonam (ATM)      | 30µg                            | ≥21           | ≤17      |
| Ceftazidim (CAZ)     | 30 µg                           | ≥21           | ≤17      |
| Amoksisilin (AML)    | 10 µg                           | ≥17           | ≤13      |
| İmipenem (IPM)       | 10 µg                           | ≥23           | ≤19      |

Çizelge 3.1. (devam) Balık örneklerinden izole edilen Gram (-) bakteri türleri için kullanılan antibiyotik diskleri ve duyarlılık sınırları

|                                                     |               |      |      |
|-----------------------------------------------------|---------------|------|------|
| Menepenem (MEM)                                     | 10 µg         | ≥23  | ≤19  |
| Piperasilin-tazobaktam (TZP)                        | 100/10 µg     | ≥21  | ≤17  |
| Ertapenem (ETP)                                     | 10 µg         | ≥ 22 | ≤ 18 |
| Amikasin (AK)                                       | 30 µg         | ≥17  | ≤14  |
| Trimetoprim <sup>(+)</sup><br>Sulfametoksazol (SXT) | 1,25/23,75 µg | ≥16  | ≤10  |
| Sulbaktam (+) Ampisilin (SAM)                       | 10/10 µg      | ≥15  | ≤11  |
| Amoksisilin <sup>(+)</sup><br>klavulanik Asit (AMC) | 20/10 µg      | ≥18  | ≤13  |

Çalışmamızda Gram (-) bakteri türlerinin Piperacilin-tazobaktam (TZP, 100/10 µg ;oxoid), Amikasin(AK, 30 µg; oxoid), Aztreonam (ATM, 30 µg; oxoid), Kloramfenikol (C, 30 µg; oxoid), Sefotaksim (CTX, 30 µg; oxoid), Seftazidim (CAZ, 30 µg; oxoid), Seftriakson (CRO,30 µg; oxoid), Tetrasiklin (TE, 30 µg; oxoid), Amoksisilik-klavulanik asit (AMC, 20/10 µg; oxoid), Ampisilin-Sulbaktam (SAM, 10/10 µg; oxoid), Ampisilin (AMP , 10 µg; oxoid), Amoksisilin (AML ,10 µg; oxoid), Ertapenem(ETP , 10 µg; oxoid), Gentamisin (CN, 10 µg; oxoid), İmipenem (İPM, 10 µg; oxoid), Siprofloksasin (Cıp, 5 µg; oxoid), Trimethoprim/sulfometoksazol (SXT, 1,25/23,75 µg; oxoid), Meropenem (MEM, 10 µg; oxoid) antibiyotiklerine duyarlılıkları araştırılmıştır.

Çizelge 3.2. Balık örneklerinden izole edilen Gram (+) bakteri türleri için kullanılan antibiyotik diskleri ve duyarlılık sınırları

| Antibiyotik        | Antibiyotik konsantrasyonu<br>(µg) | Zon çapı (mm) |          |
|--------------------|------------------------------------|---------------|----------|
|                    |                                    | Hassas        | Dirençli |
| Metisilin (MET)    | 1 µg                               | ≥13           | ≤10      |
| Vankomisin (VA)    | 30 µg                              | ≥17           | ≤14      |
| Gentamisin (CN)    | 10 µg                              | ≥15           | ≤12      |
| Tetrasiklin (TE)   | 30 µg                              | ≥19           | ≤14      |
| Amikasin (AK)      | 30 µg                              | ≥17           | ≤14      |
| Kloramfenikol (C ) | 30 µg                              | ≥18           | ≤12      |
| Eritromisin ( E )  | 15 µg                              | ≥23           | ≤13      |
| Klindamisin (DA)   | 2 µg                               | ≥21           | ≤14      |

Çalışmamızda Staphylococcus türlerinin; Amikasin (AK, 30 µg; oxoid), Kloramfenikol (C, 30 µg; oxoid), Tetrasiklin (TE, 30 µg; oxoid), Gentamisin (CN, 10 µg ; oxoid) ,Vankomisin (VA ,30 µg; oxoid ), Eritromisin (E, 15 µg; oxoid ), Metisilin (MET, 1µg; oxoid ), Klindamisin (DA, 2 µg; oxoid) antibiyotiklerine karşı duyarlılıkları araştırılmıştır.

### 3.7.2. *Enterococcus* türlerinin antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi

Antibiyotik duyarlılık testi CLSI'da (Clinical and Laboratory Standart Instute) [CLSI 2013] belirtilen kriterlere göre Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi izlenerek yapılmıştır. Kanlı agar besiyerine ekilip 30-35 °C'de 24 saat inkübe edilen kültürlerden 2-3 koloni alınarak 0,5 Macfarland bulanıklık standardına eşdeğer şekilde serum fizyolojik içinde süspanse edilmiştir. Süspansiyondan, steril eküvyon çubuk ile alınarak kanlı agar besiyeri üzerine ekim yapılmıştır. Besiyeri yüzeyi kuruduktan sonra antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. 37 °C'de 18-24 saatlik inkübasyon sonuncunda oluşan antibiyotik inhibisyon zon çapları milimetrik olarak ölçülmüştür. Elde edilen zon çapları CLSI'da (CLSI 2013) belirtilen zon çapları ile karşılaştırılarak Enterococcusların antibiyotiklere hassas ve dirençli olarak değerlendirilmesi yapılmıştır.

Çizelge 3.3. Fermente et örneklerinden izole edilen *Enterococcus* türleri için kullanılan antibiyotik diskleri ve duyarlılık sınırları

| Antibiyotik           | Antibiyotik Zon Çapı (µg) | Zon Çapı (mm) |          |
|-----------------------|---------------------------|---------------|----------|
|                       |                           | Duyarlı       | Dirençli |
| Ampisilin (AM)        | 10 (µg)                   | ≥ 17          | ≤ 16     |
| Vankomisin (VA)       | 30 (µg)                   | ≥ 17          | ≤ 14     |
| Teikoplanin (TE)      | 30 (µg)                   | ≥ 14          | ≤ 10     |
| Eritromisin ( E)      | 15 (µg)                   | ≥ 23          | ≤ 13     |
| Gentamisin (CN)       | 120 (µg)                  | ≥ 10          | ≤ 6      |
| Tetrasiklin (TEC)     | 30 (µg)                   | ≥ 19          | ≤ 14     |
| Nitrofurantain (F)    | 300 (µg)                  | ≥ 17          | ≤ 14     |
| Kloramfenikol(C )     | 30 (µg)                   | ≥ 18          | ≤ 12     |
| Siprofloksasin (CIP)) | 5 (µg)                    | ≥ 21          | ≤ 15     |

Çalışmamızda *Enterococcus* türlerinin; Ampisilin (AM, 10 µg; oxoid), Kloramfenikol (C, 30 µg; oxoid), Tetrasiklin (TEC, 30 µg; oxoid), Gentamisin (CN, 120 µg; oxoid), Vankomisin (VA, 30 µg; oxoid), Eritromisin (E, 15 µg; oxoid ), Teikoplanin (TEC, 30 µg; oxoid), Nitrofurantain (F, 300 µg; oxoid), Ciproflaxin (CIP, 5 µg; oxoid) antibiyotiklerine karşı duyarlılıkları araştırılmıştır.



#### 4. BULGULAR

Araştırmamızda Ankara tüketime sunulan 52 adet balık örneklerinden izole edilen 133 adet Gram (-) ve Gram (+) bakteri izolatu ve 80 adet fermente et örneğinden 80 adet *Enterococcus* izolatu elde edilmiştir. Çalışmamızda 52 adet balık örneklerinden 133 adet Gram (+) ve Gram (-) bakteri ve 80 adet fermente et örneğinden 80 adet *Enterococcus* cinsi bakteri izole edilmiştir. Elde ettiğimiz bakteri izolatlarında kongo kırmızılı agar yöntemi ile slime varlığı ve Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılıkları araştırılmıştır.

Çizelge 4.1. Bağırsak ve solungaç örneklerinden izole edilen bakteri izolatlarının balık türlerine göre dağılımı

| Balık örnekleri    | Bağırsak |      | Solungaç |      | Toplam |      |
|--------------------|----------|------|----------|------|--------|------|
| Tatlı su balıkları | n        | %    | n        | %    | n      | %    |
| Sazan              | 10       | 25   | 30       | 75   | 40     | 30,1 |
| Alabalık           | 7        | 28   | 18       | 72   | 25     | 18,8 |
| Toplam             | 17       | 26,1 | 48       | 73,9 | 65     | 48,9 |
| Deniz balıkları    | n        | %    | n        | %    | n      | %    |
| Palamut            | 17       | 43,5 | 22       | 56,5 | 39     | 29,3 |
| Deniz Levreği      | 11       | 37,9 | 18       | 62,1 | 29     | 21,8 |
| Toplam             | 28       | 41,1 | 40       | 58,9 | 68     | 51,1 |
| Genel Toplam       | 45       | 33,8 | 88       | 66,2 | 133    | 100  |

52 adet balık örneğinden izole edilen Gram (-) ve Gram (+) bakteri üyesi 133 izolatu 45'i (%33,8) bağırsak örneklerinden, 88'i (%66,2) ise solungaç örneklerinden izole edilmiştir. Tatlı su balıklarından izole edilen 65 izolatu 17'si (%26,1) bağırsak, 48'i (%73,9) ise solungaç örneklerinden izole edilirken, deniz balıklarından izole edilen 68 izolatu 28'i (%41,1) bağırsak, 40'ı solungaç örneklerinden izole edilmiştir.

Balık örneklerinden izole edilen 133 izolatu; sazan balığından izole edilen 40 izolatu 10'u (%25) bağırsak, 30'u (%75) solungaç örneklerinden, alabalıktan izole edilen 25 izolatu 7'si (%28) bağırsak, 18'i (%72) solungaç örneklerinden, palamuttan izole edilen 39 izolatu 17'si (%43,5) bağırsak, 22'si (%56,5) solungaç örneklerinden, deniz levreğinden izole edilen 29 izolatu 11'i (37,9) bağırsak, 18'i (%62,1) solungaç örneklerinden izole edilmiştir.

Çizelge 4.2. Balıkların bağırsak ve solungaçlardan izole edilen Gram (+) ve Gram (-) bakteri türlerinin dağılımı

| Bakteri                | Bağırsak |       | Solungaç |       | Toplam |       |
|------------------------|----------|-------|----------|-------|--------|-------|
|                        | n        | %     | n        | %     | n      | %     |
| <i>E. cloacae</i>      | 14       | 31,11 | 18       | 20,45 | 32     | 24,06 |
| <i>E. coli</i>         | 14       | 31,11 | 12       | 13,63 | 26     | 19,54 |
| <i>S. aureus</i>       | 3        | 6,66  | 8        | 9,09  | 11     | 8,27  |
| <i>S. haemolyticus</i> | 8        | 17,77 | 24       | 27,27 | 32     | 24,06 |
| <i>S. warnerii</i>     | 6        | 13,33 | 26       | 29,54 | 32     | 24,06 |
| Toplam                 | 45       | 33,8  | 88       | 66,2  | 133    | 100   |

Balık örneklerinden izole edilen 133 izolatın 32'si (%24,06) *E. cloacae*, 26'sı (%19,54) *E. coli*, 11'i (%8,27) *S. aureus*, 32'si (%24,06) *S. haemolyticus*, 32'si (%24,06) *S. warnerii* olarak tanımlanmıştır.

Bağırsak örneklerinden izole edilen 45 izolatın 14'ü (%31,11) *E. cloacae*, 14'ü (%31,11) *E. coli*, 3'ü (%6,66) *S. aureus*, 8'i (%17,77) *S. haemolyticus*, 6'sı (%13,33) *S. warnerii* olarak tanımlanmıştır.

Solungaç örneklerinden izole edilen 88 izolatın 18'i (%20,45) *E. cloacae*, 12'si (%13,63) *E. coli*, 8'i (%9,09) *S. aureus*, 24'ü (%27,27) *S. haemolyticus*, 26'sı (%29,54) *S. warnerii* olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.3. Balıklardan izole edilen *E. cloacae* ve *E. coli* izolatlarının antibiyotik dirençlilikleri

| Antibiyotik                           | <i>E.cloacae</i> (n=32) |       |         |       | <i>E.coli</i> (n=26) |       |         |       | Toplam (n=58) |       |         |       |
|---------------------------------------|-------------------------|-------|---------|-------|----------------------|-------|---------|-------|---------------|-------|---------|-------|
|                                       | Dirençli                |       | Duyarlı |       | Dirençli             |       | Duyarlı |       | Dirençli      |       | Duyarlı |       |
|                                       | n                       | %     | n       | %     | n                    | %     | n       | %     | n             | %     | n       | %     |
| Ampisilin (AMP)                       | 25                      | 78,12 | 7       | 21,87 | 13                   | 50    | 13      | 50    | 38            | 65,51 | 20      | 34,48 |
| Sefotaksim (CTX)                      | 2                       | 6,25  | 30      | 93,75 | 1                    | 3,84  | 25      | 96,16 | 3             | 5,17  | 55      | 94,83 |
| Gentamisin (CN)                       | 3                       | 9,38  | 29      | 90,62 | 4                    | 15,38 | 22      | 84,62 | 7             | 12,07 | 51      | 87,93 |
| Tetrasiklin (TE)                      | 2                       | 6,25  | 30      | 93,75 | 8                    | 28,57 | 18      | 64,28 | 10            | 17,24 | 48      | 82,75 |
| Seftriakson (CRO)                     | 3                       | 9,38  | 29      | 90,62 | 1                    | 3,84  | 25      | 96,16 | 4             | 6,9   | 54      | 93,1  |
| Kloramfenikol(C )                     | 1                       | 3,13  | 31      | 96,87 | 5                    | 19,23 | 21      | 80,77 | 6             | 10,35 | 52      | 89,65 |
| Siprofloksasin (CIP)                  | 2                       | 6,25  | 30      | 93,75 | 6                    | 23,07 | 20      | 76,92 | 8             | 13,79 | 50      | 86,2  |
| Aztreonam(ATM)                        | 3                       | 9,37  | 29      | 90,62 | 2                    | 7,69  | 24      | 92,3  | 5             | 8,62  | 53      | 91,37 |
| Seftazidim (CAZ)                      | 2                       | 6,25  | 30      | 93,75 | 2                    | 7,69  | 24      | 92,31 | 4             | 6,9   | 54      | 93,1  |
| Amoksisilin (AML)                     | 31                      | 96,87 | 1       | 3,12  | 16                   | 61,53 | 10      | 38,46 | 47            | 81,03 | 11      | 18,95 |
| İmipenem (IPM)                        | 1                       | 3,13  | 31      | 96,87 | 0                    | 0     | 26      | 100   | 1             | 1,72  | 57      | 98,28 |
| Piperasilin-tazobaktam (TZP)          | 1                       | 3,13  | 31      | 96,87 | 3                    | 11,54 | 23      | 88,46 | 4             | 6,9   | 54      | 93,1  |
| Ertapenem (ETP)                       | 2                       | 6,25  | 30      | 93,75 | 0                    | 0     | 26      | 100   | 2             | 3,45  | 56      | 96,55 |
| Amikasin (AK)                         | 5                       | 15,62 | 27      | 84,37 | 4                    | 15,38 | 22      | 84,62 | 9             | 15,52 | 49      | 84,48 |
| Trimetoprim (+) Sulfametoksazol (SXT) | 2                       | 6,25  | 30      | 93,75 | 2                    | 7,69  | 24      | 92,3  | 4             | 6,9   | 54      | 93,1  |
| Sulbaktam (+) Ampisilin (SAM)         | 24                      | 75    | 8       | 25    | 13                   | 50    | 13      | 50    | 37            | 63,79 | 21      | 36,2  |
| Amoksisilin (+) klavulanik Asit (AMC) | 26                      | 81,25 | 6       | 18,75 | 9                    | 34,62 | 17      | 65,38 | 35            | 60,35 | 23      | 29,65 |

Balık örneklerinden izole edilen 26 *E. coli* bakteri izolatının, 13'ü (%50) ampisilin, 1'i (%3,84) sefotaksim, 4'ü (%15,38) gentamisin, 8'i (%28,57) tetrasiklin, 1'i (%3,84) seftriakson, 5'i (%19,23) kloramfenikol, 6'sı (%23,07) siproflaksasin, 2'si (%7,69) aztreonam, 2'si (%7,69) seftazidim, 16'sı (%61,53) amoksisilin, 0'ı (%0) imipenem, 3'ü (%11,54) piperasilin-tazobaktam, 0'ı (%0) ertapenem, 4'ü (%15,38) amikasin, 2'si (%7,69) trimetoprim (+) sulfametoksazol, 13'ü (%50) sulbaktam(+) ampisilin, 9'u (%34,62) amoksisilin (+) klavulanik asit antibiyotiklerine karşı dirençli bulunmuştur

Balık örneklerinden izole edilen 32 *E. cloacae* bakteri izolatının, 25'i (%78,12) ampisilin, 2'i (%6,25) sefotaksim, 3'ü (%10) gentamisin, 2'si (%6,25) tetrasiklin, 3'ü (%9,38) seftriakson, 1'i (%3,13) kloramfenikol, 2'si (%6,25) siproflaksasin, 3'ü (%9,37) aztreonam, 2'si (%6,25) seftazidim, 31'i (%96,87) amoksisilin, 1'i (%3,13) imipenem, 1'i (%3,13) piperasilin-tazobaktam, 2'si (%6,25) ertapenem, 5'i (%15,62) amikasin, 2'si (%6,25) trimetoprim (+) sulfametoksazol, 24'ü (%75) sulbaktam(+) ampisilin, 26'sı (%81,25) amoksisilin (+) klavulanik asit antibiyotiklerine karşı dirençli bulunmuştur.

Çizelge 4.4. Balık örneklerinden izole edilen *E.cloacae* ve *E.coli* izolatlarının slime oluşumu

| Bakteri          | Kuvvetli |       | Orta |       | Zayıf |       | Negatif |       | Toplam |       |
|------------------|----------|-------|------|-------|-------|-------|---------|-------|--------|-------|
|                  | n        | %     | n    | %     | N     | %     | n       | %     | n      | %     |
| <i>E.cloacae</i> | 6        | 18,75 | 8    | 25    | 10    | 31,25 | 8       | 25    | 32     | 55,17 |
| <i>E.coli</i>    | 0        | 0     | 1    | 3,85  | 0     | 0     | 25      | 96,15 | 26     | 44,82 |
| Toplam           | 6        | 10,34 | 9    | 15,51 | 10    | 17,24 | 33      | 56,89 | 58     | 100   |

Balık örneklerinden izole edilen 58 adet Gram (-) bakteri izolatının slime değerleri 6'sı (%10,34) kuvvetli, 9'u (%15,51) orta, 10'u (%17,24) zayıf slime pozitif olarak bulunmuştur. 33'ü (%56,89) ise slime negatif olarak bulunmuştur.

Balık örneklerinden izole edilen 32 adet *E. cloacae* izolatının 6'sı (%18,75) kuvvetli, 8'i (%25) orta, 10'u (%31,25) zayıf slime pozitif olarak bulunmuştur. 8'i (%25) ise slime negatif olarak bulunmuştur.

Balık örneklerinden izole edilen 26 adet *E. coli* izolatının, 1'i (%3,85) orta, derecede slime pozitif olarak bulunmuştur. 25'i (%96,15) ise slime negatif olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Balıklardan izole edilen *S. haemolyticus*, *S.warnerii*, *S.aureus* izolatlarının antibiyotik dirençlilikleri

| Antibiyotik       | <i>S.haemolyticus</i><br>(n=32) |       |         |       | <i>S.warnerii</i> (n=32) |       |         |       | <i>S.aureus</i> (n=11) |       |         |       | Toplam (n=75) |       |         |       |
|-------------------|---------------------------------|-------|---------|-------|--------------------------|-------|---------|-------|------------------------|-------|---------|-------|---------------|-------|---------|-------|
|                   | Dirençli                        |       | Duyarlı |       | Dirençli                 |       | Duyarlı |       | Dirençli               |       | Duyarlı |       | Dirençli      |       | Duyarlı |       |
|                   | n                               | %     | n       | %     | n                        | %     | n       | %     | n                      | %     | n       | %     | n             | %     | n       | %     |
| Amikasin (AK)     | 0                               | 0     | 32      | 100   | 2                        | 6,25  | 30      | 93,75 | 5                      | 45,45 | 6       | 54,55 | 7             | 9,33  | 68      | 90,67 |
| Vankomisin (VA)   | 0                               | 0     | 32      | 100   | 0                        | 0     | 32      | 100   | 0                      | 0     | 11      | 100   | 0             | 0     | 75      | 100   |
| Metisilin (MET)   | 17                              | 53,13 | 15      | 46,87 | 10                       | 31,25 | 22      | 68,75 | 2                      | 18,18 | 9       | 81,82 | 29            | 38,66 | 46      | 61,34 |
| Eritromisin (E)   | 21                              | 65,63 | 11      | 34,37 | 12                       | 37,5  | 20      | 62,5  | 1                      | 9,1   | 10      | 90,9  | 34            | 45,33 | 41      | 54,67 |
| Gentamisin (CN)   | 2                               | 6,25  | 30      | 93,75 | 0                        | 0     | 32      | 100   | 5                      | 45,45 | 6       | 54,55 | 7             | 9,33  | 68      | 90,67 |
| Tetrasiklin (TE)  | 10                              | 31,25 | 22      | 68,75 | 5                        | 15,63 | 27      | 84,37 | 7                      | 63,63 | 4       | 36,37 | 22            | 29,33 | 53      | 70,66 |
| Klindamisin (DA)  | 2                               | 6,25  | 30      | 93,75 | 9                        | 28,13 | 23      | 71,87 | 2                      | 18,18 | 9       | 81,82 | 13            | 17,33 | 62      | 82,67 |
| Kloramfenikol (C) | 0                               | 0     | 32      | 100   | 1                        | 3,12  | 31      | 96,88 | 1                      | 9,1   | 10      | 90,9  | 2             | 2,67  | 73      | 97,33 |

Balık örneklerinden izole edilen 32 *S. haemolyticus* bakteri izolatının 17'si (%53,13) metisilin, 21'i (%65,63) eritromisin, 2'si (%6,25) gentamisin, 10'u (%31,25) tetrasiklin, 2'si (%6,25) klindamisin antibiyotiklerine karşı dirençli bulunmuştur.

Balık örneklerinden izole edilen 32 *S. warnerii* bakteri izolatının 2'si (%6,25) amikasin, 10'u (%31,25) metisilin, 12'si (%37,5) eritromisin, 5'i (%15,63) tetrasiklin, 9'u (%28,13) klindamisin, 1'i (%3,12) kloramfenikol antibiyotiklerine karşı dirençli bulunmuştur.

Balık örneklerinden izole edilen 11 *S. aureus* bakteri izolatının 5'i (%45,45) amikasin, 2'si (%18,18) metisilin, 1'i (%9,1) eritromisin, 5'i (%45,45) gentamisin, 7'si (%63,63) tetrasiklin, 2'si (%18,18) klindamisin, 1'i (%9,1) kloramfenikol antibiyotiklerine karşı dirençli bulunmuştur.

Çizelge 4.6. Balık örneklerinden izole edilen *S. haemolyticus*, *S. warnerii* ve *S. aureus* izolatlarının slime oluşumu

| Bakteri                | Kuvvetli |      | Orta |       | Zayıf |      | Negatif |      | Toplam |      |
|------------------------|----------|------|------|-------|-------|------|---------|------|--------|------|
|                        | n        | %    | n    | %     | n     | %    | n       | %    | n      | %    |
| <i>S. haemolyticus</i> | 2        | 6,25 | 13   | 40,6  | 9     | 28,1 | 8       | 25   | 32     | 42,7 |
| <i>S. warnerii</i>     | 8        | 25   | 6    | 18,75 | 11    | 34,3 | 7       | 21,9 | 32     | 42,7 |
| <i>S. aureus</i>       | 0        | 0    | 8    | 72,7  | 3     | 27,2 | 0       | 0    | 11     | 14,6 |
| Toplam                 | 10       | 13,3 | 27   | 36    | 23    | 30   | 15      | 20   | 75     | 100  |

Balık örneklerinden izole edilen 75 adet *Staphylococcus* izolatının slime değerleri, 10'u (%13,3) kuvvetli, 27'si (%36) orta, 23'ü (%30) zayıf slime pozitif olarak bulunmuştur. 15'i (%20) ise slime negatif olarak bulunmuştur.

Balık örneklerinden izole edilen 32 adet *S. haemolyticus* izolatının 2'si (%6,25) kuvvetli, 13'ü (%40,6) orta, 9'u (%28,1) zayıf slime pozitif olarak bulunmuştur. 8'i (%25) ise slime negatif olarak bulunmuştur.

Balık örneklerinden izole edilen 32 adet *S. warnerii* izolatının 8'si (%25) kuvvetli, 6'sı (%18,75) orta, 11'i (%34,3) zayıf slime pozitif olarak bulunmuştur. 7'si (%21,9) ise slime negatif olarak bulunmuştur.

Balık örneklerinden izole edilen 11 adet *S. aureus* izolatının, 8'i (%72,7) orta, 3'ü (%27,2) zayıf slime pozitif olarak bulunmuştur. Kuvvetli slime pozitif ve slime negatif sonuç elde edilmemiştir.

Çizelge 4.7. Balık örneklerinden izole edilen *Staphylococcus*'ların metisilin direnci ve slime oluşumu

| Bakteri               | Metisilin Dirençli (n=29) |       |               |       | Metisilin Duyarlı(n=46) |       |               |       | Toplam |
|-----------------------|---------------------------|-------|---------------|-------|-------------------------|-------|---------------|-------|--------|
|                       | Slime pozitif             |       | Slime negatif |       | Slime pozitif           |       | Slime negatif |       |        |
|                       | n                         | %     | n             | %     | n                       | %     | n             | %     |        |
| <i>S.haemolyticus</i> | 13                        | 40,63 | 4             | 12,5  | 10                      | 31,25 | 5             | 15,62 | 32     |
| <i>S.warnerii</i>     | 9                         | 28,13 | 1             | 3,12  | 14                      | 43,75 | 8             | 25    | 32     |
| <i>S.aureus</i>       | 2                         | 18,18 | 0             | 18,18 | 7                       | 63,63 | 2             | 18,18 | 11     |
| Toplam                | 24                        | 37,33 | 5             | 6,66  | 31                      | 41,33 | 15            | 14,66 | 75     |

Balık örneklerinden izole edilen 75 *Staphylococcus* izolatının'un 24'ü (%32) metisilin dirençli ve slime pozitif, 5'i (%6,66) metisilin dirençli slime negatif, 31'i (%41,33) metisilin duyarlı slime pozitif, 15'i (%20) metisilin duyarlı slime negatif olarak bulunmuştur.

Balık örneklerinden izole edilen 32 *S. haemolyticus*'un 13'ü (%40,63) metisilin dirençli ve slime pozitif, 4'ü (%12,5) metisilin dirençli slime negatif, 10'u (%31,25) metisilin duyarlı slime pozitif, 5'i (%15,62) metisilin duyarlı slime negatif olarak bulunmuştur.

Balık örneklerinden izole edilen 32 *S. warnerii*'nin 9'u (%28,12) metisilin dirençli ve slime pozitif, 1'i (%3,12) metisilin dirençli slime negatif, 14'ü (%43,75) metisilin duyarlı slime pozitif, 8'i (%25) metisilin duyarlı slime negatif olarak bulunmuştur.

Balık örneklerinden izole edilen 11 *S. aureus*'un 2'si (%18,18) metisilin dirençli ve slime pozitif, 7'si (%63,63) metisilin duyarlı slime pozitif, 2'si (%18,18) metisilin duyarlı slime negative olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.8. Fermente et örneklerinden izole edilen *Enterococcus* türlerinin fermente et türlerine göre dağılımı

| Bakteri              | Sucuk |      | Sosis |      | Salam |       | Pastırma |       | Toplam |      |
|----------------------|-------|------|-------|------|-------|-------|----------|-------|--------|------|
|                      | n     | %    | n     | %    | n     | %     | n        | %     | n      | %    |
| <i>E. faecium</i>    | 15    | 37,5 | 4     | 40   | 6     | 40    | 5        | 33,33 | 30     | 37,5 |
| <i>E. flavescens</i> | 15    | 37,5 | 4     | 40   | 5     | 33,33 | 6        | 40    | 30     | 37,5 |
| <i>E. spp</i>        | 10    | 25   | 2     | 20   | 4     | 26,66 | 4        | 26,66 | 20     | 25   |
| Toplam               | 40    | 50   | 10    | 12,5 | 15    | 23,75 | 15       | 23,75 | 80     | 100  |

Fermente et örneklerinden izole edilen 80 *Enterococcus* izolatının 30'u *E. faecium* (%37,5), 20'si *E. flavescens* (%37,5) ve 30'u *E. spp* (%25) olarak tanımlanmıştır.

Sucuk örneklerinden izole edilen toplam 40 *Enterococcus* izolatının 15'i (%37,5) *E. faecium*, 15'i (%37,5) *E. flavescens*, 10'u (%25) *Enterococcus spp.* olarak tanımlanmıştır.

Sosis örneklerinden izole edilen toplam 10 *Enterococcus* izolatının 4'ü (%40) *E. faecium*, 4'ü (%40) *E. flavescens*, 2'si (%20) *Enterococcus spp.* olarak tanımlanmıştır.

Salam örneklerinden izole edilen toplam 15 *Enterococcus* izolatının 6'sı (%40) *E. faecium*, 5'i (%33,33) *E. flavescens*, 4'ü (%26,66) *Enterococcus spp.* olarak tanımlanmıştır.

Pastırma örneklerinden izole edilen toplam 15 *Enterococcus* izolatının 5'ü (%33,33) *E. faecium*, 6'sı (%40) *E. flavescens*, 4'ü (%26,6) *Enterococcus spp.* olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.9. Fermente et örneklerinden izole edilen *E. faecium*, *E. flavescens* ve *E. spp.*, izolatlarının slime oluşumu

| Bakteri                  | Kuvvetli |       | Orta |       | Zayıf |       | Negatif |      | Toplam |      |
|--------------------------|----------|-------|------|-------|-------|-------|---------|------|--------|------|
|                          | n        | %     | n    | %     | n     | %     | n       | %    | n      | %    |
| <i>E. faecium</i>        | 13       | 43,33 | 10   | 33,33 | 7     | 23,33 | 0       | 0    | 30     | 37,5 |
| <i>E. flavescens</i>     | 6        | 20    | 7    | 23,33 | 15    | 50    | 2       | 6,66 | 30     | 37,5 |
| <i>Enterococcus spp.</i> | 1        | 5     | 10   | 50    | 5     | 25    | 4       | 20   | 20     | 25   |
| Toplam                   | 20       | 25    | 27   | 33,75 | 27    | 33,75 | 6       | 7,5  | 80     | 100  |

Fermente et örneklerinden izole edilen 80 adet *Enterococcus* izolatının slime değerleri 20'si (%25) kuvvetli, 27'si (%33,75) orta, 27'si (%33,75) zayıf slime pozitif olarak bulunmuştur. 6'sı (%7,5) ise slime negatif olarak bulunmuştur.

Fermente et örneklerinden izole edilen 30 adet *E. faecium* izolatının 13'ü (%43,33) kuvvetli, 10'u (%33,33) orta, 7'si (%23,33) zayıf slime pozitif olarak bulunmuştur.

Fermente et örneklerinden 30 adet *E. flavescens* izolatının 6'sı (%20) kuvvetli 7'si (%23,33) orta, 15'i (%50) zayıf slime pozitif olarak bulunmuştur. 2'si (%6,66) ise slime negatif olarak bulunmuştur.

Fermente et örneklerinden izole edilen 20 adet *Enterococcus* spp. izolatının, 1'i (%5) kuvvetli, 10'ü (%50) orta, 5'i (%25) zayıf slime pozitif olarak bulunmuştur. 6'sı (%7,5) ise slime negatif olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.10. Fermente et örneklerinden izole edilen *Enterococcus*'ların antibiyotik dirençliliklerinin fermente et türlerine göre dağılımı

| Antibiyotik          | Sucuk(n=40) |      | Sosis(n=10) |    | Salam(n=15) |       | Pastırma(n=15) |       | Toplam (n=80) |       |
|----------------------|-------------|------|-------------|----|-------------|-------|----------------|-------|---------------|-------|
|                      | n           | %    | n           | %  | n           | %     | n              | %     | n             | %     |
| Ampisilin (AM)       | 0           | 0    | 1           | 10 | 3           | 20    | 0              | 0     | 4             | 5     |
| Vankomisin (VA)      | 15          | 37,5 | 4           | 40 | 4           | 26,66 | 4              | 26,66 | 27            | 33,75 |
| Teikoplanin (TEC)    | 1           | 2,5  | 1           | 10 | 0           | 0     | 0              | 0     | 2             | 2,5   |
| Eritromisin (E)      | 16          | 40   | 2           | 20 | 10          | 66,66 | 10             | 66,66 | 38            | 47,5  |
| Gentamisin (CN)      | 3           | 7,5  | 2           | 20 | 1           | 6,66  | 2              | 13,33 | 8             | 10    |
| Tetrasiklin (TE)     | 8           | 20   | 1           | 10 | 1           | 6,66  | 2              | 13,33 | 12            | 15    |
| Nitrofurantoin (F)   | 16          | 40   | 3           | 30 | 3           | 20    | 7              | 46,66 | 29            | 36,25 |
| Kloramfenikol (C)    | 3           | 7,5  | 3           | 30 | 1           | 6,66  | 0              | 0     | 7             | 8,75  |
| Siprofloksasin (CIP) | 6           | 15   | 3           | 30 | 2           | 13,33 | 1              | 6,66  | 12            | 15    |

Sucuk örneklerinden izole edilen 40 *Enterococcus* izolatında 15'i (%37,5) vankomisin, 1'i (%2,5) teikoplanin, 16'sı (%40) eritromisin, 3'ü (%7,5) gentamisin, 8'i (%20) tetrasiklin, 16'sı (%40) nitrofurantoin, 3'ü (%7,5) kloramfenikol, 6'sı (%15) siprofloksasin antibiyotiklerine direnç tespit edilmiştir.

Sosis örneklerinden izole edilen 10 *Enterococcus* izolatında 1'i (%10) ampisilin, 4'ü (%40) vankomisin 1'i (%10) teikoplanin, 2'si (%20) eritromisin, 2'si (%20) gentamisin, 1'i (%10)

tetrasiklin, 3'ü (% 30) nitrofurantoin, 3'ü (%30) kloramfenikol, 3'ü (%30) siprofloksasin antibiyotiklerine direnç tespit edilmiştir.

Salam örneklerinden izole edilen 15 *Enterococcus* izolatında 3'ü (%20) ampisilin, 4'ü (%26,66) vankomisin, 10'u (%66,66) eritromisin, 1'i (%6,66) gentamisin, 1'i (%6,66) tetrasiklin, 3'ü (% 20) nitrofurantoin, 1'i (%6,66) kloramfenikol, 2'si (%13,33) siprofloksasin antibiyotiklerine direnç tespit edilmiştir.

Pastırma örneklerinden izole edilen 15 *Enterococcus* izolatında 4'ü (%26,66) vankomisin, 10'u (%66,66) eritromisin, 2'si (%13,33) gentamisin, 2'si (%13,33) tetrasiklin, 7'si (%46,66) nitrofurantoin, 1'i (%6,66) siprofloksasin antibiyotiklerine direnç tespit edilmiştir.

Çizelge 4.11. Fermente et örneklerinden izole edilen *Enterococcus*'ların antibiyotik dirençlilikleri

| Antibiyotik          | <i>E. faecium</i> (n=30) |       |         |       | <i>E. flavescens</i> (n=30) |       |         |       | <i>Enterococcus</i> spp. (n=20) |    |         |    | Toplam (n=80) |       |         |       |
|----------------------|--------------------------|-------|---------|-------|-----------------------------|-------|---------|-------|---------------------------------|----|---------|----|---------------|-------|---------|-------|
|                      | Dirençli                 |       | Duyarlı |       | Dirençli                    |       | Duyarlı |       | Dirençli                        |    | Duyarlı |    | Dirençli      |       | Duyarlı |       |
|                      | n                        | %     | n       | %     | n                           | %     | n       | %     | n                               | %  | n       | %  | n             | %     | n       | %     |
| Ampisilin (AM)       | 0                        | 0     | 30      | 100   | 2                           | 6,66  | 28      | 93,33 | 2                               | 10 | 18      | 90 | 4             | 5     | 76      | 95    |
| Vankomisin (VA)      | 6                        | 20    | 24      | 80    | 11                          | 36,66 | 19      | 63,33 | 10                              | 50 | 10      | 50 | 27            | 33,75 | 53      | 66,25 |
| Teikoplanin (TEC)    | 0                        | 0     | 30      | 100   | 0                           | 0     | 30      | 100   | 2                               | 10 | 18      | 90 | 2             | 2,5   | 78      | 97,5  |
| Eritromisin(E)       | 16                       | 53,33 | 14      | 46,66 | 13                          | 43,33 | 17      | 56,66 | 9                               | 45 | 11      | 55 | 38            | 47,5  | 42      | 52,5  |
| Gentamisin (CN)      | 3                        | 10    | 27      | 90    | 2                           | 6,66  | 28      | 93,33 | 3                               | 15 | 17      | 85 | 8             | 10    | 72      | 90    |
| Tetrasiklin (TE)     | 1                        | 3,33  | 29      | 96,66 | 7                           | 23,33 | 23      | 76,66 | 4                               | 20 | 16      | 80 | 12            | 15    | 68      | 85    |
| Nitrofurantoin (F)   | 14                       | 46,66 | 16      | 53,33 | 7                           | 23,33 | 23      | 76,66 | 8                               | 40 | 12      | 60 | 29            | 36,25 | 51      | 63,75 |
| Kloramfenikol (C)    | 0                        | 0     | 30      | 100   | 2                           | 6,66  | 28      | 93,33 | 5                               | 25 | 15      | 75 | 7             | 8,75  | 73      | 91,25 |
| Siprofloksasin (CIP) | 4                        | 13,33 | 26      | 86,66 | 3                           | 10    | 27      | 90    | 5                               | 25 | 15      | 75 | 12            | 15    | 68      | 85    |

Fermente et örneklerinden izole edilen 30 *E. faecium* izolatının, 6'sı (%20) vankomisin, 16'sı (%53,33) eritromisin, 3'ü (%10) gentamisin, 1'i (%3,33) tetrasiklin, 1'i (%3,33) nitrofurantoin, 4'ü (%13,33) siprofloksasin antibiyotiklerine direnç tespit edilmiştir.

Fermente et örneklerinden izole edilen 30 *E. flavescens* izolatının, 2'si (%6,66) ampisilin, 11'i (% 36,66) vankomisin, 13'ü (%43,33) eritromisin, 2'si (%6,66) gentamisin,

7'si (%23,33) tetrasiklin, 7'si (%23,33) nitrofurantoin, 2'si (%6,66) kloramfenikol 3'ü (%10) siprofloksasin antibiyotiklerine direnç tespit edilmiştir.

Fermente et örneklerinden izole edilen 20 *Enterococcus* spp izolatının, 2'si (%10) ampisilin, 10'u (% 50) vankomisin, 2'si (%10) teikoplanin, 9'u (%45) eritromisin, 3'ü (%15) gentamisin, 4'ü (%20) tetrasiklin, 8'i (%40) nitrofurantoin, 5'i (%25) kloramfenikol 5'i (%25) siprofloksasin antibiyotiklerine direnç tespit edilmiştir.

Çizelge 4.12. Fermente et örneklerinden izole edilen *Enterococcus* izolatlarında Vankomisin direnci ve slime oluşumu

| Bakteri                  | Vankomisin Dirençli |       |               |      | Vankomisin Duyarlı |       |               |      | Toplam |
|--------------------------|---------------------|-------|---------------|------|--------------------|-------|---------------|------|--------|
|                          | Slime Pozitif       |       | Slime Negatif |      | Slime Pozitif      |       | Slime Negatif |      |        |
|                          | n                   | %     | n             | %    | n                  | %     | n             | %    |        |
| <i>E.faecium</i>         | 6                   | 20    | 0             | 0    | 24                 | 80    | 0             | 0    | 30     |
| <i>E.flavescens</i>      | 10                  | 33,33 | 1             | 3,33 | 18                 | 60    | 1             | 3,33 | 30     |
| <i>Enterococcus spp.</i> | 7                   | 35    | 3             | 15   | 9                  | 45    | 1             | 5    | 20     |
| Toplam                   | 23                  | 28,75 | 4             | 5    | 51                 | 63,75 | 2             | 2,5  | 80     |

Fermente et örneklerinden izole edilen 80 *Enterococcus* izolatının 23'ü (%28,75) vankomisin dirençli slime pozitif, 4'ü (%5) vankomisin dirençli slime negatif, 51'i (%63,75) vankomisin duyarlı slime pozitif, 2'si (%2,5) vankomisin duyarlı slime negatif olarak bulunmuştur.

Fermente et örneklerinden izole edilen 30 *E. faecium* izolatının 6'sı (%20) vankomisin dirençli slime pozitif, 24'ü (%80) vankomisin duyarlı slime pozitif olarak bulunmuştur.

Fermente et örneklerinden izole edilen 30 *E. flavescens* izolatının 10'u (%33,33) vankomisin dirençli slime pozitif, 1'i (%3,33) vankomisin dirençli slime negatif, 18'i (%60) vankomisin duyarlı slime pozitif, 1'i (%3,33) vankomisin duyarlı slime negatif olarak bulunmuştur.

Fermente et örneklerinden izole edilen 20 *E.spp* izolatının 7'si (%35) vankomisin dirençli slime pozitif, 3'ü (%15) vankomisin dirençli slime negatif, 9'u (%45) vankomisin duyarlı slime pozitif, 1'i (%5) vankomisin duyarlı slime negatif olarak bulunmuştur.

## 5. TARTIŞMA

Gıda güvenliği insan sağlığı için öncelikli konuların başında gelmektedir. Günümüzde gıdaların sıfır risk değerine ulaşması ya da diğer ifade ile sağlığa zararsız kabul edilebilir risk içerebilen gıdaların yine mutlaka güvenilir olarak tüketicilere sunulması amaçlanmaktadır. Amaç insan sağlığını tehdit eden mikroorganizmaların bulundukları ortamdan olabildiğince uzaklaştırılmasıdır (Gül ve Önal, 2008).

Beyaz et özellikle balık eti en fazla tüketilen proteinli gıdaların önemli bir grubunu meydana getirmektedir. Yapılan çalışmalarda proteinin dışında balıklarda ve diğer su ürünlerinde önemli miktarda vitamin ve mineral madde varolduğu ve bu ürünlerin besin değeri açısından önemli oldukları saptanmıştır. Besin değeri açısından öneme sahip olan bu ürünler mikrobiyal olarak bozulmaya karşı çok duyarlıdırlar. Balıkların florası yaşadığı suyun mikrobiyal içeriğine bağlı olarak değişiklikler göstermektedir. Balıkların yaşadığı suda bulunan mikroorganizmalar, taşıma ve işleme sırasında bulaşabilecek birçok mikroorganizmayıda içemektedir.

Tüketilmesi ön görülen balıkların mikrobiyolojik açıdan bazı hijyen parametrelerini taşıması gerekmektedir. Balıkların kas dokularının diğer memeli hayvanlara oranla çok daha hızlı bozulması, avlanmadan tüketilinceye kadar geçen sürede mikroorganizmaların ve diğer etkenlerin etkisine maruz kalmasından dolayı balık eti, tazeliğini ve kalitesini kaybedebilmektedir (Terzi, 2006).

Çalışmamızda 52 adet balık örneklerinden 133 adet Gram (+) ve Gram (-) bakteri izole edilmiştir. Elde ettiğimiz bakteri izolatlarında kongo kırmızılı agar yöntemi ile slime oluşumu ve Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılıkları araştırılmıştır.

Yaptığımız çalışmada balık örneklerinden izole edilen 133 izolatın %24,06'sı *E. cloacae*, %19,5'i *E. coli*, %8,27'si *S. aureus*, %24,06'sı *S. haemolyticus*, %24,06'sı *S. warnerii* olarak tanımlanmıştır.

Memari (2015), balık örneklerinden izole edilen 217 *Staphylococcus* üyesinin %38,2'si *S. warnerii*, %18,3'ü *S. haemolyticus*, %8,3'ü *S. simulans*, %6,9'u *S. intermedius*, %6'sı *S. saprophyticus*, %4,6'sı *S. aureus*, %4,6'sı *S. capitis*, %4,1'i *S. xylosus*, %3,2'si *S. caprae*,

%1,8'i *S. epidermidis*, %1,8'i *S. schleiferi subsp. schleiferi*, %0,9'u *S. cohnii subsp. cohnii*, %0,9'u *S. cohnii subsp. urealyticum* olarak tanımlamıştır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Kıraç (2014) balık örneklerinden izole ettiği 221 Gram (-) bakteri üyesinden %18,1'inin *E. cloacae*, %14'ünün *E. coli* olduğunu bildirmiştir.

Haryani ve diğerleri (2008) yılında Malezya'da 78 adet sokak yiyeceğinin 7'sinde *E. cloacae* tespit etmişlerdir. Sokak yiyeceklerinde *E. cloacae*'ye rastlanılmasının nedenlerinin yetersiz hijyen koşulları, çiğ yiyeceklerin uygunsuz şartlarda muhafaza edilmesi, kontamine suların kullanılması, yiyeceklerin hazırlanmasında kullanılan ekipmanların ve yüzeylerin temiz olmaması ve çalışan personelin hijyen kurallarına özen göstermemesi olarak belirtmişlerdir.

Matyar ve diğerleri (2009) İskenderun körfezi balıklarının bağırsak ve solungaçlarından izole edilen Gram (-) bakteriler ile yaptıkları bir çalışmada *E. cloacae* (%37.5), *K. oxytoca* (%20.8), *P. vulgaris* (%11.3) ve *P. agglomerans* (%8.9) türlerini izole edilen diğer türlere göre daha baskın bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda da *E. cloacae* en fazla izole edilen türlerden biridir.

Çerçi (2010) Ankara ili çevresindeki Kızılırmak ve Sakarya akarsularından alınan balık, su ve sediment örnekleri ile yaptığı bir çalışmada örneklerde *Aeromonas*, *Pseudomonas* cinsi bakterilerin ve Enterobacteriaceae familyasından *E.coli*, *K. pneumoniae*, *C. freundii*, *P. vulgaris*, ve *E. agglomerans*' in olduğunu belirlemiştir.

Avcı (2012) Ankarada balık halinde satışa sunulan *C. carpio*'ların solungaç ve bağırsak örnekleri ile yaptığı bir çalışmada örneklerde *Citrobacter* spp., *Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Morganella* spp., *Hafnia* spp., *Proteus* spp., *Pantoea* spp., *Providenciae* spp., *Kluyvera* spp., *Serratia* spp., olduğunu belirlemiştir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Çalışmamızda balık örneklerinden izole edilen 58 adet Gram (-) bakteri izolatının slime değerlerinin %10,34'ü kuvvetli, %15,51'i orta, %17,24'ü zayıf slime pozitif olarak bulunmuştur. *E. cloacea* izolatlarının %18,75'i kuvvetli, %25'i orta, %31,25'i zayıf slime

pozitif olarak bulunmuştur. *E. coli* izolatlarının, %3,85'i orta derecede slime pozitif olarak bulunmuştur.

Kıraç (2014) balık örneklerinden izole edilen Gram (-) bakteri üyesi 221 izolatın %54,8'i slime pozitif bulmuştur. *E. cloacae* izolatlarının %92,5'i, *E. coli* izolatının %32,3'ü slime pozitif olarak tespit etmiştir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Çalışmamızda balık örneklerinden izole edilen 75 adet *Staphylococcus* izolatının %13,3'ü kuvvetli, %36'sı orta, %30'u zayıf slime pozitif olarak, %20'si ise slime negatif olarak bulunmuştur. 32 adet *S. haemolyticus* izolatının %6,25'i kuvvetli, %40,6'sı orta, %28,1'i zayıf slime pozitif olarak, 32 adet *S. warnerii* izolatının %25'i kuvvetli, %18,75'i orta, %34,3'ü zayıf slime pozitif olarak, 11 adet *S. aureus* izolatının, %72,7'si orta, %27,2'si zayıf slime pozitif olarak bulunmuştur. *S. aureus* izolatlarında kuvvetli slime pozitif ve slime negatif sonuç elde edilmemiştir.

Memari (2015) balık örneklerinden izole ettiği 217 *Staphylococcus* izolatının %80,6'sı slime pozitif olarak tespit etmiştir. 83 *S. warnerii* izolatının %91,6'sını, 40 *S. haemolyticus* izolatının %77,5'ini, 10 *S. aureus* izolatının %90'ı slime pozitif olarak tanımlamıştır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Çalışmamızda balık örneklerinden izole edilen 26 *E. coli* bakteri izolatının, %50'si ampisilin, %3,84'ü sefotaksim, %15,38'i gentamisin, %28,57'si tetrasiklin, %3,84'ü seftriakson, %19,23'ü kloramfenikol, %23,07'si siproflaksasin, %7,69'u aztreonam, %7,69'u seftazidim, %61,53'ü imipenem, %11,54'ü piperasilin-tazobaktam, %15,38'i amikasin, %7,69'u trimetoprim (+) sulfametoksazol, %50'si sulbaktam (+) ampisilin, %34,62'si amoksisilin (+) klavulanik asit antibiyotiklerine karşı dirençli bulunmuştur.

Çalışmamızda balık örneklerinden izole edilen 32 *E. cloacae* bakteri izolatının ise %78,12'si ampisilin, %6,25'i sefotaksim, %10'u gentamisin, %6,25'i tetrasiklin, %9,38'i seftriakson, %3,13'ü kloramfenikol, %6,25'i siproflaksasin, %9,37'si aztreonam, %6,25'i seftazidim, %96,87'si amoksisilin, %3,13'ü imipenem, %3,13'ü piperasilin-tazobaktam, %6,25'i ertapenem, %15,62'si amikasin, %6,25'i trimetoprim (+) sulfametoksazol, %75'i sulbaktam (+) ampisilin, %81,25'i amoksisilin (+) klavulanik asit antibiyotiklerine karşı dirençli bulunmuştur.

Kıraç (2014) yaptığı çalışmada balık örneklerinden izole edilen 31 *E. coli* izolatının %41,9'u amoksisilin, %35,6'sı amoksisilin-klavulonik asit, %35,6'sı ampisilin, %35,6'sı ampisilin-sulbaktam, %25,8'i tetrasiklin, %19,4'ü kloramfenikol, %16,1'i piperasilin-tazobaktam, %12,9'u amikasin, %12,9'u gentamisin, %12,9'u siproflaksasin, %9,7'si aztreonam, %9,7'si seftazidim, %6,5'i trimetoprim-sülfametoksazol, %3,2'si sefotaksim antibiyotiklerine karşı dirençli bulmuştur. Ertapenem, imipenem ve seftriakson antibiyotiklerine dirençli *E. coli* izolatı tespit etmemiştir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Kıraç (2014) yaptığı çalışmada 47 *Enterobacter* spp. izolatının %100'ü amoksisilin, %82,9'u amoksisilin-klavulanik asit, %78,7'si ampisilin, %59,6'sı ampisilin-sulbaktam, %10,6'sı amikasin, %8,5'i aztreonam, %6,4'ü gentamisin, %6,4'ü sefotaksim, %6,4'ü tetrasiklin, %4,3'ü ertapenem, %4,3'ü seftazidim, %4,3'ü seftriakson, %2,1'i imipenem, %2,1'i kloramfenikol, %2,1'i piperasilin-tazobaktam, %2,1'i trimetoprim-sülfametoksazol antibiyotiklerine karşı dirençli bulmuştur. Siproflaksasin antibiyotiklerine dirençli *Enterobacter* spp. izolatı tespit etmemiştir. Çalışmamızda *E. cloacae* izolatlarının %6,25'i siproflaksasine karşı dirençli olarak bulunmuştur.

Sipahi ve diğerleri (2013) Giresun'da tüketime sunulan ve ticari değere sahip olan deniz balıklarından izole edilen 134 *Enterobacteriaceae* izolatlarının antibiyotik dirençlilik durumunu araştırdıkları bir çalışmada izolatların %78,36'sı sefotaksim, %58,96'sı ampisilin, %53,73'ü amikasin, %47,76'sı tetrasiklin antibiyotiklerine karşı dirençli olduklarını saptamışlardır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Matyar ve diğerleri (2009) İskenderun körfez balıklarının bağırsak ve solungaç örneklerinden izole ettikleri Gram (-) bakterilerin antibiyotik dirençlilik durumunu araştırdıkları bir çalışmada, solungaçtan izole edilen bakterilerin sırasıyla ampisilin %66,7'si, tetrasiklin %12,9'u, kloramfenikol %3,2'si, trimetoprim-sülfometaksol %3,2'si antibiyotiklerine karşı dirençli iken, solungaçtan izole edilen hiçbir izolat imipene direnç göstermediğini saptamışlardır. Bağırsaktan izole edilen bakterilerin sırasıyla ampisilin %44'ü, trimetoprim-sülfometaksol %9,3'ü, tetrasiklin %5,3'ü, imipenem %5,3'ü kloramfenikol %1,3'ü antibiyotiklerine karşı direnç gösterdiklerini belirtmişlerdir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Sarter ve diğerleri (2007) 3 farklı yayın balığı çiftliğinden izole ettikleri *E. coli* izolatları ile yaptıkları bir çalışmada 11 *E.coli* izolatının %90'nının trimetoprim/sulfametoksazol, %54'ünün kloramfenikol antibiyotiklerine karşı dirençli olduklarını tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Kaleli ve diğerleri (2001) *Enterobacter* türlerinin antibiyotik dirençlilik durumunu araştırdıkları bir çalışmada ampisiline %94'ü, amoksisilin- klavulonik asite %75'i, seftazidime %47'si, seftriaksona %50'si, gentamisine %33'ü, amikasin %15'i, trimetoprim/sulfametoksazole %43'ü, siproflaksasine %15'i ve imipeneme %3'ünün dirençli olduğunu saptamışlardır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Çalışmamızda izole edilen 32 *S. haemolyticus* bakteri izolatının %53,13'ü metisilin, %65,63'ü eritromisin, %6,25'i gentamisin, %31,25'i tetrasiklin, %6,25'i klindamisin antibiyotiklerine karşı dirençli, 32 *S.warnerii* bakteri izolatının %6,25'i amikasin, %31,25'i metisilin, %37,5'i eritromisin, %15,63'ü tetrasiklin, %28,13'ü klindamisin, %3,12'si kloramfenikol antibiyotiklerine karşı dirençli, 11 *S. aureus* bakteri izolatının %45,45'i amikasin, %18,18'i metisilin, %9,1'i eritromisin, %45,45'i gentamisin, %63,63'ü tetrasiklin, %18,18'i klindamisin, %9,1'i kloramfenikol antibiyotiklerine karşı dirençli bulunmuştur.

Memari (2015) çalışmasında 40 *S. haemolyticus* izolatının %2,5'i gentamisin, %60'ı eritromisin, %22,5'i tetrasikilin, %2,5'i klindamisin ve %40'ı metisilin'e karşı dirençli bulunmuştur. İzolatlarda vankomisin, amikasin ve kloromfenikol'e karşı dirençlilik tespit edilmemiştir. 83 *S. warneri* izolatının %33,7'si eritromisin, %28,9'u tetrasikilin, %13,3'ü klindamisin, %19,3'ü metisilin, %4,8'i amikasin ve %3,6'sı kloromfenikol'e karşı dirençli bulunmuştur. İzolatlarda gentamisin ve vankomisin'e karşı dirençlilik tespit edilmemiştir. 10 *S. aureus* izolatının %40'ı gentamisin, %100'ü tetrasiklin, %20'si klindamisin, %20'si metisilin ve %40'ı amikasin'e karşı dirençli bulunmuştur. İzolatlarda vankomisin, eritromisin ve kloromfenikol'e karşı direnç tespit edilmemiştir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Khorshed ve Özbal (2012) yaptıkları çalışmada *S. haemolyticus*'un metisiline %76,9, klindamisine %46,1, eritromisine %92,3 ve gentamisine %46,1 oranlarında; *S.warneri*'nin

klindamisine ve metisiline %66,7, eritromisine ve gentamisine %100 oranlarında dirençli bulunmuştur. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Pereira ve diğerleri (2009) yılında Portekiz’de yaptıkları çalışmada gıda kaynaklı 148 *S. aureus* izolatında vankomisine karşı dirençli bulunamamışken, %38 ’ini metisiline dirençli bulunmuştur. *S. aureus* izolatları çok az oranda gentamisin, eritromisin, kloromfenikol ve tertasikline karşı dirençli olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Çalışmamızda balık örneklerinden izole edilen 32 *S. haemolyticus*’un %40,63’ü metisilin dirençli ve slime pozitif, %12,5’i metisilin dirençli slime negatif, %31,25’i metisilin duyarlı slime pozitif, %15,62’si metisilin duyarlı slime negatif olarak bulunmuştur. 32 *S. warnerii*’nin %28,12’si metisilin dirençli ve slime pozitif, %3,12’si metisilin dirençli slime negatif, %43,75’i metisilin duyarlı slime pozitif, %25’i metisilin duyarlı slime negatif olarak bulunmuştur. 11 *S. aureus*’un %18,18’i metisilin dirençli ve slime pozitif, %63,63’ü metisilin duyarlı slime pozitif, %18,18’i metisilin duyarlı slime negatif olarak bulunmuştur.

Çıtak ve diğerleri (2015) yapmış oldukları çalışmada slime pozitif koagülaz negatif *Staphylococcus* türlerinin %76,1’sinin metisilin dirençli, slime negatif koagülaz negatif olan *Staphylococcus* türlerinden %57,4 metisilin dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Türkyılmaz ve Eskiizmirli (2005) çeşitli hayvansal klinik örneklerden (tavuk, inek, köpek) izole edilen toplam 180 adet *Staphylococcus* spp. (90 koagülaz pozitif *Staphylococcus* (KPS), 90 koagülaz negatif *Staphylococcus* (KNS)’nin slime faktör üretimini Kongo Red Agar (CRA), Mikropleyt (MP) ve Standart Tüp (ST) testleri kullanılarak incelemiş ve test sonuçları birbirleriyle karşılaştırmışlardır. *Staphylococcus* spp.’lerde CRA, MP ve ST testleri ile incelenen slime faktör üretimini sırasıyla % 61,1, % 55,5 ve % 50,5 oranında pozitif bulmuşlar aynı zamanda, *Staphylococcus* spp.’nin çeşitli antibiyotiklere karşı dirençlilikleri agar disk difüzyon testi ile araştırmışlardır. Penisilin, ampicillin ve gentamisin gibi antibiyotiklere karşı direnç oranları sırasıyla slime faktör üreten (SP) suşlarda % 49,0, % 23,6, % 13,6 olarak bulurlarken slime faktör üretmeyen (NSP) suşlarda % 42,9, % 15,7, % 14,2, % 12,9 olarak tespit etmişlerdir. SP ve NSP suşlar antibiyotik dirençliliği yönünden karşılaştırmışlar SP suşların, NSP’lara oranla daha yüksek

oranlarda antibiyotik dirençliliği gösterdikleri belirlemişlerdir. Slime pozitif izolatlarda %24,5 metisilin dirençli izolat bulmalarına karşın, slime negatif izolatlarda metisilin direncini %15,7 olarak bulmuşlardır. İncelenen tüm *Staphylococcus* spp.'leri vankomisine karşı duyarlı olarak bulmuşlardır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Köksal ve diğerleri (2009) sepsisemi hastalarının kan kültürlerinde yapmış oldukları çalışmada metisilin dirençli slime pozitif (%81) *Staphylococcus* izolatlarının önemli derecede metisilin dirençli slime negatif (%57) izolatlardan daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Amorena ve diğerleri (1999) yapmış oldukları çalışmada slime pozitif izolatların slime negatif izolatlara oranla metisilin direncini daha yüksek bulmuşlardır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Ay ve diğerleri (2002) yaptıkları çalışmada slime oluşturan KNS suşlarının metisilin, amoksisilin-klavulanik asit, sefazolin, gentamisin, klindamisin ve siprofloksasine daha dirençli olduklarını belirtmişlerdir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Kıymacı ve diğerleri (2014) yapmış oldukları çalışmada slime negatif ve slime pozitif izolatlarda antibiyotik dirençlilikleri karşılaştırmışlardır. Beklenilenin aksine slime pozitif izolatlarda metisilin direnci ağırlıklı olarak gözlenmemiştir. Aksine slime negatif izolatlarda metisilin direncini daha yüksek olarak bulmuşlardır.

Çiftçi ve diğerleri (2009) yapmış oldukları çalışmada slime üretiminin antibiyotik dirençliliği üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını göstermişler, aksine slime pozitif izolatların slime negatif izolatlara oranla antibiotiklere karşı daha duyarlı olduklarını göstermişlerdir. 59 izolatın 2'sinde slime pozitif ve metisilin dirençli olarak bulmuşlardır. Slime üretimi ile metisilin direnci arasında herhangi bir ilişki olmadığını savunmuşlardır.

Taze etler sahip olduğu kimyasal ve fiziksel özelliklerinden dolayı ile mikrobiyal bozulmalara karşı en hassas gıdalardan biri olduğu düşünülmektedir. Gıda kaynaklı hastalıkların arasında et ve et ürünleri %70 ile en büyük payı almaktadır. Özellikle

Ülkemizdeki hijyenik sorunlar dikkate alındığında et, ve et ürünleri işlenirken sağlık açısından riski azaltmak yerine daha da artırmaktadır.

Et ve et ürünlerinin kalitesi ve dayanıklılığı en önemli faktördür. Kesimhane ve depo ortamı, duvarlar, tavan, taban, hava, kullanılan su, kesilen hayvanın iç organları, derisi, ayakları, kan, kullanılan makine ekipman, ara- gereçler, işçilerin veya kasabın elleri, bıçağı, önlüğü ve elbisesi, kontaminasyon kaynağını oluşturmaktadır. Etlerdeki mikroorganizma faaliyetlerini ortamın bağıl nemi, ürünün su aktivitesi, pH'sı, sıcaklığı yüzey büyüklüğü ve başlangıçtaki mikrobiyal yükü etkilemektedir.

Ekolojik olarak laktik asit bakterileri içinde yer alan *Enterococcus*'lar, insan ve hayvanların bağırsak sistemlerinde ve fermente edilmiş gıdalarda yer alırlar. Birçok fermente et çeşidinin tat ve aromasının oluşmasında önemli rol oynamaları, bakteriyosin üretme yetenekleri ve probiyotik olarak kullanılabilirlikleri gibi önemli teknolojik özelliklere sahip olmalarının yanı sıra, klinik enfeksiyonlarda etkili olmaları ve antibiyotiklere karşı gösterdikleri direnç nedeniyle gıda kaynaklı patojenler olarak görülebilmektedirler (Dağdemir ve diğerleri, 2006).

Drosinos ve diğerleri (2005) sosisler ile yapmış oldukları çalışmada, *Enterococcus*'ların fermentasyon sırasında ve ürünün olgunlaşması sırasında var olduğunu belirtmiştir.

*Enterococcus*'lar spor oluşturmayan bakteriler arasında ısıya toleransı en fazla olan bakterilerdir. Bundan dolayı pişmiş ve işlenmiş etlerde bozulmaya neden olurlar (Franz ve diğerleri, 1999).

*Enterococcus*'lar ve laktik asit bakterilerinin oluşturduğu biyojen amin ile fermente gıdalarda bozulma etkeni olabileceğini belirtilmiştir (Lebert ve diğerleri, 2007).

*Enterococcus*'ların varlığını fermente etlerin çiğ et ile yapılması ve çeşitli dış kaynaklar ile kontaminasyonuna bağlamışlardır (Martin ve diğerleri, 2009).

Fermente gıdalarda *Enterococcus*'ların bulunmasında, bazı araştırmacılar gıdalarda bozulmaya ve kontaminasyona neden olabileceği görüşünü savunurken, bazı araştırmacılar gıdalarda starter kültür olarak kullanılabilabileceğini savunmaktadırlar.

Çalışmamızda fermente et örneklerinden izole edilen 80 *Enterococcus* izolatının %50'si sucuktan, %12,5'i sosisten, %18,75'i salamdan, %18,75'i pastırma örneklerinden izole edilmiştir. Fermente et örneklerinden izole edilen 80 *Enterococcus* izolatının %37,5'i *E. faecium*, %37,5'i *E. flavescens* ve %25'i *E. spp* olarak tanımlanmıştır.

Peters ve diğerleri 2003, Giraffa ve diğerleri 1997, Martin ve diğerleri 2005, fermente etler ve bazı gıda örnekleri ile yapmış oldukları çalışmalarda *E. faecalis* ve *E. faecium* ardından *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. hirae* ve *E. avium* tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Çıtak ve diğerleri (2009) yapmış oldukları çalışmada dondurulmuş 120 et ve sebze örneğinden toplam % 52,5'inde *Enterococcus* türü izole edilmiştir. Bunların %63.4'ünün fekal kaynaklı *Enterococcus* ve %30'unda *E. faecium* % 70'inde ise *E. faecalis*, olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Macovei ve Zurek'in (2006) da yapmış oldukları çalışmada, et, süt ve peynirden izole edilen *Enterococcus* suşlarının dağılım oranı, *E. faecalis* %88.2, *E. faecium* %6.8, *E. casseliflavus* %9 olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Martin ve diğerleri (2009) yapmış oldukları çalışmada, geleneksel sosislerde en fazla sıklıkla *E. faecium* ve *E. faecalis*, daha az sıklıkla *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. durans* izole etmişlerdir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Çalışmamızda fermente et örneklerinden izole edilen 80 adet *Enterococcus* izolatının slime değerleri %25'i kuvvetli, %33,75'i orta, %33,75'i zayıf slime pozitif olarak bulunmuştur. İzole edilen 30 adet *E. faecium* izolatının %43,33'ü kuvvetli, %33,33'ü orta, %23,33'ü zayıf slime pozitif, 30 adet *E. flavescens* izolatının %20'si kuvvetli, %23,33'ü orta, %50'si zayıf slime pozitif, 20 adet *Enterococcus spp.* izolatının, %5'i kuvvetli, %50'si orta, %25'i zayıf slime pozitif olarak bulunmuştur.

*Enterococcus*' ların virulansları ile ilgili en önemli faktörlerden biri slime/biyofilm oluşumudur. Birçok klinik çalışmada Enterokokal slime ile ilgili çalışma mevcutken, gıdalardan izole edilen *Enterococcus*'ların slime oluşumlarıyla ilgili çok az çalışma mevcuttur (Franz ve diğerleri, 2001).

Torlak (2013) yaptığı çalışmada gıda örneklerinden izole edilen 100 *Enterococcus* izolatının, %35'i slime pozitif %65'i slime negatif olarak bulmuştur. Gıda örneklerinden izole edilen slime pozitif 35 izolatın, %36,4'ü *E. faecalis* ve %50'si *E. faecium* olarak tanımlamıştır. Bu sonuçlar çalışmamızla örtüşmemektedir.

Çalışmamızda fermente et örneklerinden izole edilen 30 *E. faecium* izolatının, %20'si vankomisin, %53,33'i eritromisin, %10'u gentamisin, %3,33'ü tetrasiklin, %3,33'ü nitrofurantoin, %13,33'ü siprofloksasin, izole edilen 30 *E. flavescens* izolatının, %6,66'sı ampisilin, % 36,66'sı vankomisin, %43,33'ü eritromisin, %6,66'sı gentamisin, %23,33'ü tetrasiklin, %23,33'ü nitrofurantoin, %6,66'sı kloramfenikol, %10'u siprofloksasin, izole edilen 20 *Enterococcus* spp izolatının, %10'u ampisilin, % 50'si vankomisin, %10'u teikoplanin, %45'i eritromisin, %15'i gentamisin, %20'si tetrasiklin, %40'ı nitrofurantoin, %25'i kloramfenikol, %25'i siprofloksasin antibiyotiklerine karşı dirençli olarak tespit edilmiştir.

Karabıyık (2011) yapmış olduğu çalışmada izole edilen 79 *E. faecium* izolatının % 40.5'i streptomisin, % 5'i siprofloksasin, % 1.3'ü ampisilin, % 6.3'ü tetrasiklin, % 74.6'sı rifampin, % 15.1'i nitrofurantoin, % 1.3'ü penisilin, % 1.3'ü gentamisin, % 24'ü eritromisin ve % 2.5'i teikoplanin antibiyotiklerine direnç göstermiştir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Valenzuela ve diğerleri (2009) yapmış olduğu çalışmada izole edilen 9 *E. faecalis* izolatının, 8'i rifampin, 6'sı siproflaksasin, 5'i eritromisin antibiyotiklerine dirençli iken, 4'ü tetrasiklin, 2'si nitrofurantoin, 1'i vankomisin ve 2'si streptomisin antibiyotiklerine orta duyarlı olarak bulunmuştur. Bu çalışmada izole edilen 16 *E. faecium* izolatının, 12'si nitrofurantoin, 12'si siproflaksasin, 11'i rifampisin, 4'ü eritromisin, 2'si vankomisin, 2'si teikoplanin, 1'i tetrasiklin ve 2'si streptomisin antibiyotiklerine dirençli olarak tespit edilmiştir. Her iki bakteri türünde de ampisilin, penisilin, kloramfenikol ve gentamisin antibiyotiklerine dirençliliği görülmemiştir. Vankomisine dirençli suşlar, antibiyotik kullanımı olan klinik örneklerde ve avoparsin kullanılan hayvansal ürünlerde görülmüştür. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir

Barbosa ve diğerleri (2009) yapmış oldukları çalışmada, fermente etlerden izole edilen 182 *Enterococcus* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları ve çoklu antibiyotik dirençliliği

araştırılmıştır. Bu suşlar; ampisilin, siproflaksasin, kloramfenikol, eritromisin, nitrofurantoin, rifampin, tetrasiklin antibiyotiklerine direçli olarak saptanırken, vankomisin ve penisilin antibiyotiklerine hassas olarak saptanmıştır. Çoklu antibiyotik dirençliliği saptanan *Enterococcus*'ların hepsi en az 2 antibiyotiğe dirençli olarak bulunurken, 11 izolat 3 antibiyotiğe, 4 izolat 4 antibiyotiğe çoklu direnç göstermektedir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Gomes ve diğerleri (2008) yapmış olduğu bir çalışmada, Brezilya gıdalarından izole edilen *Enterococcus* izolatlarından ampisilin, gentamisin, tetrasiklin, eritromisin ve vankomisin antibiyotiklerine dirençlilikleri araştırılmıştır. Bu çalışmaya göre, *E. faecalis* izolatı gentamisin (%22.5), tetrasiklin (%31), eritromisin (%10) antibiyotiklerine çoklu antibiyotik dirençliliği göstermiştir. *E. faecium* izolatları tetrasiklin (%6.5) ve eritromisin (%9) antibiyotiklerine direnç göstermiştir. 3 *E. faecium* izolatı vankomisin direnci gösterirken diğer antibiyotiklere duyarlılık göstermiştir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Martin ve diğerleri (2005) yapmış oldukları çalışmada, fermente etlerden izole edilen *Enterococcus*'ların 13 farklı antibiyotiğe disk difüzyon yöntemi ile çalışılmıştır. İzole edilen *Enterococcus*'lar %27,4 ampisilin, %26,4 kloramfenikol, %52,8 siproflaksasin, %50,9 eritromisin, %50,9 nitrofurantoin, %42,5 penisilin, %80,2 rifampisin, %0,9 teikoplanin, %47,2 tetrasiklin ve %7,5 vankomisin antibiyotiklerine dirençli olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Sustackova ve diğerleri (2004) yapmış olduğu çalışmada, salamlardan izole edilen 35 *E. faecalis* izolatları %2.9'u kloramfenikol, %28.6'sı tetrasiklin, %31.4'ü eritromisin, %5.7'si streptomisin antibiyotiklerine dirençli bulunurken 15 *E. faecium* izolatlarının %20'si tetrasiklin, % 73'ü eritromisin antibiyotiklerine dirençli bulunmuştur. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Çiftçi ve diğerleri (2009) tavuk artritten izole edilmiş 67 *E. faecalis* suşlarının slime faktör üretimi ve antibiyotik direnci incelenmişlerdir. *Enterococcus* slime faktör üretimi %59.7 olarak bulunmuştur. Antibiyotik dirençleri testinde gentamisin, penisilin, streptomisin, vankomisin, danofloxacin ve enrofloksasin kullanmışlardır. Direnç oranları sırasıyla % 62.68, % 76.11, % 67.16, % 13.43, % 47.76, % 43.28, olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda fermente et örneklerinden izole edilen 80 *Enterococcus* izolatının %28,75'i vankomisin dirençli slime pozitif, %5'i vankomisin dirençli slime negatif, %63,75'i vankomisin duyarlı slime pozitif, %2,5'i vankomisin duyarlı slime negatif olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda fermente et örneklerinden izole edilen 30 *E. faecium* izolatının %20'si vankomisin dirençli slime pozitif, %80'i vankomisin duyarlı slime pozitif, 30 *E. flavescens* izolatının %33,33'ü vankomisin dirençli slime pozitif, %3,33'ü vankomisin dirençli slime negatif, %60'ı vankomisin duyarlı slime pozitif, %3,33'ü vankomisin duyarlı slime negatif, 20 *E. spp* izolatının %35'i vankomisin dirençli slime pozitif, %15'i vankomisin dirençli slime negatif, %45'i vankomisin duyarlı slime pozitif, %5'i vankomisin duyarlı slime negatif olarak bulunmuştur.

Çiftçi ve diğerleri (2009) slime faktörü pozitif *Enterococcus*'lar için antibiyotik direnç oranlarını sırasıyla% 82.50, % 87.50, % 92.50, % 17.50, % 72.50 ve % 60 olarak saptamışlardır. Sonuç olarak; slime faktörün varlığının tavuk artrit için kolonizasyon faktör olarak rol oynayabileceğini ve slime faktör pozitif *Enterococcus*'ların bu antibiyotiklere daha dirençli olduğunu göstermişlerdir. Vankomisin dışında test edilen antibiyotiklere karşı slime faktörü pozitif ve negatif *Enterococcus*'lar arasında direnç oranlarını ( $p < 0.05$ ) istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır. Bu sonuçlar çalışmamızla örtüşmemektedir.

## 6. SONUÇ

Balıklarda ve kırmızı etlerde bakteriyel, otolitik, oksidatif aktivite sonucu bozulmalar oluşmaktadır. Taze balıklardaki otolitik aktivite ve pH, kırmızı etlere göre nispeten fazla olmakta ve balıklarda bozulma daha fazla olmaktadır. Balıklarda bozulmanın temel nedenleri balığın barsaklarındaki doğal flora ve balığın yüzeyindeki kaygan tabaka dır. Temiz sulardaki avlanan balık türleri genellikle gıda zehirlenmelerine sebebiyet veren patojen bakterileri içermemekte; aksine patojen mikroorganizma içeren kirli sularda avlanan balıklarda çeşitli mikroorganizmalarla bulaşlar olabilmektedir (Huss, 2007; Feldhusen, 2000; Lund ve Baird-Parker, 2000).

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre insanların besin kaynağını oluşturan balıkların florasında birçok Gram (-) bakteriye rastlanmıştır. Balıklarda bu tür bakterilerin bulunması suyun mikrobiyolojik kalitesi hakkında bizlere bilgi vermekte ve balıkların bakteriyel florasının yaşadığı su ortamının mikroflorasını yansıttığını desteklemektedir. *Enterobacteriaceae* üyelerinin sulardaki varlığı bir kontaminasyon belirtisi olabilir. Çalışmamızda balık örneklerinden *Enterobacteriaceae* üyelerinin bulunması çalışılan balık örneklerinin kirli sulardan avlanıldığını düşündürmekte ve balık marketlerindeki hijyen eksikliğinin bir göstergesi olarak kabul edilebileceğini göstermektedir. Bu durumun halk sağlığı açısından riskli olduğu kanısını ortaya çıkarmaktadır.

*Staphylococcus* familyasına ait bazı türler, hem balık ve hem insan için patojen olan mikroorganizmalardır. *S. aureus* için en önemli kaynak insandır ve insanların deri, boğaz, burun florasında bulunmaktadır. Özellikle hazırlanmaları sırasında çok fazla el ile temas edilen ve uygun şartlarda bekletilmeyen balıklarda *S.aureus* gelişimi ve toksin üretimi söz konusudur (Fischetti ve diğerleri, 2006; Bennett, 2013; Hobbs, 1968; Çaklı ve Kışla, 2003).

Toplum ve hastane kaynaklı oluşan enfeksiyonların çoğunda etken olarak görülen *Staphylococcus*'ların tedavisinde ortaya çıkan sorun bakterilerdeki antimikrobiyal dirençtir. Uygun olmayan ve yaygın bir şekilde antibiyotik kullanımı ile bakterilerde meydana gelen direnç gelişiminin önemi sıklıkla vurgulanmaktadır

*S. aureus*'lardaki metisilin direnci, ülkemizde ve tüm dünyada giderek artmakta ve genellikle tedavisinde vankomisin veya teikoplanin gibi glikopeptid antibiyotikler kullanılmaktadır.

Virölans faktörlerin oluşması ve fermente edilen gıdalarda bakteriyosin üreten ya da koruyucu, probiyotik veya starter olarak kullanılan kültürlerin güvenliği suşa özgü olmaktadır.

Araştırmamız kapsamında toplanan balık örneklerinde *Staphylococcus* üyelerinin bulunması çalışılan balık örneklerinin yetersiz sanitasyon koşullarında üretildiğini göstermiş ve halk sağlığı açısından riskli olduğu kanısına varmamızı sağlamıştır.

Mikroorganizmaların kontrol altına alınmasında kullanılan yöntemlerin uygulanmasıyla tüketime sunulan balık gibi gıdaların güvenliğini garanti etmek en önemli nokta, tehlike analizleri ve kritik kontrol noktaları (HACCP) kavramının balıkçı işletmelerinde uygulamaya konulmasıdır. HACCP birçok ülkede su ürünleri sektöründe başarı ile uygulanmaktadır. HACCP’deki temel amaç, gıda güvenliğini tehlikeye sokan zararların önlenmesi olmasına karşın, tüm sistemde oluşturulan işlem kontrolü ile düşük maliyetin yanısıra ürün kalitesinde de artış sağlamıştır (González-Rodríguez ve diğerleri, 2002; Hayes ve Forsythe, 2013).

*Enterococcus*’ların gıdalarda probiyotik ve starter kültür olarak kullanılması gıda güvenliği açısından oldukça iyi değerlendirilmelidir. Enfeksiyona neden olan *Enterococcus*’ların gıdalarda varlığı arzu edilmemektedir. Patojen olan *Enterococcus* türleri ile gıdalarda bulunan *Enterococcus* türleri birbirleriyle ilişkilendirilmemektedir. Ancak bu bakterilerin starter kültür ve/veya probiyotik olarak kullanılanları ve gıda zincirine girecek suşların seçilmesinde daha dikkatli olmayı gerektirmektedir. Günümüzde probiyotik ve starter kültür olarak kullanılmaları gıda güvenliği açısından önemli bir soru işaretidir. *Enterococcus*’ların gıda işleme süreçlerinde ve endüstriyel alanda kullanılmaları tartışmalı bir konudur. Bu bakterilerin gıdalarda probiyotik ve starter kültür olarak kullanılanlarının hemoliz oluşturma, virölans özellikleri ve antibiyotik dirençlilikleride gıda güvenliği açısından araştırılmalıdır.

Çalışmamızda gıda materyallerinden (sucuk, sosis, salam ve pastırma) *Enterococcus*’ların yüksek oranda izole edilmesi üretimden tüketim aşamasına kadar olan bütün kademelerde bakteriyel bulaşmanın olabileceğini göstermiştir. Bu bakteriyel bulaşma üretim ve tüketim merkezlerinde yeteri kadar sanitasyon ve hijyen kurallarına dikkat edilmediğinin göstergesi olabileceğini düşündürmektedir. Antibiyotiklere dirençli *Enterococcus*’ların tedavisinde

yeni ve etkili antibiyotik bulma çalışmaları devam etse de, klinik kullanıma uygun bilinen tüm antibiyotiklere dirençli *Enterococcus*'larla karşı karşıya kalınabileceğidir.

Tüm dünyada bir yandan hızla yeni ilaçlar geliştirilmekte, buna karşın, süratle mikroorganizmaların direnç kazanmasıyla neden olduğu enfeksiyonlarda bir artış görülmektedir. Son yıllarda, antibiyotik kullanımına ve bu antibiyotiklerin doğaya salınımına bağlı olarak bakterilerdeki direncin artış göstermesi önemli bir sorundur. İnsan ve hayvanlarda direnç genleri ve bakteri dirençlerinin yayılımı ve ortaya çıkmasında gıda zincirinin de önemli bir faktör olması nedeniyle gıdanın tüketime sunuluncaya kadar geçen her aşamasında hijyen ve sanitasyon kurallarına dikkat edilmesi gerekmektedir.





## KAYNAKLAR

- Abdallah, M., Benoliel, C., Drider, D., Dhulster, P., Chihib, N. E. (2014). Biofilm formation and persistence on abiotic surfaces in the context of food and medical environments. *Archives of Microbiology*, 196(7), 453-472.
- Akalın, HE., Topçu, A.W., Söyletir, G., Doğanay, M., (2002) İnfektif endokardit. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi* kitabından. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 721.
- Altay, G., Akan, M., (2003). Farklı Hayvansal Kaynaklardan izole Edilen Koagulaz Negatif Staphylococcus'larda Slime Üretimi ve Aderans. *Turk Journal Veteriner Animal Science*, 27, 253-257.
- Amorena, B., Gracia, E., Monzón, M., Leiva, J., Oteiza, C., Pérez, M. ve diğerleri. (1999). Antibiotic susceptibility assay for Staphylococcus aureus in biofilms developed in vitro. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 44(1), 43-55.
- Anderson, D. J., Murdoch, D.R., Sexton, D.J. (2004). Risk factors for infective endocarditis in patients with enterococcal bacteremia: a case-control study. *Infection*, 32, 72-77.
- Anderson, P.H.R. and Stone, D.M. (1955). Staphylococcal food poisonings associated with spray dried milk. *The Journal of Hygiene*, 53(4), 387-397.
- Aral, N. (2009). *Su ürünleri işleme tesislerindeki hijyen uygulamaları*, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi, Muğla, 157.
- Arciola, C.R., Campoccia, D., Gamberini, S., Cervellati, M., Donati, E., Montanaro, L. (2002). Detection of slime production by means of an optimised Congo red agar plate test based on a colourimetric scale in *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates genotyped for ica locus. *Biomaterials*, 23(21), 4233-4239.
- Arda, M. , (1997), *Özel mikrobiyoloji, epidemiyoloji, bakteriyel ve mikotik infeksiyonlar*, Ankara Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 45-47.
- Arizcun, C., Barcina, Y., Torre, P. (1997). Identification and characterization of proteolytic activity of *Enterococcus faecium* spp. Isolated from milk and roncal and idiazabal cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 38, 17-24.
- Atıcı, G. (1999). Staphylococcus aureus 'un Gelisimi Üzerine Sıcaklık, pH, sodyum klorür ve koruyucuların (Asetik Asit, Sorbik Asit ve Tuzları) *birlikte etkisinin tepki yüzey yöntemi (Response Surface Model) ile belirlenmesi*. Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin, 52.
- Austin, B. (2006). The bacterial microflora of fish, revised. *The Scientific World Journal*, 6, 931-945.
- Avcı, E. (2012). *Gıdalardan İzole Edilen Enterobacteriaceae Türlerinde Genişletilmiş Spektrumlu Beta-laktamaz Üretimi ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- Ay, S., Tekerekoğlu, M.S., Bayraktar, M., Abut, L., Duman, B. (2002). Klinik örneklerden izole edilen koagülaz negatif *Staphylococcus* türlerinde slime oluşumu ve antibakteriyellere duyarlılığı. *Ankem Dergisi*, 16, 40-43.
- Aycicek, H., Oguz, U. ve Karci, K. (2006). Determination of total aerobic and indicator bacteria on some raw eaten vegetables from wholesalers in Ankara. *Turkey. International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 209(2), 197-201.
- Aydınlı, A., Durmaz, G. ve Akgün, Y. (1997). Koagülaz negatif *Staphylococcus*larda slime yapımının Kongo kırmızı agar yöntemiyle araştırılması. *Flora*, 2, 41-4.
- Baird-Parker, A. (1963). A classification of micrococci and staphylococci based on physiological and biochemical test. *Journal of General Microbiology*, 30(3), 409-427.
- Bannerman, T.L., Peacock, S., Murray, P., Baron, E., Jorgensen, J., Landry, M. ve diğerleri. (2006). *Staphylococcus*, *Micrococcus*, and other catalase-positive cocci. *Manual of Clinical Microbiology*, 390-411.
- Barbosa, J., Ferreira, V., Teixeira, P. (2009). Antibiotic susceptibility of enterococci isolated from traditional fermented meat products. *Food Microbiology*, 26, 527-532.
- Barbosa, J., Gibbs, P.A., Teixeira, P. (2010). Virulence factors among enterococci isolated from traditional fermented meat products produced in the North of Portugal, *Food Control*, 21(5), 651-656.
- Baron, F., Gautier, M. (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetic Molecular Research*, 2(1), 63-76.
- Başustaoğlu, A. (2004). Enterococcuslarda antibakteriyel direnç mekanizmaları ve direnç sorunu. Ed: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. *Gram Pozitif Bakteri Enfeksiyonları*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 141-158.
- Bayraktar, B., Yıldız, D., Bulut, E. (2004). *Staphylococcus aureus*'ün identifikasyonunda kullanılan üç metodun değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 34, 211-214.
- Beenken, K.E., Dunman, P.M., McAleese, F., Macapagal, D., Murphy, E., Projan, S.J., Blevins, J.S., Smeltzer, M.S. (2004). Global gene expression in *Staphylococcus aureus* biofilms. *Journal of Bacteriology*, 186, 4665-4674.
- Bennett, R. W., Hait, J. M., ve Tallent, S. M. (2013). *Staphylococcus aureus*. (Second Edition). New Jersey: John Wiley & Sons, 26-44.
- Bergdoll, M.S. (1990). Staphylococcal food poisoning in foodborne disease dean. London: O.C.e.d. Academic Press, 85-106.
- Bertiken, R. (2005). *Tıbbi mikrobiyoloji 2 İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler ders kitapları*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 51-81.
- Bilgehan, H. (1993). *Temel mikrobiyoloji ve bağışıklık bilimi*. İzmir: Barış Yayınları, 240-260.

- Bilgehan, H. (1996). *Klinik mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve bakteri enfeksiyonları*, İzmir: Bilgehan Basımevi.
- Bilgehan, H. (2000). *Klinik Mikrobiyoloji-Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları*. İzmir: Barış Yayınları, 90-98.
- Biswas, S., Rani, K.D., Mukherjee, P., Ghosh, C. (2010). Pathogenic *Staphylococcus aureus* Isolates from Postoperative Wounds of Hospitalized Patients. *Journal of Medical Sciences*, 2(1), 1-10.
- Bodil, L. (2003). Different Roles of *Enterococcus faecium* from a human Perspective, *Doktorsavhandling Vid Karolinska Institutet*, 3, 435.
- Boss, R., Overesch, G., Baumgartner, A. (2015). Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli*, *Enterococci*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus* from Raw Fish and Seafood Imported into Switzerland. *Journal of Food Protection*, 79(7), 1240–1246.
- Camargo, C.- H., Ariane, B.-N., In Lee, S.-H., Júnior, A.- F., Kaneno, R., Rall, V.- L.- M. (2014). Prevalence and phenotypic characterization of *Enterococcus* spp. isolated from food in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(1), 111-115.
- Campus, M. (2010). High pressure processing of meat, meat products and seafood. *Food Engineering Reviews*, 2(4), 256-273.
- Carbonnelle, E., Beretti, J.-L., Cottyn, S., Quesne, G., Berche, P., Nassif, X. ve Ferroni, A. (2007). Rapid identification of *Staphylococci* isolated in clinical microbiology laboratories by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(7), 2156-2161.
- Cengiz, A.T., Ustaçelebi, Ş. (1999). *Staphylococcus. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji* Kitabından. Ankara: Güneş Kitabevi, 339-346.
- Cengiz, S. A. (2004). *Tıp ve Dış Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji*. A.T. Cengiz (editor). Ankara: Güneş Kitabevi, 351-60.
- Chajęcka-Wierzchowska, W., Zadernowska, A. ve Laniewska-Trokenheim L. (2016). Virulence factors, antimicrobial resistance and biofilm formation in *Enterococcus* spp. isolated from retail shrimps. *Food Science and Technology*, 69, 117-122
- Chajęcka-Wierzchowska, W., Zadernowska, A., Nalepa, B ve Laniewska-Trokenheim L. (2012). Occurrence and antibiotic resistance of enterococci in ready-to-eat food of animal origin. *African Journal of Microbiology Research*, 6(39), 6773-6780.
- Chajęcka-Wierzchowska, W., Zadernowska, A., Nalepa, B., Sierpińska, M. ve Laniewska-Trokenheim L. (2014). Retail ready-to-eat food as a potential vehicle for *Staphylococcus* spp. harboring antibiotic resistance genes. *Journal Food Protection*, 77(6), 993-8.
- Chakraborty, S.P., Mahapatra, S.K., Roy, S. (2011). Biochemical characters and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(3), 212-216.

- Christensen GD, Baldassari L, Simpson WA. (1994). *Colonization of Medical Devices by with indwelling Medical devices*. Washington DC: ASM Pres, 45.
- Conterno, LO, Wey, SB, Castelo, A. (1998). Risk factors for mortality in *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 19, 32-37.
- Cremonesi, P., Luzzana, M., Brasca, M., Morandi, S., Lodi, R., Vimercati, C. ve Castiglioni, B. (2005). Development of a multiplex PCR assay for the identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxigenic strains isolated from milk and dairy products. *Molecular and Cellular Probes*, 19(5), 299-305.
- Crossley, K.B., Archer, G., Jefferson, K., Fowler, V. (2009). *Staphylococci in human disease*. (ikinci baskı). USA: Wiley Online Library, 1-500.
- Çaklı, Ş., Kışla, D. (2003). Su Ürünlerinde Mikrobiyal Kökenli Bozulmalar ve Önleme Yöntemleri. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 20(1-2), 239-245.
- Çerçi, N. A. (2010). *Ankara İli ve Çevresindeki Akarsularda Bulunan Bazı Tatlı Su Balıklarından İzole Edilen Gram (-) Bakterilerin İzolasyonu ve Antibiyotik Dirençliliklerinin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Çetinkaya, Y., Falk, P., Mayhall, C.G. (2000). Vancomycin-Resistant Enterococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 13, 686-707.
- Çıtak, S., Gündoğan, N., Kala, E. (2009). Ankara ilinde dondurulmuş et ve sebzelerde koliform ve Enterococcusların fekal indikatör bakteri olarak değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 66(4), 145-151.
- Çıtak, S., Mendi, A., Orhan, S. (2005). Incidence, antibiotic resistance and some technological properties of Enterococcus species isolated from raw milk and white cheese samples. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 56(4), 73-96.
- Çıtak, S., Öcal, Ş. C., Külahcı, M. B. (2015). Antibiotic Resistance and Slime Production in Coagulase-Negative Staphylococcus Strains from Retail Meat Samples. *Gazi University Journal of Science*, 28(3), 359-364.
- Çıtak, S., Yücel, N., Mendi, A. (2005). Antibiotic resistance of Enterococcal isolates in raw milk. *Journal of Food Processing and Preservation*, 29(3-4), 183-195.
- Çiftçi, A., Fındık, A., İça, T., Bas, B., Onuk, E. E., Güngördü, S. (2009). Slime Production and Antibiotic Resistance of *Enterococcus faecalis* Isolated from Arthritis in Chickens. *Journal of Veterinary Medical Science*, 71(6), 849-853.
- Da Silva, E.R., do Carmo, L.S., Da Silva, N. (2005). Detection of the enterotoxins A, B, and C genes in *Staphylococcus aureus* from goat and bovine mastitis in Brazilian dairy herds. *Veterinary Microbiology*, 106(1), 103-107.
- Dağdemir, E., Özdemir, S. (2006). *Süt ve Mamullerinde Enterococcuslar*. Türkiye 9. Gıda Kongre Kitabı, Bolu.

- Dargere, S., Vergnaud, M., Verdon, R., Saloux, E., Page, OL., Leclercq, R., Bazin, C. (2002). *Enterococcus gallinarum* endocarditis occurring on native heart valves. *Journal Clin Microbiol*, 40(6), 2308-2310.
- Demiret, N. N. ve Karapınar, M. (2000). Süt Ürünlerinde *Staphylococcus aureus*. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri 6. *Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı*. Tekirdağ: Rebel yayıncılık, 78-85.
- Devriese, L., Baele, M., Butaye, P. (2006). The genus *Enterococcus*. Springer US: *In The Prokaryotes*, 163-174.
- Donlan, RM. (2002). Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases Journal*, 8, 881-90.
- Donnenberg, M.S. (2005). Enterobacteriaceae In Mandel G. L, et al. *Principles and Practise of Infectious Diseases*, New York Churchill Livingstone. 2567-2586.
- Drosinos, E., Mataragas, M., Xiraphi, N., Moschonas, G., Gaitis, F., Metaxopoulos, J. (2005). Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage. *Meat Science*, 69(2), 307-317
- Dudley, D. J., M. N. Guentzel, M. J. Ibarra, B. E. Moore, and B. P. Sagik. (1980). Enumeration of potentially pathogenic bacteria from sewage sludges. *Applied and Environmental Microbiology*, 39, 118-126. 19.
- Dugleux, G., Le, Coutour, X., Hecquard, C., Oblin I. (1991). Septicemia caused by contaminated parenteral nutrition pouches: the refrigerator as an unusual cause. *Journal Parent. Ent. Nutr.* 15, 474-475.
- Dündar, V, Öztürk Dündar D. (2002). *Staphylococcus* İnfeksiyonları. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1507-1516.
- Dündar, V. (2000). Metisiline Dirençli *Staphylococcus* enfeksiyonları. *Klinik Dergisi*, 13(1), 26-27.
- Erdem, B. (1999). Enterobacteriaceae, Ustaçelebi Ş (Editör). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 471-515.
- Erdem, M., Koral, S., Kayış, Ş., Çebi, H., Keskin, İ. (2010). Trabzon İlinde Avlanan Hamsi Balıklarında (*Engraulis encrasicolus*) Toplam Mezofil Bakteri ve Bazı Patojen Mikroorganizmaların Bulaşma Kaynaklarının Araştırılması. *Ulusal Hamsi Çalıştayı: Sürdürülebilir Balıkçılık*, 2(31), 1-8.
- Ergülü, E. (1983). Koliform Grubu bakteriler ve peynir teknolojisindeki zararlı etkileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(2), 93-99.
- Faclam, R. R., Sahm, D. F. (1995). *Enterococcus*. *Manual of Clinical Microbiology*, 6th ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 308-314.
- Falagas, M. E., Bliziotis, I. A. (2007). Pandrug-resistant Gram-negative bacteria: the dawn of the post antibiotic era. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 29, 630-636.

- Fata, F., Chittivelu, S., Tessler, S., Kupper, Y. (1996). Gas gangrene of the arm due to *Enterobacter cloacae* in a neutropenic patient. *The Southern Medical Journal*, 89, 1095–1096.
- Feglo, P., ve Sakyi, K. (2012). Bacterial contamination of street vending food in Kumasi, Ghana. *Journal of Medical and Biomedical Sciences*, 1(1), 1-8.
- Feldhusen, F. (2000). The role of seafood in bacterial foodborne diseases. *Microbes and Infection*, 2(13), 1651-1660
- Fischetti, V. A., Novick, R. P., Ferretti, J. J., Portnoy, D. A., Rood, J. I. (2006). *Gram positive pathogens*. New York: American Society For Microbiology, 1-300.
- Fisher, K. and Phillips, C. (2009). The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology*, 155, 1749-1757.
- Fontana, C., Gazzola, S., Cocconcelli, P. S., Vignolo, G. (2009). Population structure and safety aspects of *Enterococcus* strains isolated from artisanal dry fermented sausages produced in Argentina. *Letters in Applied Microbiology*, 49(3), 411–414.
- Frank, J. F., Marth, E. H. and Olson, N. F. (1978). Behaviour of *Enteropathogenic Escherichia coli* During Manufacture and Ripening of Brick Cheese. *Journal of Food Protection*, 41, 111-115.
- Franz, C. M. A. P., Holzappel, W. H. and Stiles, M. E. (1999). Enterococci at the crossroads of food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 47, 1-24.
- Franz, C. M., Muscholl-Silberhorn, A. B., Yousif, N., Vancanneyt, M., Swings, J., Holzappel, W. H. (2001). Incidence of Virulence Factors and Antibiotic Resistace Among Enterococci Isolated From Food. *Applied and Enviromental Microbiology*, 67(9), 4385- 4389.
- Fredricks, D. N. (2001). Microbial ecology of human skin in health and disease. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, 6, 167–169.
- Gaston, M. A. (1988). Enterobacter: an emerging nosocomial pathogen. *Journal of Hospital Infection*, 11, 197–208.
- Giraffa, G. (2002). Enterococci From Food. *FEMS Microbiology Reviews*, 26, 163-171.
- Giraffa, G. (2003). Functionality of Enterococci in dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, 88(2-3), 215-222.
- Gomes, B., Esteves, C., Palazzo, I., Darini, A., Felis, G., Sechi, L., Franco, B., Martinis, E. (2008). Prevalence and characterization of *Enterococcus* spp. isolated from brazilian foods. *Food Microbiology*, 25, 668-675.
- González-Rodríguez, M., Sanz, J., Santos, J., Otero, A., -López, M. (2002). Foodborne pathogenic bacteria in prepackaged fresh retail portions of farmed rainbow trout and salmon stored at 3 C. *International Journal Of Food Microbiology*, 76(1), 135-141.

- Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H. J., Trujillo, M. E., Suzuki, K. İ., Ludwig, W. ve diğerleri. (2012). *Bergey's manual of systematic bacteriology* (5. Baskı). New York: Springer, 251-310.
- Götz F. (2002). Staphylococcus and biofilms. *Molecular Microbiology*, 43, 1367–78.
- Götz, F., Bannerman, T., Schleifer, K. H. (2006). The genera staphylococcus and macrococcus. *Journal of Food Protection*, 3(75), 110-453.
- Guessas, B., Kihal, M. (2004). Characterisation of lactic acid bacteria isolated from algerian arid zone raw goat's milk. *African Journal of Biotechnology*, 3(6), 339-342.
- Gül, F., Önal, A. E. (2008). Halk sağlığı açısından gıda analizlerinin önemi. *Nobel Medicus*, 4(3), 7-14.
- Günaydın, M., Leblebicioğlu, H., Saniç, A., Pirinççiler, M. (1995). Koagulaz negatif Staphylococcularda slime yapımı ve antibiyotik direnci ile ilişkisi. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 29, 26-31.
- Halkman, A.K. (2005). *Merck gıda mikrobiyolojisi uygulamaları*. Türkiye: Başak Matbaacılık, 358.
- Halkman, K. (1999). *Gıdalarda Fekal Koliform Aranması*. Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu 97 11 12 01 nolu proje, Ankara.
- Hardie, J. M. (1986). Enterococci, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Baltimore: Williams ve Wilkins, 1063-1065.
- Haryani, Y., Tunung, R., Chai, L. C., Lee, H. Y., Tang, S. Y. and Son, R. (2008). Characterization of Enterobacter cloacae Isolated from Street Foods. *ASEAN Food Journal*, 15(1), 57-64.
- Hisar, Ş.A., Hisar, O., Yanık, T. (2004). Balıklarda Mikrobiyolojik, Enzimatik ve Kimyasal Bozulmalar/Chemical, Microbiological and Enzymatic Spoilage in Fish. *Journal of the Faculty of Agriculture*, 35(3-4).
- Hobbs, B. C. (1968). Food poisoning and food hygiene. *Food Poisoning and Food Hygiene*, 2(4), 1-5.
- Huber, T. W. (2000). Enterobacter. In *Encyclopedia of Food Microbiology*. 598-603. (RK Robinson, CA Batt, PD Patel eds). NY: Academic Press.
- Hugas, M., Garigga, M., Aymerich, M. T. (2003). Functionality of Enterococci in meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 88(2-3), 223-233.
- Huss, H. H. (1995). *Quality and quality changes in fresh fish*. Rome: FAO Fisheries Technical, 348.
- Huss, H. H. (2007). *Assessment and management of seafood safety and quality* (2. Baskı). United States: Daya Books, 180-350.

- Huss, H. H., Reilly, A., Embarek, P. K. B. (2000). Prevention and control of hazards in seafood. *Food Control*, 11(2), 149-156.
- ILSI (International Life Sciences Institute). (2011). *The Enterobacteriaceae and Their Significance to the Food Industry*. 10.996/30
- Iversen, C. and Forsythe, S. J. (2003). Risk profile of *Enterobacter sakazakii*, an emergent pathogen associated with infant milk formula. *Trends in Food Science and Technology*, 14, 443-454.
- İnat, G. (2008). Pastırma üretiminde kontaminasyon kaynaklarının belirlenmesi ve iyileştirme koşullarının araştırılması, *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 27(1-2), 53-59.
- İnat, G., Pamuk, Ş., Siriken, B., Demirel, Y. N. (2013). Tüketime hazır tuzlanmış hamsi balıklarının (*Engraulis encrasicolus*) mikrobiyolojik ve kimyasal kalitelerinin belirlenmesi. *Veteriner Hekim Derneği Dergisi*, 84(1), 26-35.
- İnternet: Bilge, F. ve Karaboz, İ. (2005). İzmir' de Piyasada Açıkta Satışa Sunulan Bazı Gıdaların *Staphylococcus aureus* ve Enterotoksinleri Bakımından İncelenmesi. *Orlab On- Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 3(6), 1-6 URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.mikrobiyoloji.org%2Fpdf&date=2018-01-27> Son Erişim Tarihi: 09.01.2017.
- İnternet: Danacıoğlu, Ö. (2008). *Fermente et ürünleri işleme teknolojisi*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fgidam%C3%BChendisi.tripod.com%5CFERMENTE%3AHTM+&date=2018-01-27> Son Erişim Tarihi: 16.06.2017.
- İnternet: Sauer K. (2003). *The genomics and proteomics of biofilm formation*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fgenomebiology.com%2F2003%2F4%2F6%2F219&date=2018-01-27> Son Erişim Tarihi: 23.10.2016.
- İnternet: WHO, (2003). *Promoting fruit and vegetable consumption around the world*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwho.int%2Fdietphysicalactivity%2Ffruit%2Fen%2Fprint.html&date=2018-01-27> Son Erişim Tarihi: 25.11.2017.
- İşleroğlu, H., Yıldırım, Z., Demirpençe, Y., Yıldırım, M. (2008). Enterococcuslar: biyokimyasal, fizyolojik ve fonksiyonel özellikleri ile patojenitesi. *Akademik Gıda*, 6(3), 16-26.
- John Jr, J. F., Sharbaugh, R. J. and Bannister, E. R. (1982). *Enterobacter cloacae*: bacteremia, epidemiology, and antibiotic resistance. *Reviews of Infectious Diseases*, 4(1), 13-28.
- Johnson, W., Tyler, S., Ewan, E., Ashton, F., Pollard, D., Rozee, K. (1991). Detection of genes for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*, 29(3), 426-430.
- Kalafatoğlu, H. (1995). Gıda endüstrisinde mikrobiyal kaynaklı kontaminasyonlar ve önlemleri. *Gıda Dergisi*, 20(3), 137-141.

- Kaleli, İ., Demir, M., Maralcan, M. ve Öztürk, S. (2001). Enterobacter suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *Ankem Dergisi*, 15(1), 140-144
- Karabiyik, Z. (2011). *Fermente Et Örneklerinden İzole Edilen Enterococcus Türlerinin Bazı Teknolojik Özellikleri ve Çoklu Antibiyotik Dirençliliği*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Karataş, A. (2005). *Beyaz peynir ve fermente sucuklardan Enterococcus faecium,,un izolasyonu ve tanımlanması*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Kateete, D. P., Kimani, C. N., Katabazi, F. A., Okeng, A., Okee, M. S., Nanteza, A., Joloba M. L., Najjuka, F. C. (2010). Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 9(1), 23.
- Keeratipibul, S., Techaruwichit, P., Chaturongkasumrit, Y. (2009). Contamination sources of coliforms in two different types of frozen ready-to-eat shrimps. *Food Control*, 20, 289-93.
- Keskin, O., Altay, G., Akan, M. (2003). Farklı Hayvansal Kaynaklardan İzole Edilen Koagülaz Negatif Staphylococcuslarda Slime Üretimi ve Adherans. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 27, 253.
- Khorshed, A., Özbal, Y. (2012). Kan kültürlerinde izole edilen koagülaz negatif Staphylococcusların tiplendirilmesi ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. *Saglik Bilimleri Dergisi*, 43(6), 153-163.
- Kıymacı, B. M. E., Kaskatepe B., Ozturk, S., Yıldız, S. and Alın, A. (2014). Correlation between antibiotic susceptibility and slime production of some staphylococci starins. *International Journal of Current Research in Chemistry and Pharmaceutical Sciences*, 1(8), 91-95.
- Kinley, B., Rieck, J., Dawson, P. and Jiang, X. (2010). Analysis of *Salmonella* and enterococci isolated from rendered animal products. *Canadian Journal of Microbiology*, 56(1), 65-73.
- Kıraç, S. (2014). *Ankara da Tüketime Sunulan Balıklardan İzole Edilen Gram Negatif Bakterilerin Virülens Özellikleri ve Antibiyotik Dirençlilikleri*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Klein, G. (2003). Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of Enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *Internation Journal of Food Microbiology*, 88, 123-131
- Knudtson, L. M., Hartman, P. A. (1992). Routine procedures for isolation and identification of enterococci and fecal streptococci. *Appl Environ Microbiol*, 58(9), 3027-31.
- Koksal, F., Yasar, H., Samasti, M. (2009). Antibiotic resistance of coagulase-negative staphylococcus starins isolated from blood cultures of septicemic patients in Turkey. *Microbiological Research*, 164, 404-410.

- Komprda, T., Sládková, P., Petirová, E., Dohnal, V., Burdychová, R. (2010). Tyrosine and histidine-decarboxylase positive lactic acid bacteria and enterococci in dry fermented sausages. *Meat Science*, 86(3), 870-877
- Korenova, J., Lopasovska, J., Kuchta, T. (2009). Biofilm forming bacterial contaminants in small and medium-sized ewes' milk and meat processing enterprises in Slovakia. *Journal of Food and Nutrition Research*, 48(3), 115-125.
- Kročko, M., Čanigova, M., Duckova, V., Artimova, A., Bezekova, J., Poston, J. (2011). Antibiotic resistance of *Enterococcus* species isolated from raw foods of animal origin in South West part of Slovakia. *Czech Journal of Food Sciences*, 29, 654-659.
- Le Loir, Y., Baron, F., Gautier, M. (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetic Molecular Research*, 2(1), 63-76.
- Lebert, I., Leroy, S., Talon, R. (2007). Microorganisms in traditional fermented meats – Chapter 11. In F. Toldra, Y. H. Hui, I. Astiasaran, W. K. Nip, J. G. Sebranek, E. T. F. Silveira, L. H. Stahnke, & R. Talon (Eds.), *Handbook of fermented meat and poultry*, New Jersey: Blackwell Publishing, 113-1124.
- Leclercq, R., Derlot, E., Duval, J., Courvalin, P. (1988). Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *New England Journal of Medicine*, 319, 157-161.
- Lerche, A., Rasmussen, N., Wandall, J. H., Bohr, V. A. (1995). *Staphylococcus aureus* meningitis: a review of 28 consecutive community-acquired cases. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 27(6), 569-573.
- Linden, P. K., Pasculle, A. W., Manez, R. (1996). Differences in outcomes for patients with bacteremia due to vancomycin-resistant *E. faecium* or vancomycin susceptible *E. faecium*. *Clinic Infection Diseases*, 22, 663 -70.
- Lindsay, D., Brozel, V. S., Mostert, J. F., Von Holy, A. (2002) Differential efficacy of a chlorine dioxide-containing sanitizer against single species and binary biofilms of a dairy-associated *Bacillus cereus* and a *Pseudomonas fluorescens* isolate. *Journal of Applied Microbiology*, 92(2), 352-61.
- Lowy, F. D. (1998). *Staphylococcus aureus* infections. *New England Journal of Medicine*, 339(8), 520-532.
- Lund, B., Baird-Parker, T.C. (2000). *Microbiological safety and quality of food* (1. Baskı), United States: Springer Science & Business Media, 40-215.
- Macovei, L., Zurek, L. (2006). Ecology of Antibiotic Resistance Genes: Characterization of Enterococci from Houseflies Collected in Food Settings. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(6), 4028-4035.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M. (2010). *Brock Biology of Microorganisms*. (11. Baskı). C. Çökmüş (Editör). San Francisco: Benjamin Cummings.

- Marie-louise Danielsson-Tham (2013). Staphylococcal Food Poisoning. *Food Associated Pathogens*, 2(11), 250-268.
- Martin, B., Corominas, L., Garriga, M., Aymerich, T. (2009). Identification and tracing of *Enterococcus* spp. by RAPD-PCR in traditional fermented sausages and meat environment, *Journal of Applied Microbiology*, 106(1), 66-77.
- Martin, B., Garriga, M., Hugas, M., Aymerich, M.T. (2005). Genetic diversity and safety aspects of enterococci from slightly fermented sausages. *Journal of Applied Microbiology*, 98, 1177–1190.
- Masako, K., Hideyuki, I., Shigeyuki, O., Zenro, I. (2005). A novel method to control the balance of skin microflora: Part 1. Attack on biofilm of *Staphylococcus aureus* without antibiotics. *Journal of Dermatological Science*, 38(3), 197-205.
- Matar, G. M., Chaar, M. H., Araj, G. F., Srouf, Z., Jamaledine, G. and Hadi, U. (2005). Detection of a highly prevalent and potentially virulent strain of *Pseudomonas aeruginosa* from nosocomial infections in a medical center. *BioMed Central Microbiology*, 5, 29.
- Matyar, F., Eraslan, B., Akkan, T., Kaya, A. ve Dinçer, S. (2009). İskenderun körfezi balıklarından izole edilen bakterilerde antibiyotik ve ağır metal dirençliliklerinin araştırılması. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 2(2), 1-5.
- Memari, G. (2015). *Balık Örneklerinden İzole Edilen Staphylococcus'ların Bazi Virulans Ve Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Metin, M. (1977). *Peynirlerde Kalite Kontrolü. Süt ve Mamullerinde Kalite Kontrolü*. A.T. Cengiz (Editör). Ankara: Güneş Kitabevi, 351–60.
- Moreno, M. R., Leisner, J. J., Tee, L. K., Ley, C., Radu, S., Rusul, G., Vancanneyt, M., De Vuyst, L. (2002). Microbial analysis of Malaysian tempeh, and characterization of two bacteriocins produced by isolates of *Enterococcus faecium*. *Journal of Applied Microbiology*, 92, 147-157.
- Murray, B.E. (1998). Enterococci. In: Gorbach, Bartlett, Blacklow (ed). *Infectious Diseases* Philadelphia. WB Saunders, 1723-1730.
- Murray, B. E. (1990). The life and times of the Enterococcus. *Clinical Microbiology Reviews*, 3, 46–65.
- Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L. and Pfaller, M. A. (2009). *Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Atlas Kitapçılık, 734-748.
- Murray, P.R., Rosenthal K.S., Pfaller M.A. (2005). *Medical Microbiology*, (5th ed). Philadelphia: Mosby.
- Müştak, H.K., Esendal, Ö.M. (2008). *Staphylococcus aureus* Ekzotoksinleri. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 2(1), 63-68.

- Najafi M.H.B. ve Bahreini M. (2012). Microbiological Quality of Mixed Fresh-Cut Vegetable Salads and Mixed Ready- to-Eat Fresh Herbs in Mashhad, Iran. *International Conference on Nutrition and Food Sciences*, 39.
- Nes, I.F., Diep, D.B., Holo, H. (2007). Bacteriocin Diversity in Streptococcus and Enterococcus, *The Journal of Bacteriology*, 189, 1189–1198.
- Noble, W.C. (1998) Staphylococcus Disease. In: Collier L, Balchows A, Susman M (eds). *Topley Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. New York: Oxford University Press, 231.
- Normanno, G., La Salandra, G., Dambrosio, A., Quaglia, N., Corrente, M., Parisi, A. ve diğerleri. (2007). Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic Staphylococcus aureus isolated from meat and dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, 115(3), 290-296.
- Novakova, I., Kacaniova, M. (2010). Identification of *Enterococcus* spp. in GIT of Broiler Chickens after Application of Biological Preparations. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, 43(1), 304-306
- Nyenje, M.E., Tanih N.F., Green, E. and Ndip, R. N. (2012). Current Status of Antibigrams of *Listeria ivanovii* and *Enterobacter cloacae* Isolated from Ready-To-Eat Foods in Alice, South Africa. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 9, 3101-3114.
- Odigie I.E., Akinbo B.D., Atere A.D., Idemudia N.L., Asuquo A. (2015). Antimicrobial Susceptibility of Some Members Of Enterobacteriaceae Isolated From Salad Vegetables In Calabar. *New York Science Journal*. 8(2).
- Ogier, J., Serror, P. (2008). Safety assesment of diary microorganisms: The Enterococcus genus. *International Journal of Food Microbiology*, 126, 291-301.
- Oraman, M. N. (1970). *Sebze İlimi*. Ankara: Ankara Üniversitesi ZF Yayın, 323.
- Ortigosa, M, Irigoyen, A, Urdin, A., Garcia, S., Ibanez, F. C., Torre, P. (2008). Sources of enterococci in Idiazábal-type cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 125, 146-152.
- Orwin, P.M., Leung, D.Y., Donahue, H.L., Novick, R.P., Schlievert, P.M. (2001). Biochemical and biological properties of staphylococcal enterotoxin K. *Infection and Immunity*, 69(1), 360-366.
- Öngen, B. (2005). *Tıbbi Mikrobiyoloji 2 İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları*, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 227-229
- Özgüneş İ, Yıldırım F, Çolak H, Durmaz G, Usluer G, Akgün Y. (2000). Koagülaz negatif Staphylococcusların patojenitesi ve antibiyotik duyarlılığı ile slime pozitifliği arasındaki ilişki. *Hastane Enfeksiyonları Dergisi*, 4, 106-111.
- Öztan, A. (2003). *Et Bilimi ve Teknolojisi*; (4. Baskı). Ankara: TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Yayınları Kitaplar Serisi, 495.

- Papamanoli, E., Tzanestakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E., Kotzekidou, P. (2003). Characterisation of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-sausages in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Science*, 65, 859-867.
- Paterson, D. L. (2006). Resistance in Gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. *American Journal of Medicine*, 119, 20-28.
- Patır, B., Duman, M. (2006). Tütsülenmiş Aynalı Sazan (*Cyprinus carpio* L.) Filetolarının Muhafazası Sırasında Oluşan Fiziko-Kimyasal ve Mikrobiyolojik Değişimlerin Belirlenmesi. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi*, 18(2), 189-195.
- Pereira, V., Lopes, C., Castro, A., Silva, J., Gibbs, P., Teixeira, P. (2009). Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal. *Food Microbiology*, 26(3), 278-282.
- Peters, J., Mac, K., Wichmann-schauer, H., Klein, G., Ellerbroek, L. (2003). Species distribution and antibiotic resistance patterns of enterococci isolated from food of animal origin in Germany. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 311-314.
- Pingulkar K, Komat A, Bongirwar D. (2001). Microbiological quality of fresh leafy vegetables, salad components and ready-to-eat salads: an evidence of inhibition of *Listeria monocytogenes* in tomatoes. *International Journal of Food Science and Nutrition*. 52, 15-23.
- Poeta, P., Costa, D., Sa'enz, Y., Klibi, N., Ruiz-Larrea, F., Rodrigues, J., Torres, C. (2005). Characterization of antibiotic resistance genes and virulence factors in faecal enterococci of wild animals in Portugal. *The Journal of Veterinary Medical*, 52, 396–402.
- Rico, H., Gozalbo, D., Sebasti,a C., Falomir P. *Enterobacter cloacae* in Fresh Vegetables: A Potential Carrier of Antibiotic Resistances to Consumers. *An Interdisciplinary Journal*, 2(3), 1-7.
- Robert C., Moellering R.C. (2005). Enterococcus species, *Streptococcus bovis* and *Leuconostoc* species. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (edc). *Principles and Practice of Infectious Disease*. (Vol 2. Sixth edition). Amsterdam: Elsevier Churchill Livingstone, 2411-2417.
- Rodrigues J, Poeta P, Martins A, Costa D (2002). The importance of pets as reservoirs of resistant *Enterococcus* strains, with special reference to vancomycin. *Journal of Veterinary Medicine Series B*, 49(6), 278-280.
- Rosec, J., Gigaud, O. (2002). Staphylococcal enterotoxin genes of classical and new types detected by PCR in France. *International Journal of Food Microbiology*, 77(1), 61-70.
- Sanchez, J., Basanta, A., Gomez-Sala, B., Herranz, C., Cintas, L. M., Hernandez, P. E. (2007). Antimicrobial and safety aspects, and biotechnological potential of bacteriocinogenic enterococci isolated from mallard ducks (*Anas platyrhynchos*). *International Journal of Food Microbiology*, 117, 295–305.

- Sarantinopoulos, P., Andrighetto, C., Georgalaki, M. D., Rea, M. C., Lombardi, A., Cogan, T. M., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E. (2001). Biochemical properties of enterococci relevant to their technological performance. *International Dairy Journal*, 11, 621-647.
- Sarter, S., Nguyen, H. N. K., Hung, L. T., Lazard, J. (2007). Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria isolated from farmed catfish. *Food Control*, 18(11), 1391-1396.
- Sayiner, H.S. (2008). *Sürveyansla saptanan VRE' lerin dağılımı, antibiyotik duyarlılıkları ve kolonize hastalarda risk faktörlerinin değerlendirilmesi*. Uzmanlık Tezi, Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.
- Schleifer, K.H. (1986). *Gram-positive cocci. Bergey's manual of systematic bacteriology* (ikinci baskı). New York: Springer, 999-1002.
- Schouten MA, Vose A, Hoogkamp-Karstanje JAA (1999). Antimicrobial susceptibility patterns of enterococci causing infections in Europe. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43(10), 2542-2546.
- Schwaiger K., Helmke K., Hölzel C.S., Bauer J. (2011). Antibiotic resistance in bacteria isolated from vegetables with regards to the marketing stage (farm vs. supermarket), *International Journal of Food Microbiology*, 148, 191–196.
- Selçuk, N. (1991). *Beyaz Peynir Üretiminde Starter Kültür İlavesinin, Değişik Salamura Konsantrasyonlarının ve Olgunlaşma Sürelerinin Staphylococcus aureus 'un Çoğalmasına Etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum.
- Semedo, T., Santos, M.A., Lopes, M.S., Marques, J.J. (2003). Virulence Factors in Food, Clinical and Reference Enterococci: A Common Trait in the Genus. *System Applied Microbiology*, 26, 13-22.
- Sergelidis, D., Abraham, A., Papadopoulos, T., Soultos, N., Martziou E., Koulourida, V., Govaris, A., Pexara, A., Zdragas, A. ve Papa, A. (2014). Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp. from ready-to-eat fish products. *Letters in Applied Microbiology*, 59(5), 500-6.
- Shankar, N., Baghdayan, A. S., Gilmore, M. S. (2002). Modulation of virulence within a pathogenicity island in vancomycin resistant *Enterococcus faecalis*. *Nature*, 417.
- Shankar, N., Lockatell, C. V., Baghdayan, A. S., Drachenberg, C., Gilmore, M. S., Johnson, D. E. (2001). Role of *Enterococcus faecalis* surface protein Esp in the pathogenesis of ascending urinary tract infection. *Infection and Immunity*, 69, 4366-4372.
- Sipahi, N., Mutlu, C. ve Akkan, T. (2013). Giresun ilinde tüketime sunulan bazı balıklardan izole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinin antibiyotik ve ağır metal dirençlilik düzeyleri. *Gıda*, 38.
- Sood, S., Malhotra, M., Das-Arti Kapil, B.K. (2008). Enterococcal infections - antimicrobial resistance. *Indian Journal of Medical Research*, 128, 111-112.

- Soriano, J.M., Rico, H., Molto, J.C. and Manes, J., (2000). Assesment of the microbiological quality and wash treatments of lettuce served in university restaurants, *Internaional Journal of Food Microbiology*, 58, 123-128.
- Souli M., Giamaerellou H. (1998). Efect of slime produced by clinical isolates of coagulaze negative stafilococci on activities of various antimicrobial agent. *Antimicrob Agents Chemotter*, 42, 939-41.
- Southern, E.M. (1979). Measurement of DNA lengths by gel electrophoresis. *Analytical Biochemistry*, 100, 319–323.
- Splittstoesser, D.F. (1983). Indicator organisms on frozen blanched vegetables. *Food Technology*, 14, 105-106.
- Srey, S., Jahid, I.K., Ha, S.D. (2013). Biofilm formation in food industries: a food safety concern. *Food Control*, 31(2), 572-585.
- Stoodley P., Sauer K., Davies D.G., Costerton J.W. (2002) Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Review of Microbiology*, 56, 187–209.
- Strompfova, V., Laukova, A., Simonova, M., Marcinakova, M. (2008). Occurrence of the structural enterocin A, P, B, L50B genes in enterococci of different origin. *Veterinary Microbiology*, 132, 293–301.
- Sustackova, A., Napravnikova, E., Schlegelova, J. (2004). Antimikrobial resistance of *Enterococcus* spp. isolates from raw beef and meat products. *Folia Microbiology*, 49(4), 411-417.
- Sümerkan, B. (2002). Vankomisine dirençli *Enterococcus*lar, *Sterilizasyon Dezenfeksiyon ve Hastane Enfeksiyonları Dergisi*, 10(2), 1-5.
- Şeker, E., Kiliç, A., Özcan, M., İspir, Ü. (2006). Malatya'daki Bazi Gökkuşağı Alabalık (*Oncorhynchus Mykiss*) İşletmelerinin Bakteriyel Florasi. *Doğu Anadolu Bölge Dergisi*, 1(5), 135-141.
- Taormina, P.J. and Beuchat, L.R. (1999). Comparison of chemical treatments to eliminate enterohemorrhagic *Esherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. *Journal of Food Protection*, 62(4), 318-324.
- Taşova, Y., İnal, A.S. (2004). *Enterococcus* enfeksiyonlarında klinik. *E. faecium* Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen Enfeksiyonlar. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 17-22.
- Tekin, G.M. (2004). *Enterococcus*lar: Mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogenezi. Önemli ve Sorunlu Bakteri Enfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 121-140.
- Terzi, G. (2006). Ankara ili ndeki bazı gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) çiftliklerine ait su, yem ve balıkların mikrobiyolojik yönden incelenmesi. *İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 32(1), 37- 46.
- Todd, E.C., Greig, J.D., Bartleson, C.A., Michaels, B.S. (2009). Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 6.

- Transmission and survival of pathogens in the food processing and preparation environment. *Journal of Food Protection*, 72(1), 202-219.
- Torlak Ö. F. (2013). *Klinik ve Gıda Örneklerinden İzole Edilen Enterococcus'ların Virulans Faktörleri ve Antibiyotik Dirençlilikleri*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Trachoo N. (2003). Biofilms and the food industry. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 25, 807-15.
- Trivedi, K., Cupakova, S., & Karpiskova, R. (2011). Virulence factors and antibiotic resistance in enterococci isolated from food-stuffs. *Veterinari Medicina*, 56(7), 352-357.
- Tunail, N. (2000). *Mikrobiyel enfeksiyonlar ve intoksikasyonlar, gıda mikrobiyolojisi ve uygulamaları*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği, Ankara.
- Tunçel, G. (1999). *Süt ürünlerinde bulunan Enterococcusların yorumlanması*, İstanbul: Dünya Yayıncılık, 659.
- Tünger A. (2004). Staphylococcus aureus: Mikrobiyoloji, patogenezi ve epidemiyoloji. (Ulusoy S, Usluer G, Ünal S.) *Gram-pozitif bakteri enfeksiyonları*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 968.
- Türkyılmaz S., Eskiizmirli, S. (2006). Detection of slime factor production and antibiotic resistance in staphylococcus strains isolated from various animal clinical samples. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 30, 201-206.
- Usluer, G., Akgün, Y. (2009). Koagülaz negatif Staphylococcus'ların patojenitesi ve antibiyotik duyarlılığı ile slime pozitifliği arasındaki ilişkisi. *Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon*, 2(1), 1-6.
- Uttley, A.H.C., Collins, C.H., Naidoo, J. and George, R.C. (1988). Vancomycin resistant enterococci. *Lancet*; 1, 57-58.
- Valenzuela, A., Omar, N., Abriouel, H., Lopez, R., Veljovic, K., Canamero, M., Topisirovic, M., Galvez, A. (2009). Virulence factors, antibiotic resistance and bacteriocins in enterococci from artisan food of animal origin. *Food Control*, 20, 381-385.
- Von Eiff, C., Peters, G., Heilmann, C. (2002). Pathogenesis of infections due to coagulase negative staphylococci. *The Lancet Infectious Diseases*, 2(11), 677-685.
- Vural, T., Şekercioğlu, A., Ögünç, D., Gültekin, M., Çolak, D., Yeşilipek, A., Ünal, S., Kocagöz, S., Mutlu, G. (1999). Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* suşu. *Ankara Dergisi*, 13(1), 1-4.
- Waksman S.A. (1947). What is an antibiotic or an antibiotic substance. *Mycologia*, 39, 565-569.
- Waldvogel, F.A. (2000). Staphylococcus aureus (Including Staphylococcal Toxic Shock). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Mandell, Douglas and Bennet's*

*principles and practice of infectious diseases*. New York: Churchill Livingstone, 2069-2092.

- Walsh, C. (2000). Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature*, 406, 775-781
- Wang, S.A., Tokars J.I., Bianchine P.J., Carson L.A., Arduino M.J., Smith A.L., et al. (2000). *Enterobacter cloacae* bloodstream infections traced to contaminated human albumine. *Clinical Infectious Diseases*, 30 35–40.
- Washington, W., Allen, S., Janda, W., Koneman, E., Procop, G., Woods, G., Schreckenberger, P. (2006). *Konema's color atlas and Textbook of dignostic microbiology*. (sixth edition). Baltimore: Lippincot Williams ve Wilkins, 743-744.
- Waters CM, Bassler BL. (2005). Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 21, 319–46.
- Watnick P, Kolter R. (2000). Biofilm, city of microbes. *Journal of Bacteriology*, 182, 2675–9.
- WHO/FSF/FOS.2. (1998). Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review.
- Wong, A., Bergdoll, M., Cliver, D., Riemann, H. (2002). Staphylococcal food poisoning. *Foodborne Diseases*, 2(1), 231-248.
- Yarwood JM, Schlievert PM. (2003) Quorum sensing in Staphylococcus infections. *The Journal of Clinical Investigation*, 112, 1620–5.
- Yıldırım N, Sezen İY, Ardıç N, İleri Ç. (2008) Farklı klinik örneklerden izole edilen koagülaz-negatif Staphylococcusların slime faktör üretimlerinin ve bazı antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*, 22(4), 209-14.
- Yıldırım, M. (2007). Enterococcuslar ve Enterococcuslarla Gelisen Enfeksiyonlar. *Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2, 46-52.
- Yücel, N., Anil, Y. (2011). Çiğ süt ve peynir örneklerinden *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif Staphylococcus'ların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılığı. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 2(1), 76-85.
- Zeana, C., Kubin, J.C., Della-Latta, P., Hammer, S.M. (2001). Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* meningitis successfully managed with linezolid: case report and review of the literature. *Clinic Infectious Diseases*, 33, 477-482.
- Zırakzadeh, A., Patel, R. (2006). Vancomycin-Resistant Enterococci: Colonization, Infection, Detection, and Treatment. *Mayo Clinic Proceedings*, 81, 529-536.
- Zurfluh K., Nüesch-Inderbinena M., Moracha M., Berner A.Z., Hächlera H. ve Stephana R. (2015). Extended – Spectrum –  $\beta$  – Lactamase – Producing Enterobacteriaceae Isolated from Vegetables Imported from the Dominican Republic, India, Thailand, and Vietnam. *Applied and Environmental Microbiology*, 81, 3115–3120.



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : DURMAZ, İhsan  
 Uyuğu : T.C.  
 Doğum tarihi ve yeri : 03.01.1985, Bursa  
 Medeni hali : Evli  
 Telefon : 0 (541) 452 43 76  
 e-mail : ihsandurmazbio@gmail.com



### Eğitim

| Derece        | Eğitim Birimi                     | Mezuniyet Tarihi |
|---------------|-----------------------------------|------------------|
| Yüksek lisans | Gazi Üniversitesi / Biyoloji      | Devam ediyor     |
| Lisans        | Kırıkkale Üniversitesi / Biyoloji | 2008             |
| Lise          | Ankara Laborant Meslek Lisesi     | 2006             |

### İş Deneyimi

| Yıl        | Yer                          | Görev    |
|------------|------------------------------|----------|
| 2017-Halen | Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü | Biyolog  |
| 2012-2017  | THSK                         | Biyolog  |
| 2011-2012  | RSKM                         | Biyolog  |
| 2003-2011  | Şap Enstitüsü Müdürlüğü      | Laborant |

### Yabancı Dil

İngilizce

### Yayınlar

### Hobiler

Yüzme, Gitar, Dans.



*GAZİ GELECEKTİR..*