



**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN VE GIDA NUMUNELERİNDEN STAFİLOKOK
TÜRLERİNİN İZOLASYONU VE BİYOFİLM OLUŞTURMA
YETENEKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

OSMAN NUR EREN

MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

**Şanlıurfa
2025**



T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KLİNİK ÖRNEKLERDEN VE GIDA NUMUNELERİNDEN STAFİLOKOK
TÜRLERİNİN İZOLASYONU VE BİYOFİLM OLUŞTURMA
YETENEKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

OSMAN NUR EREN

MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI
Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi AHMET MURAT SAYTEKİN

Şanlıurfa
2025

TEŐEKKÜR

Bu çalışmanın hayata geçirilmesi s¼recinde samimiyetini her zaman hissettiren ve beni doğru y¼nde y¼nlendiren bilgi, tecr¼be ve g¼r¼őlerinden faydalandığım araőtırmanın her bir aőamasında beni destekleyen, başta danışman hocam Dr. Őęr. Üyesi Ahmet Murat SAYTEKİN' e, Mikrobiyoloji anabilim dalı baőkanı Prof. Dr. Oktay KESKİN' e, Mikrobiyoloji anabilim dalı Őęretim üyeleri Prof. Dr. Osman Yaőar TEL'e, Prof. Dr. Sevil ERDENLİğ G¼RBİLEK'e ve Dr. Őęr. Üyesi Ayfer Güll¼ Y¼CETEPE' ye,

Bilgi ve g¼r¼őlerini benimle paylaőmaktan çekinmeyen, uyum içerisinde g¼rev yaptığım arkadaőlarım Adem ADIG¼ZEL, Mehmet Murat KONUK ve Dr. Mehmet SAVRUNLU' ya,

Her zaman yanımda bulunan ve desteklerini benden esirgemeyen sevgili eőim Őule'ye ve t¼m sıkıntılarımı unutturan ocuklarım Murat ve G¼khan'a sonsuz teőekk¼rlerimi borç bilirim.

Ayrıca beni yetiőtiren, b¼y¼ten ve eğitimimde çok b¼y¼k emekleri olan rahmetli Annem ve Babamı sonsuz minnetle y¼d ediyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	iv
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Tarihçe.....	1
1.2. Çalışmanın Amacı	2
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	3
2.1. STAFİLOKOKLARIN GENOM YAPISI ve ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞI	3
2.1.1. Stafilocokların Genom Yapısı	3
2.1.2. Stafilocokların Antibiyotik Duyarlılığı	3
2.1.3. Biyofilm ve Antibiyotik Duyarlılığı.....	3
2.2. STAFİLOKOKLARIN VİRULENS ÖZELLİKLERİ.....	4
2.2.1. Hücre Yapıları	5
2.2.2. Kapsül	5
2.2.3. Protein A (Spa).....	5
2.2.4. Peptidoglikan Tabakası	5
2.2.5. Teikoik asit.....	6
2.2.6. Yüzey Proteinleri	6
2.2.7. Enzimler	7
2.2.7.1. Katalaz.....	7
2.2.7.2. Koagülaz.....	7
2.2.7.3. DNaz.....	7
2.2.7.4. Lipaz (S. aureus ve koagülaz negatif Stafilocoklardan bazıları)	7
2.2.7.5. Hyalüronidaz.....	8
2.2.7.6. Stafilokinaz (Fibrinolizin).....	8
2.2.7.7. Beta laktamaz (β -laktamaz, Penisilnaz)	8
2.2.7.8. TNAz (Termonükleaz).....	8
2.3. MORFOLOJİK ve KİMYASAL ÖZELLİKLERİ.....	8
2.3.1. Görünüm ve Boyama	8
2.3.2. Üreme ve Kültür Özellikleri	9
2.3.3. Biyokimyasal Özellikleri.....	9
2.3.4. Genetik Yapı.....	11
2.4. GENEL BİLGİLER.....	11
2.5. BİYOFİLM	11
2.5.1. Biyofilmin Tarihçesi	11
2.5.2. Biyofilmin Tanımı ve Önemi.....	12
2.5.3. Biyofilmin Oluşma Mekanizması	12
2.5.4. Biyofilm Oluşumunun Klinik Önemi.....	13
2.5.5. Biyofilmlerle İlgili Enfeksiyonlar	13
2.5.6. Biyofilmin Antibiyotiklere Karşı Direnci.....	14
2.5.7. Biyofilm Oluşumunun Gıda Endüstrisindeki Önemi	14
2.6. STAFİLOKOK ENFEKSİYONLARI.....	14
2.6.1. Hayvanlarda Stafilocok Enfeksiyonları.....	15
2.6.1.1. Mastit.....	15
2.6.1.2. Kuzu Piyemisi	15
2.6.1.3. Eksudatif Epidermitis	15
2.6.1.4. Botriyomikoz.....	15
2.6.1.5. Köpek ve Kedilerde Stafilocokal Enfeksiyonlar	16
2.6.1.6. Kanatlılarda Stafilocok Enfeksiyonları.....	19
2.6.2. İnsanlarda Stafilocok Enfeksiyonları ve Stafilocokal Enterotoksin	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21

3.1. Gereç	21
3.1.1. Bakteriyel izolasyon gereçleri.....	21
3.1.1.1. İnceleme Örnekleri	21
3.1.1.2. Besiyerleri.....	22
3.1.1.2.1. Buffered pepton water (BPW).....	22
3.1.1.2.2. Baird-Parker agar (BPA).....	22
3.1.1.2.3. Mannitol salt fenol red agar (MSA).....	23
3.1.1.2.4. Tryptic soy agar (TSA)	23
3.1.1.2.5. Brain heart infusion (BHI)	23
3.1.1.2.6. %15 Gliserinli tryptic soy broth	23
3.1.1.2.7. Boyama gereçleri, biyokimyasal test gereçleri, sarf malzemeleri ve kullanılan cihazlar.....	23
3.1.2. Biyofilm belirleme için besiyerleri, solüsyon ve cihazlar.....	24
3.1.2.1. Tryptic soy broth (TSB).....	24
3.1.2.2. Kongo kırmızısı agar (KKA)	24
3.1.2.3. %0,1 Kristal viyole solüsyonu.....	24
3.1.2.4. Biyofilm tespiti için kullanılan diğer gereç ve cihazlar	24
3.1.3. Referans suşlar.....	25
3.2. Yöntem	25
3.2.1. Stafilocok türlerinin izolasyonu.....	25
3.2.1.1. Gıda numunelerinden Stafilocok türlerinin izolasyonu	25
3.2.1.2. Klinik örneklerden Stafilocok türlerinin izolasyonu.....	25
3.2.1.3. Kolonilerin tür seviyesinde identifikasyonu	26
3.2.1.4. İzolatların biyofilm oluşturma yeteneklerinin araştırılması.....	26
3.2.1.4.1. Kongo kırmızısı agar yöntemiyle biyofilm tayini	26
3.2.1.4.2. Tüp yöntemiyle biyofilm tayini	27
3.2.1.4.3. Mikropleyt yöntemiyle biyofilm tayini	27
3.2.2. İstatistiksel analiz.....	28
4. BULGULAR.....	29
4.1. Stafilocok türlerinin izolasyon ve identifikasyon bulguları.....	29
4.2. Biyofilm test sonuçları	37
4.3. İstatistiksel Analiz Bulguları	43
5. TARTIŞMA.....	45
6. SONUÇLAR.....	50
7. ÖNERİLER.....	51
KAYNAKLAR.....	52
ÖZGEÇMİŞ.....	58

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KLİNİK ÖRNEKLERDEN VE GIDA NUMUNELERİNDEN STAFİLOKOK TÜRLERİNİN İZOLASYONU VE BİYOFİLM OLUŞTURMA YETENEKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

OSMAN NUR EREN

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

Tez Danışman: Dr. Öğr. Üyesi AHMET MURAT SAYTEKİN
Yıl: 2025, Sayfa : 57

Bu çalışmada amaç, klinik ve gıda örneklerinden *Staphylococcus* türlerinin tanımlanması ve bu etkenlerin oluşturabileceği risklerin güncel olarak araştırılmasıdır. Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı teşhis laboratuvarına getirilen 30 adet klinik örnek ile Şanlıurfa'da faaliyet gösteren gıda satış yerlerinden temin edilen 100 adet gıda ürünü çalışmada inceleme örneği olarak kullanıldı. Klinik örneklerden izolasyonlar, konvansiyonel izolasyon ve identifikasyon yöntemleriyle gerçekleştirildi. Gıda numuneleri için ISO standartları kullanıldı. Tüm izolatlar VITEK-2 cihazıyla doğrulanarak tür seviyesinde tanımlandı. İzolatların biyofilm oluşturma yetenekleri, kongo kırmızısı agar, tüp ve mikropleyt olmak üzere üç farklı yöntemle araştırıldı. Klinik ve gıda izolatlarının biyofilm oluşturma yetenekleri arasındaki ilişki ile koagülaz pozitif ve negatif izolatların biyofilm üretme yetenekleri arasındaki ilişki Fisherin Exact Testiyle istatistiksel olarak araştırıldı. Sonuçta, klinik örneklerden 11, gıda örneklerinden ise 21 olmak üzere toplam 32 adet stafilocok cinsine ait izolasyon gerçekleştirildi. Bu etkenlerin yedi farklı türe ait olduğu tespit edildi. *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus pseudintermedius* oransal olarak en çok tanımlanan türler oldu. İzolatların büyük bir bölümünün çeşitli seviyelerde olmak üzere biyofilm oluşturabildikleri ve biyofilm oluşumunun tespiti için kullanılan yöntemlerin sonuçlarının da birbirleriyle uyumlu olduğu görüldü. İzolatların biyofilm oluşturma yetenekleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı istatistiksel değerlendirmede, klinik ve gıda izolatlarının arasında anlamlı bir ilişki tespit edilemezken, koagülaz pozitif ve negatif izolatlar arasında anlamlı bir ilişkinin var olduğu belirlendi. Bu çalışma ile *Staphylococcus* türlerinin insan ve hayvan sağlığına yönelik potansiyel tehditlerinin devam ettiği görüldü. Özellikle gıdaların üretiminden pazarlanmasına geçen sürede gerekli önlemlerin alınarak ürünlerin bakteri kontaminasyonlarından uzak tutulması ve özellikle biyofilm oluşumlarının engellenmesi için akılcı mücadele yöntemlerinin uygulanması gerektiği kanaatine varıldı.

ANAHTAR KELİMELER: İzolasyon, biyofilm oluşumu, enfeksiyon, gıda, stafilocok

ABSTRACT

MASTER THESIS

ISOLATION OF STAPHYLOCOCCUS SPECIES FROM CLINICAL SAMPLES AND FOOD SAMPLES AND INVESTIGATION OF THEIR BIOFILM FORMATION ABILITIES

OSMAN NUR EREN

HARRAN UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY

Thesis Supervisor: Assist. Prof. Dr. AHMET MURAT SAYTEKİN

Year: 2025, Page : 57

The aim of this study was to identify *Staphylococcus* species from clinical and food samples and investigate the risks that these agents may pose. Thirty clinical samples brought to the diagnostic laboratory of the Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Harran University, and 100 food products obtained from food outlets operating in Sanliurfa were used as examination samples. Isolations from clinical samples were performed by conventional isolation and identification methods. ISO standards were used for food samples. All isolates were identified at the species level by verification with a VITEK-2 device. The biofilm formation ability of the isolates was investigated by three different methods: congo red agar, tube, and microplate. The relationships between the biofilm-forming ability of clinical and food isolates and the coagulase positive and negative isolates were statistically investigated by Fisher's Exact Test. As a result, 32 staphylococci, 11 from clinical samples and 21 from food samples were isolated. These agents belonged to seven different species. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* were proportionally the most frequently identified species. Most of the isolates could form biofilms at various levels, and the results of the methods used to detect biofilm formation were consistent. In the statistical evaluation of the relationship between the biofilm-forming abilities of the isolates, it was determined that there was no significant relationship between clinical and food isolates, while there was a substantial relationship between coagulase positive and negative isolates. This study showed that the potential threat of *Staphylococcus* species to human and animal health continues. It was concluded that rational control methods should be applied to keep the products away from bacterial contamination and mainly to prevent biofilm formation by taking necessary precautions, especially during the production and marketing of foods.

KEYWORDS: Isolation, biofilm formation, infection, food, staphylococci

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Gram boyama, <i>Staphylococcus</i>	1
Şekil 2.4. Stafilokok hücre yapısı	6
Şekil 2.5. Tüpte koagülaz deneyi. A: Koagülaz (+), B: koagülaz (-) (Atlı, 2007).....	7
Şekil 2.6. Biyofilmin Oluşum Aşamaları	13
Şekil 4.1. <i>S.aureus</i> 'un BPA besiyerindeki üreme görüntüsü	29
Şekil 4.2. <i>S. aureus</i> ve <i>S.pseudintermedis</i> ' un MSA besiyerindeki üreme görüntüsü.....	30
Şekil 4.3. Katalaz Testi A Katalaz (+), B Katalaz (-).....	30
Şekil 4.4. Koagülaz testi: A Koagülaz (-)(<i>S. sciuri</i>), B Koagülaz (+)(<i>S. aureus</i>).....	31
Şekil 4.5. Her bir ikiye bölünmüş petride a:Damlatma yöntemiyle ekim, b: Tek koloni yöntemiyle ekim	38
Şekil 4.6. Boyama sonrası kurutulmuş tüp çeperinde biyofilm oluşumunun görünümü ve skorlanması.....	39
Şekil 4.7. Kristal viyole ile boyanmış mikroplyet kuyucuklarında farklı yoğunluklarda biyofilm oluşumu.....	39

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Stafilokokların virulans faktörleri	5
Çizelge 2.2.	<i>S. aureus</i> 'un üremesi için sınır değerler	9
Çizelge 2.3.	<i>S. aureus</i> 'un bazı kimyasal özellikleri	10
Çizelge 2.4.	Hayvanlardan izole edilen koagülaz negatif Stafilokoklar	17
Çizelge 2.5.	Koagülaz pozitif stafilokoklar ve klinik önemleri	18
Çizelge 3.1.	Kullanılan klinik vakalara ait örnekler ve sayısı	21
Çizelge 3.2.	Kullanılan gıda materyalleri ve sayısı	22
Çizelge 3.3.	ODC hesaplamasına göre biyofilm oluşum düzeyi	28
Çizelge 4.1.	Gıda numunelerinden izolatların test sonuçları	32
Çizelge 4.2.	Klinik örneklerden izolatların test sonuçları	35
Çizelge 4.3.	Stafilokok türlerinin klinik materyallerden ve gıda numunelerinden izolasyon oranları	37
Çizelge 4.4.	İzolatların biyofilm oluşturma yeteneklerinin karşılaştırmalı bulguları	40

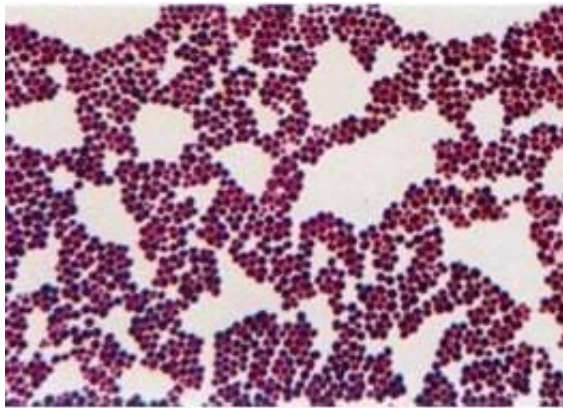


1. GİRİŞ

1.1. Tarihçe

Robert Koch 1878 yılında Stafilocokların ilk defa görüntülemesini gerçekleştiren araştırmacıdır. 1880'de Pasteur bu etkenleri sıvı besiyerinde üretmiştir. 1881 yılında stafilocoklara ait patojen kültürler İskoçya'lı cerrah ve bakteriyolog Alexander Ogston tarafından gözlemlenmiş ve üredikten sonra birbirinden ayrılmayan üzüm salkımı şeklinde gözlemlenen yapıları *Staphylococcus* (*Staphyle*: üzüm salkımı) olarak adlandırmıştır (Doğan vd., 2018). 1884'te Rosenbach ilk olarak insandan stafilocokları izole etmiştir (Bannerman, 2003; Peacock vd., 2005). Ayrıca etkenlerin çeşitli renklerde olduğunu görmüş ve buna göre isimlendirmiştir. Daha sonraları Stafilocoklar üzerine yapılan çalışmalarda *S. aureus*'un genellikle enfeksiyon etkeni olduğu diğer patojen stafilocokların ise koagülaz negatif olduğu anlaşılmış. Stafilocokların patojenitesi tanımlanırken *S. aureus* ve Koagülaz Negatif Stafilocoklar (KNS) olarak ayrımı yapılmış. Ayrıca bu yönde bilimsel araştırmalar ilerlemiştir (Bulger&Sherris, 1968).

1970'li yıllara kadar Stafilocok cinsi bakterilerin koagülaz pozitif *S. aureus* ve koagülaz negatif *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus* olarak 3 tür bilinmekteydi (Götz vd., 2006). İleriki dönemlerde ise stafilocokların genetik ve kemotaksonomik özellikleri ele alındığında yeni türler tanımlanmıştır (Lamers vd.,2012). Yapılan çalışmalar sonucu *Staphylococcus* cinsi bakterilerin 47 tür ve 23 alt türden oluştuğu belirlenmiştir. Bu türler içerisinde 38'inin koagülaz negatif olduğu anlaşılmış ve son yapılan çalışmalar sonucunda *S. massiliensis*, *S. jettensis*, *S. petrasii* (*S. petrasii* subsp. *Petrasii* ve *S. petrasii* subsp. *Croceilyticus* dahil), *S. pseudolugdunensis* ve *S. pettenkoferi* türlerinde koagülaz negatif olduğu çalışmalar sonucu bildirilmiştir (Becker vd.,2014).



Şekil 1.1. Gram boyama, *Staphylococcus* (Maza vd., 1997)

1.2. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmanın amacı, farklı kaynaklardan *Staphylococcus* türlerinin tanımlanması, bu etkenlerin insan ve hayvan sağlığı açısından oluşturabileceği risk potansiyellerinin araştırılmasıdır. Böylece, farklı örneklerde *Staphylococcus* türlerinin dağılımı belirlenecek, bu türlerin hastalık yapma güçleri araştırılarak potansiyel risk konusunda öngörüler güncellenecektir. Alınacak tedbirler ve mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi açısından fayda sağlanacaktır. Bunun için öncelikle hasta hayvanlara ait farklı klinik örneklerin ve piyasada bulunan farklı gıda numunelerinin inceleme örneği olarak toplanması, Stafilokok türlerinin bu materyallerden klasik yöntemlerle izole ve identifiye edilmesi, daha sonra identifikasyon sonuçlarının güncel teknolojik yöntemlerle doğrulanması, bu izolatların biyofilm oluşturma yeteneklerinin kültürel yöntemlerle belirlenmesi ve sonuçta elde edilen tüm verilerin istatistiksel olarak analizi hedeflenmektedir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. STAFİLOKOKLARIN GENOM YAPISI ve ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞI

2.1.1. Stafilocokların Genom Yapısı

Tek kromozomlu yapıdadır. Bu nükleik asit ve ekstra genetik unsurlarla (plazmid, profaj, transpozonlar) yaklaşık 2000-3000 kilo baz çifti (kbp) büyüklükte genetik materyale sahiptirler. DNA'larında C+G bazları içeriği %30-39 mol'dür (Peacock vd., 2005). *S. aureus* genomunda C+G oranı yaklaşık %32 moldür. Genetik materyalin 2800 kbp büyüklükte ve yaklaşık 2500 geni kodladığı düşünülmektedir. Kıyaslama açısından *S. epidermidis* ise 2500 kbp büyüklükte bir genoma sahip olduğu bildirilmektedir (Gümüüşü, 2019).

2.1.2. Stafilocokların Antibiyotik Duyarlılığı

Stafilocokların virülens ve antibiyotik direnç genleri, profaj, plazmidler ve transpozonlar gibi ekstrakromozomal genetik unsurlarda bulunabildiği gibi kromozomlar üzerinde de yer alabilir. Bu bilgi başka bakterilere de transfer edilebilir (Lowy, 1998).

Staphylococcus türlerinin büyük bölümü beta laktamaz enzimi salgılayarak beta laktam halkası içeren antibiyotiklere direnç göstermektedir. Eskiden günümüze bu etkenlerdeki penisilin dirençli suşlar, oransal olarak 2 katından fazla artmıştır. Hali hazırda stafilocokların tümü penisiline dirençlidir. Bakterilerdeki bu durumu engellemek için anti- stafilocokal penisilinler (metisilin, oksasilin) geliştirilmiştir. Ancak 1970'li yıllardan itibaren bu antibiyotiklerden metisiline karşı direnç oluşumu başlamıştır. Metisilin direnci *S. aureus*'da ve koagülaz negatif Stafilocoklarda görülür (Demirtürk&Demirdal, 2004).

Hayvanlardaki metisilin dirençli *S. aureus* suşları, 1975 yılından itibaren bildirilmektedir. Stafilocoklarda metisilin direnci fenotipik olarak antibiyotik duyarlılık testleriyle ölçülebilir. Genellikle metisilin yerine hassas ve daha dayanıklı oldukları için oksasilin veya sefoksitin antibiyotikleri yaygın olarak tercih edilmektedir (Göçmen vd., 2018).

2.1.3. Biyofilm ve Antibiyotik Duyarlılığı

Biyofilm oluşumu yüzeye tutunma, geri dönüşümsüz bağlanma, kolonizasyon

ile mikrokoloni oluşumu ve kopma evreleri olmak üzere dört basamakta gerçekleşmektedir (Temel&Eraç, 2018).

Biyofilm oluşumunda bazı yüzey proteinlerinin önemli etkisi bulunmaktadır. *S. aureus* suşlarından izole edilerek bildirilen “biofilm associated protein”(bap), bakterilerde yüksek biyofilm oluşumu sağlayan ve enfeksiyonda öncü rol aldığı bildirilen bir proteindir. Yapılan çalışmalarda abiyotik yüzeylere tutunmada ve intersellüler adezyon basamaklarının herbirinde de yer aldığı yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Bap geni bulunduran *S. aureus* suşlarının bulundurmayan türlere göre çok daha iyi biyofilm oluşturduğu belirtilmektedir (Yüksekdağ&Baltacı, 2013).

Stafilokokların biyofilm oluşturma yeteneği stafilokokal mastitisin patogenezinde önemli bir virülans özelliği olarak kabul edilmiştir. Çünkü biyofilm, stafilokokların meme bezi epiteline yapışmasına ve kolonize olmasına yardımcı olur. Biyofilm ayrıca bakteri hücrelerini bakteriyi konak içinde çevreleyerek fagositozdan ve yüksek konsantrasyonlarda antimikrobiallardan korur (Tel vd., 2012).

Bakterilerin canlılıklarını sürdürebilmek ve enfeksiyon oluşturma kabiliyetlerini yitirmemeleri için canlı yüzeylerde veya doğal koşullarda diğer bakterilerle birlikte çevreden gelen uyarıları algılayarak yanıt geliştirebilmesi gerekmektedir. Çevresel faktörlerin değişimi ile bakterinin yeni çevreye adapte olması gerekir. Bakteri hücresinin etrafındaki popülasyon yoğunluğunu saptamasına yarayan bakteriler arası iletişim, (Quorum sensing) QS sistemi, bu adaptasyon ve düzenlemelerde önemli rol oynayan bir sistemdir. QS sistemi yardımıyla, bakteri besin kaynaklarına uyum sağlar, rekabet edebilir ve enfeksiyon sırasında çeşitli virülans faktörlerinin regülasyonunu düzenleyerek konak immün yanıtından kaçabilir (Temel&Eraç, 2018).

2.2. STAFİLOKOKLARIN VİRULENS ÖZELLİKLERİ

Çizelge 2.1. Stafilokokların virulans faktörleri (Atl,2007).

<i>Hücrel Bileşenler</i>	<i>Hücre Dışı Ürünler</i>	
	<i>Toksinler</i>	<i>Enzimler</i>
1 - Kapsül	1 - Alfa toksin	1 - Koagülaz
2 - Protein A	2 - Beta toksin	2 - Stafilokinaz
3 - Elastin bağlayıcı protein	3 - Gama toksin	3 - Nükleaz - DNaz
4 - Kollajen bağlayıcı protein	4 - Delta toksin	4 - Hiyalüronidaz
5 - Fibronektin bağlayıcı protein	5 - Lökosidin (PV)	5 - Lipaz
6 - Kümeleştirici faktör	6 - Enterotoksinler	6 - β -Laktamaz
7 - Peptidoglikan	7 - Toksik şok sendromu toksini-1 (TSST-1)	7 - Proteaz (I, II, III)
8 - Teikoik asit	8 - Eksfoliatif toksin	8 - Fosfataz
9 - Lipoteikoik asit		9 - Lizozim
10 - Slime tabakası		10 - Laktat dehidrogenaz
		11 - Katalaz
		12 - Asit fosfataz

2.2.1. Hücre Yapıları

Stafilokok cinsi mikroorganizmaların tamamında bulunmayan fakat önemli virulens etki sağlayan bazı virulens faktörleri (peptidoglikan, teikoikasit, kapsül, protein A) bakteriyi konakçının immun sisteminden kaçıır. Stafilokok cinsi içerisinde *S. aureus* türü, virulansı en yüksek olan bakteridir (Kutlu, 2006).

2.2.2. Kapsül

S. aureus etkenlerinde, dördü biyokimyasal olarak tanımlanmış toplam 11 farklı kapsül çeşidi mevcuttur. Bunların tamamı polisakkarit yapıdadır. *S. aureus* suşlarının çoğunu Serotip 5 ve Serotip 8 oluşturur. Toksin üreten suşlarda genellikle tip 8 kapsül bulunur (Dassy, 1993; Koneman, 2006, O’Riordan, 2004).

2.2.3. Protein A (Spa)

Spa, *S. aureus*’ların çok büyük bir bölümünde bulunur. Bu protein bir hücre duvarı proteindir. (Kronvall vd., 1972; Sutra vd., 1994). Spa, konak hücrede bulunabilen immunglobulin G’ye kristalize olabilen fragment (Fc) kısmından bağlanabilir (Forsgren vd., 1983). Spa ayrıca fagozitozu durdurabilir. Ortamda bulunan antikorların ve komplement ile birlikte antifagositik etki oluşturmaktadır. (Dossett vd., 1969; Peterson vd., 1977).

2.2.4. Peptidoglikan Tabakası

Peptidoglikan tabakası Gram pozitif bakteriler için Gram negatiflere göre daha kalındır. Gram (+) bakterilerde hücre duvarı yapısının yarısını oluşturmaktadır. Peptidoglikan tabakası N-asetilmuramik asit ve N-asetilglukozaminden

oluşur. Peptidoglikan yapı, komplement aktivasyonu, endojen pirojenlerin üretimi, monositlerden interlökin-1 üretimini sağlar ve endotoksik etkiyle lökositleri uyarak toplanmalarını sağlayan işleve sahiptir (Muray vd., 2005).

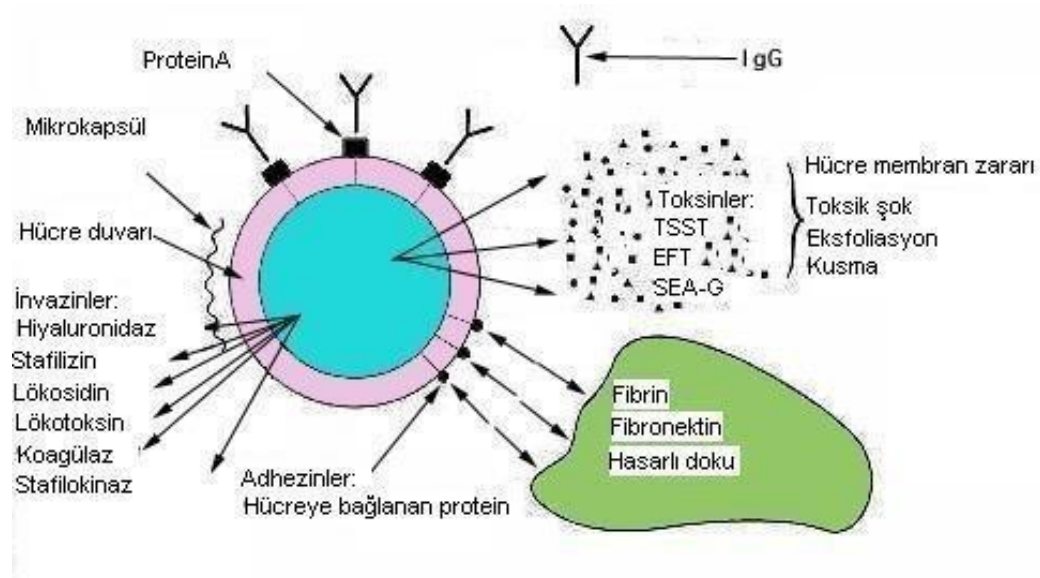
2.2.5. Teikoik asit

Bu kimyasal, hücre duvarının %30-50 sini oluşturur. Teikoik asit ile fibronektin etkileşime geçerek birbirlerine spesifik bağlanabilirler. Böylece bakterilerin mukozal yüzeylere tutunmasını sağlayıcı bir görevi vardır. Bu yapı yalnız başına immun sistemi uyarmaz. Ancak peptidoglikana bağlanırsa antijenik özellik kazanır. Oluşacak immun yanıt, hastalıkların serolojik tanısında kullanılmaktadır (Muray vd., 2005).

2.2.6. Yüzey Proteinleri

S. aureus'un koloni haline gelmesini ve konakçı hücrelerin yüzeyine tutunmasını adhesinler sağlar. *S. aureus* etkenlerindeki adhesinlerin çoğu SpA' ları içerir. Bu protein bazı immunglobulinlerin Fc reseptörleri ile birleşebilmektedir (Koneman, 2006).

SpA dışında kalan diğer yüzey proteinleri; FnbpA ve FnbpB (Bu proteinler fibronectin bağlayıcı proteinler A ve B olarak da isimlenir), elastin ve kollojen bağlayıcı proteinler ve aglutine edici faktör A ve B proteinleridir. Kimyasal olarak benzer olan bu proteinler dokularda kolonizasyonu sağlar (Sareyyüpoğlu vd., 2013).



Şekil 2.4. Stafilokok hücre yapısı (https://textbookofbacteriology.net/staph_2.html)

2.2.7. Enzimler

Stafilokoklar virulens faktörleri içerisinde yer alacak çeşitli enzimler üretirler bu enzimler; Katalaz, koagülaz, DNaz lipaz, hiyalüronidaz, fibrinolizin ve penisilinaz olarak sıralanır. Stafilokoklar salgıladıkları bu enzimlerle komşu dokulara yayılım göstererek enfeksiyonun patogeneğinde önemli rol alırlar (Tünger vd., 2004).

2.2.7.1. Katalaz

Katalaz, hidrojen peroksiti su ve oksijene parçalayan bir enzimdir. Aerobik veya fakültatif anaerobik çok sayıda mikroorganizma katalaz enzimi üretir. (Keskin&Koluman, 2021).

2.2.7.2. Koagülaz



Şekil 2.5. Tüpte koagülaz deneyi. A: Koagülaz (+), B: koagülaz (-) (Atlı, 2007).

Koagülaz enzimi kandaki fibrinojeni fibrine dönüştürerek koagülasyona sebep olmaktadır. *S. aureus* suşlarının hepsi koagülaz üretmese de patojen suşlarının Koagülaz pozitif olduğu bilinmektedir. *S. aureus* dışında diğer başka stafilokokların serbest ya da bağlı koagülaz ürettikleri belirlenmiştir. Bu sebeple clumping faktör testinin hem lamda hem de tüpte beraber yapılması önerilmektedir. Mikroorganizmalarda koagülaz üretimi ile enterotoksin üretimi arasında güçlü bir ilişkinin varlığı sözkonusu olabilir (Özpinar, 2011).

2.2.7.3. DNaz

Genellikle koagülaz pozitif stafilokoklar tarafından salgılanan ve DNA'yı hidrolize eden bir enzimdir (Özpinar, 2011).

2.2.7.4. Lipaz (*S. aureus* ve koagülaz negatif Stafilokoklardan bazıları)

Bu enzim vücutta, deri ve derialtı bölgelerde stafilokokların yayılımını kolaylaştırır. Bu etkisini yüzeyde biriken yağlı maddeleri ayırarak gerçekleştirir. Lipaz enzimi hem Koagülaz negatif Stafilokoklar hem de *S. aureus* suşları tarafından sentezlenebilir (Özpınar, 2011).

2.2.7.5. Hyalüronidaz

Stahylococcus aureus suşları tarafından % 90 oranında sentezlenen ve ‘‘Yayılma Faktörü’’ olarak isimlendirilen bir enzimdir. Antijenik özelliktedir ve stafilokokların doku invazyonlarını kolaylaştırır (Özpınar, 2011).

2.2.7.6. Stafilokinaz (Fibrinolizin)

Stafilokinazların bir diğeri fibrinolizindir. Plazmadaki plazminojeni plazmin haline dönüştürürler. Plazmin, fibrinolitik etkiye sahiptir. Fibrinin parçalanmasıyla invazyon kolaylaşır. Enzim bir bakteriyofaj genomu tarafından sentezlenir (Özpınar, 2011).

2.2.7.7. Beta laktamaz (β -laktamaz, Penisilinaz)

Bu enzim sayesinde stafilokoklar, beta laktam grubu antibiyotiklerdeki beta-laktam halkasını parçalarlar ve dirençli bir duruma geçerler. Bir plazmid ve transpozon ile aktarılabilir bir unsurdur. Bu enzimi salgılayan mikroorganizmalar, penisilin, sefalosporin gibi betalaktam halkasına sahip çeşitli antibiyotiklerin (hücre duvarı sentezini inhibe ederek etkilerini gösteren) etkisine karşı dirençli hale gelirler (Özpınar, 2011).

2.2.7.8. TNAz (Termonükleaz)

Stafilokokal nükleaz olarak bilinir. Termonükleaz enzimi ısıya karşı direçlidir. Fosfodiesteraz yapısı, nükleolitik etki sağlar. DNA ve RNA’yı parçalayabilir (Büyüktarakçı, 2016).

2.3. MORFOLOJİK ve KİMYASAL ÖZELLİKLERİ

2.3.1. Görünüm ve Boyama

Bu etkenler 0,5-1,5 μ m çapa sahip yuvarlak şekilli Gram pozitif, çoğunlukla kümeler şeklinde ve hareketsiz bakterilerdir. Bazı zorunlu anaerob türler dışında (*S. saccharolyticus* ve *S. aureus* subsp. *Anaerobius*) etken türleri genellikle fakültatif anaerob olup çoğunlukla aerob üremeyi tercih ederler. *S. saccharolyticus* ve *S.*

aureus subsp. Anaerobius türleri dışında katalaz pozitiflerdir. *S. sciuri*, *S. vitulinus* ve *S. lentus* türleri hariç oksidaz negatif ve kapsülsüz bakterilerdir. Micrococculara benzerler. Bunlar arasındaki ayrımı ise; anaerobik üremesi ve obligat aerobik (zorunlu) mikrokoklardan farklı olarak fermentasyon ve solunum metabolizmasına sahip olmaları sebebiyle ayrılmaktadırlar (Bannerman, 2003).

2.3.2. Üreme ve Kültür Özellikleri

Nutrient agar, triptik soy agar ve kanlı agar gibi çeşitli besiyerlerinde ürerler. Stafilocok türleri genellikle 30-37 °C aralığında 18-24 saat içinde 1-3 mm çapında koloni oluştururlar. Stafilocokların çoğunluğunun ideal üreme sıcaklığı 37 °C' dir. Ve 10-48 °C sıcaklık aralığında toksin oluşturabilirler (Koneman, 2006).

Bireysel morfolojide hücreler tek ya da çiftler halinde tespit edilebilir. Enfekte olmuş çeşitli dokulardan, irin oluşturan yaralardan, enfekte vücut sıvılarından veya sıvı besiyerlerinden yapılan boyamalarda morfolojik özellikleri üçlü-dörtlü kısa zincirli koklar olarak değişebilmektedir. Bu özellikleri sebebiyle streptokoklara kısmi olarak benzemektedir. Stafilocokların katalaz pozitif olmasıyla ayrımları yapılabilmektedir (Peacock vd., 2005; Koneman, 2006).

Çizelge 2.2. *S. aureus*'un üremesi için sınır değerler (Bremer vd, 2004).

Min. °C	Max. °C	Max. % tuz	Oksijen ihtiyacı	Min. pH	Max. pH
7-8	45-47	7-10	Fakültatif anaerob	4,0	9,8

2.3.3. Biyokimyasal Özellikleri

Stafilocoklar koagülaz üretimlerine göre sınıflandırılabilir. *S. aureus*, *S. lugdunensis*, *S. schleiferi*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. lutrae*, *S. delphini* koagülaz üretirler. Ayrıca stafilocokların glikoz fermentasyonu sonucunda laktik asit oluştururlar (Cengiz, 1999; Moreillon vd., 2005).

Stafilocoklara uygulanan çeşitli testler vardır: Bunlar içinde koagülaz enzimini tespit eden testler (clumping factor) başta yer alır. Stafilocoklar birçok olumsuz çevresel etkene uzun süre dayanabilen mikroorganizmalardır. Alkol ve iyot gibi antiseptiklere, amonyum klorür bileşikler içeren dezenfektanlara karşı duyarlıdırlar (Koneman, 2006).

Çizelge 2.3. *S. aureus*'un bazı kimyasal özellikleri (Cengiz vd., 2004).

Özellik	<i>S. aureus</i>
Aerob üreme	+
Anaerob üreme	+
Hemoliz	+
Koagülaz	+
DNA'se (Endonükleaz)	+
Novobiocin duyarlılığı	+
Bacitracin duyarlılığı	-
Trehaloz- Mannitol Fosfatas Agarda renk değişikliği	+
Asetoin	+
Mannitol (Aerobik-anaerobik ortamda asit oluşturma)	+
Maltoz	+
Trehaloz	+
laktoz	+
Cellobiose	-
Ksiloz	-
Glukoz	+
Hücre duvarı	
a) Ribitol	+
b) Gliserol	-
c) Protein-A	+
Alpha toxin	+

2.3.4. Genetik Yapı

Genetik yapı yaklaşık olarak 2000-3000 kbp bir kromozom ile transpozon, profajlar, plazmidlerden oluşmaktadır. Genel stafilokok hücrelerine ait DNA düşük oranda sitozin ve guanin nükleotidlerinden oluşmaktadır. C+G içeriği birlikte %30-39 mol aralığındadır (Tünger vd., 2004; Peacock vd., 2005). Stafilokoklara kıyasla *Micrococcus* cinsi mikroorganizmalara ait türlerde %68-74 mol arasında C+G içeriği mevcuttur (Baba vd., 2002).

2.4. GENEL BİLGİLER

Taksonomik olarak Stafilokoklar, *Staphylococcaceae* ailesi *Bacillales* takımı *Bacilli* sınıfı altındadır (Yüksekdağ&Baltacı, 2013). Çevrede yaygın olarak bulunurlar. Stafilokokların hücre yapısı Gram pozitif ve mikroskopik morfolojisinde ise bir ya da iki bakteriden oluşan, kısa zincir olabilen veya dördümlü görünümde yuvarlak şekilli, düzensiz üzüm salkımına benzer şekillerde görülebilirler. Katalaz testinde pozitif sonuç veririrken, oksidaz testinde ise genellikle oksidaz negatiftirler. Bireysel morfolojisi incelenirken sporsuz, hareketsiz ve genellikle kapsülsüz mikroorganizmalardır. Stafilokok cinsine ait olan çoğu tür mikroorganizma fakültatif anaerobdur (Bastos vd., 2009; Heo vd., 2020).

Stafilokoklar iki ana gruba ayrılmaktadır. Bu iki ana grup koagülaz pozitif ve koagülaz negatif Stafilokoklar olarak sıralanır. Enzim benzeri koagülaz üretimi genellikle patojenite ile ilişkilendirilmektedir. Ve dokudaki fibrini pıhtılaştırarak pıhtı oluşumuna neden olur (Bastos vd., 2009; Heo vd., 2020). Bazı fırsatçı patojen KNS dışındaki KNS'lar genellikle zararsız olup hastalık oluşturmazlar. Koagülaz pozitif Stafilokoklar (*S. aureus*) virulensi en yüksek olan patojendir (Heo vd., 2020).

2.5. BİYOFİLM

2.5.1. Biyofilmin Tarihçesi

Biyofilmi ilk olarak Antony Van Leeuwenhoek adlı araştırmacı 17. yy da kendi dişine ait plaktan aldığı sürüntüyü mikroskopta incelemiş ve mikroorganizmaların tek tek değil kümeler halinde olduğunu gözlemlemiş fakat biyofilm olduğunu tanımlayamamıştır. Mikroorganizmaları yuvarlak, çubuk ve spiral görünümünde şekil alabilen ve hareket edebilen canlılar olduğunu görüntülemiştir (Kartal vd., 2021).

Biyofilmler hakkında ilk bilimsel yayını Zobell 1943 yılında yapmış ve daha

sonra (Habash vd., 1999) Costerton 1970'li yıllarda dağlardan gelen akarsulardan elde ettiği bakterilerin %99.99 unda yapışkan balçık benzeri bir yapının varlığını keşfetmiş 1978 yılında oluşturduğu bir makalede de biyofilm tanımını ilk olarak kendisi yapmıştır (Ünal, 2011).

2.5.2. Biyofilmin Tanımı ve Önemi

Biyofilm canlı ya da cansız yüzeylere bağlanan ve çoğalan mikroorganizmaların oluşturdukları ekstraselüler polissakkarit yapıda matriks yapının içinde bulunan planktonik hücrelere göre daha farklı bir fenotipik yapı gösteren hücre topluluğudur (Özgen, 2021).

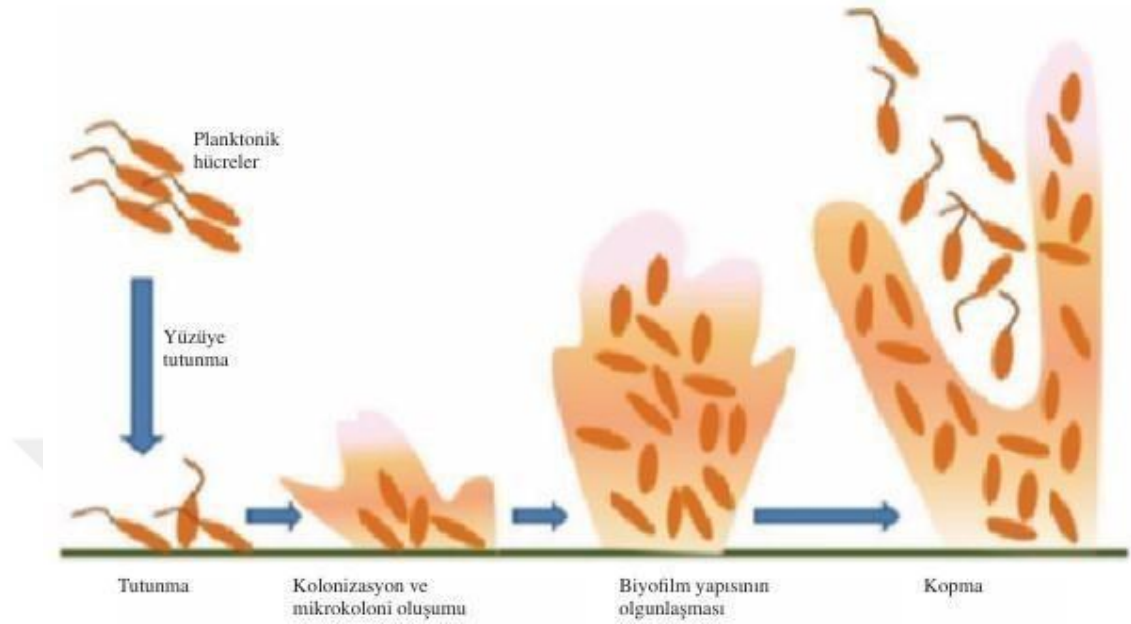
Bakteriler canlı veya cansız bir yüzeye yapışarak buralarda kolonize olabilirler. Koloniler karışık türler de içerebilir. İşte oluşturulan biyofilm bakterilerin kolonizasyonunu destekler, çok sayıdaki olumsuzluklardan korur. Bu sebeple virülens faktörü olarak kabul edilebilir. Biyofilm yapısında kompleks moleküller bütünü (protein, polisakkaritler, ekstraselüler DNA, su ve iyonlar) yer alır (Temel&Eraç, 2018).

Endüstriyel yapılara ait sularda ve su sistemlerinde biyofilm içeriği kolonilerin çok sayıda dezenfektana (klor dahil) karşı çok dirençli oldukları belirtilmiştir (Şahin, 2007).

2.5.3. Biyofilmin Oluşma Mekanizması

Biyofilmlerin oluşum mekanizmaları 4 ayrı basamaktan oluşmaktadır.1) Mikroorganizmanın yüzeye tutunması ile başlar. İlk tutunma reversibldir ve ilk tutunma yüzey özellikleri tutunmada etkilidir. Hücreler bu fazda iken durulama gibi basit bir yıkama işleminden bile kolayca uzaklaşabilirler. 2) Geri dönüşümsüz tutunma; ilk tutunmadan dakikalar sonra başlar ve Quorum sensing görülmeye başlar. Ve hücreler arasında kimyasal sinyaller oluşur. Ekstraselüler polissakkarit matriks oluşumu kimyasal sinyallerin belirli bir düzeye oluşması ile başlar. Ve bu tutunmanın giderilebilmesi için oluşan yüzeyin fırçalanması hatta kazınması gerekir. 3) Kolonizasyon; Mikroorganizmaların çoğalması ile en küçük organizasyon birimi olan mikrokoloniler oluşurlar. Ardından mikrokoloniler büyüyerek kompleks yapıda mantar ya da kule görünümüne dönüşürler. 4) Kopma; Biyofilm oluştuktan sonra üst tabakadan kopmalar meydana gelebilir ardından yeni odaklarda biyofilm oluşumu gözlenebilir. Biyofilm tabakası bakterileri dezenfektanlardan, toksinlerden, antibiyotiklerden, besin eksikliğinden, ph dalgalanmalarından, UV etkisinden korur.

Ayrıca biyofilmler fagosit ve kompleman sisteminin aktivasyonunu bozarak bakterileri konağın bağışıklık sistemine karşı korur (Özgen, 2021).



Şekil 2.6. Biyofilmin Oluşum Aşamaları (Temel&Eraç, 2018).

2.5.4. Biyofilm Oluşumunun Klinik Önemi

Biyofilmler; cam, metal, plastik, toprak partikülleri, ahşap yüzey, tıbbi implantlar, doku ve gıda ürünleri gibi her türlü canlı veya cansız yüzeyde oluşabilmektedir. (Kokare vd., 2009). Biyofilm yapı içinde yer alan patojen bakteriler antibiyotik etkisine ve doğuştan gelen immün yanıtı karşı dirençlidirler. Biyofilm içerisinde bulunan bakterilerin planktonik formlarına göre antibiyotiklere direnci 100-10000 kat daha dirençli olmaktadır (Yüksekdağ& Baltacı, 2013). Biyofilmin konak canlıda antimikrobiyel direnci arttırdığı gibi iltihabi reaksiyonları da tetikleyerek kalıcı inflamasyonlara da neden olabilmektedir. Biyofilm oluşumu tüm mikrobiyel hastalıkların %60'ından daha fazlasından sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (Aydemir, 2018).

2.5.5. Biyofilmlerle İlgili Enfeksiyonlar

Tüm bakteriyel hastalıkların %65'inin ve kronik hastalıkların ise %80'inin bakteriyel biyofilme bağlı olarak oluştuğu tahmin edilmektedir (Jamal vd., 2018). Biyofilm oluşumunun osteomyelit, doğal kapak endokarditi, orta kulak enfeksiyonları, dental taşıyıcılık, tıbbi implant enfeksiyonları, kronik bakteriyel prostatit, kistik fibrozisli kronik akciğer hastalıklarında önemli olduğu belirtilmiştir (Şahin, 2007).

2.5.6. Biyofilmin Antibiyotiklere Karşı Direnci

Stafilokokların sahip oldukları ekzotoksinler ve yüzey proteinlerine ek olarak biyofilm üretiminde önemli bir virülens faktörü olduğu bildirilmektedir (Tel&Keskin, 2011). Mikroorganizmaların yüzeylere adhere olmaları (tutunmaları) enfeksiyonların oluşumuna katkıda bulunan önemli bir virülens özelliğidir. Bu tutunmada etkili olan çok çeşitli proteinler yer almaktadır. Biyofilm oluşturan suşların oluşturmaya göre daha çok antibiyotik dirençliliğine sahip olduğu ve daha virulent olduğu bildirilmiştir (Arciola vd., 2001). Biyofilm içerisindeki bakteriler bazı antibakteriyel ajanlara dirençlilik gösterirken, biyofilmden ayrıldığında bu direnci de kaybettiği görülmüştür (Fux vd., 2005).

2.5.7. Biyofilm Oluşumunun Gıda Endüstrisindeki Önemi

Biyofilmler gıdanın kontaminasyonu durumunda mikroorganizmalar tarafından üretilir (Öksüztepe&Demir, 2019). Gıda işletmelerinde sanitasyon aşamalarında görülen eksiklikler herhangi bir yüzeyde biyofilmlerin oluşmasına neden olmaktadır. Ve biyofilm oluşumunu engellemenin zorlaştığı durumlarda bakterilerin biyofilm yapısı içerisinde genetik değişimlere uğrayabileceği olasılığına karşın HACCP kriterlerinin çok iyi belirlenmesi gerekir (Gün&Ekinci, 2009).

Bakteriler, biyofilm oluşturarak bir yüzeye yapışıp organizasyon sağlayarak kolonize olurlar. Biyofilm içinde ürettikleri ekstrasellüler polimerik maddeler içinde yaşamlarını sürdürebilirler (Özpınar, 2011).

2.6. STAFİLOKOK ENFEKSİYONLARI

Stafilokoklar 1881 yılında enfeksiyon etkeni olarak tanımlandıktan sonra insan ve hayvanlarda oluşturdukları çeşitli hastalıklara ait patojen etkenin varlığı olarak ilk sıralarda yer almışlardır. İlerleyen zaman içerisinde penisiline karşı direnç oluşturan stafilokoklar oluşmuştur. Bu durum beşeri hekimlikte penisilin yerine metisilin kullanılmasına sebep teşkil etmiş ve kısa bir süre sonrada metisiline dirençli stafilokoklar oluşmuştur. Oluşan bu mikroorganizma (*S. aureus*)'lar tüm dünyada nozokomial patojen olarak en önemli sağlık sorunu haline gelmişlerdir (Kireççi, 2009).

Canlıların normal deri ve mukoza floralarında stafilokoklar kommensal olarak bulunabilir. Bu yüzden gıda kontaminasyonlarında insan müdahalesi akla ilk gelen

sebepe olmuştur. Çok sayıda gıda ürününün yanında özellikle hazır yiyecekler, çiğ et ve et ürünleri, çiğ süt ve süt ürünleri *S. aureus* enterotoksinleri açısından riskli gıdalardır (Muratoğlu&Çolak, 2015).

Stafilokoklar fırsatçı patojenler olarak florada bulunur. Genel olarak lokal irinli enfeksiyonların yanında hayvanlarda mastit, kuzu piyemisi, atlarda botriyomikoz enfeksiyonlara neden olurlar (Uçan, 2014).

2.6.1. Hayvanlarda Stafilokok Enfeksiyonları

2.6.1.1. Mastit

Mastit meme yangısı olarak tanımlanır. Hastalık sütçü hayvanların süt kalitesini bozar, süt verimini düşürür. Dünyada önemli ekonomik kayıplara yol açan en önemli hastalıklar arasındadır. Hastalık etiolojisinde farklı türlerde çok sayıda bakteri baskın rol oynayabilir. *S. aureus* bu konuda etkin rol oynarken, KNS'da hastalık oluşumlarından zaman zaman sorumlu olmuştur (Şeker&Özenç, 2010). KNS lar subklinik mastitis olgularından ikinci derecede mastitten sorumlu patojen olarak değerlendirilsede akut mastitisten sorumlu olduğu da bildirilmektedir (Keskin vd., 2003)

2.6.1.2. Kuzu Piyemisi

Kene piyemisi olarakta isimlendirilen bu hastalık kuzularda görülmektedir. *Ixodes ricinus* kenelerinin rolü de bulunan hastalığın primer etkeni *S. aureus*'tur. Kenelerin vücuda enfestasyonu sonucu oluşan yaralardan vücuda giren *S. aureus*'un hastalığa yol açması sonucu oluşur. *Ehrlichia phagocytophila* etkeni de kuzularda oluşturduğu immunsupresyonla hastalığın oluşmasında önemli rol oynar. Hastalık özellikle ilkbahar- yaz aylarında kenelerin yoğun olduğu dönemlerde ve 2-10 haftalık kuzularda daha fazla ortaya çıkar (Günday, 2017).

2.6.1.3. Eksudatif Epidermitis

Hastalık domuzlarda görülmekte olup hastalığın etkeni *S. hyicus*'tur (Göçmen vd., 2018).

2.6.1.4. Botriyomikoz

Hastalığın etkeni *S. aureus*'tur (Göçmen vd., 2018). Genellikle atlarda bir yara enfeksiyonu şeklinde ortaya çıkan botriyomikoz hastalığı, sığır ve domuzlarda

da görülebilir. Kronik seyreden, irinli ve granülatöz bir yara enfeksiyonudur. *S. aureus* genellikle etiyolojik ajan olarak kabul edilir (Quinn vd., 2011).

2.6.1.5. Köpek ve Kedilerde Stafilokokal Enfeksiyonlar

S. pseudointermedius, *S. epidermidis* ve *S. felis* genellikle köpek ve kedilerde kulak enfeksiyonları, konjunktivit, deri yangıları ve yara enfeksiyonları gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olabilirler (Quinn vd., 2011).

Stafilokoklar kedilerde deri enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları, kulak enfeksiyonu, mide ve göz enfeksiyonları, kemik doku, yumuşak doku ve yara enfeksiyonları ile kalp enfeksiyonlarına neden olabilirler (Quinn vd., 2011).

S. aureus köpeklerde çeşitli enfeksiyonlara neden olmaktadır. Bunlardan başlıcaları, kulak enfeksiyonları, deri ve kemik enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, bakteriyemi ve ameliyat sonrası enfeksiyonlarıdır (Quinn vd., 2011).

S. pseudointermedius köpeklerde idrar yolu enfeksiyonları, yüzeysel ve derin deri enfeksiyonları, kulak ve idrar yolu enfeksiyonları, yara enfeksiyonları ve ameliyat bölgesi enfeksiyonlarına en sık olarak, aynı zamanda göz enfeksiyonları, bronkopneumoni, kemik enfeksiyonları ve vücuttaki diğer enfeksiyonlara yol açtığı bildirilmektedir (Quinn vd., 2011).

Çizelge 2.4. Hayvanlardan izole edilen koagülaz negatif Stafilokoklar (Quinn vd., 2011)

TÜR	KONAK/İZOLE EDİLEN BÖLGE
<i>S. arlettae</i>	Keçilerde Burun - Kümes Hayvanlarında deri enfeksiyonlarından
<i>S. capitis</i>	Sığırlarda / memeden
<i>S. chromogenes</i>	Sığırlarda meme-Kümes Hayvanları ve domuzlarda deri enfeksiyonlarından
<i>S. caprae</i>	Keçilerde deri enfeksiyonlarından
<i>S. cohnii</i>	Sığırlarda / memeden
<i>S. epidermidis</i>	Sığırlarda / memeden
<i>S. equorum</i>	Atlarda Deriden
<i>S. felis</i>	Kedilerden Otitis eksterna, Deri den
<i>S. gallinarum</i>	Kümes Hayvanlarından Deriden
<i>S. haemolyticus</i>	Sığırlarda / memeden
<i>S. hominis</i>	Sığırlarda / memeden
<i>S. lentus</i>	Koyun, Keçi ve Domuzlarda Deriden
<i>S. nepalensis S. saprophyticus</i>	Keçilerde Solunum kanalından
	Kedilerde Deri – Sığırlarda Burundan
<i>S. sciuri</i>	Kedi ve diğer hayvanlarda Deriden
<i>S. simiae</i>	Maymunlarda Gastrointestinal kanaldan
<i>S. simulans</i>	Sığırlarda meme - Kedi, Köpek ve Domuzlarda Deriden
<i>S. vitulinus</i>	Sığır, Koyun, Domuz larda Deriden
<i>S. warneri</i>	Sığırlarda / memeden
<i>S. xylosus</i>	Sığır ve Koyun larda memeden - Kedi, Kümes hayvanları, Domuz, At/Deriden

Çizelge 2.5. Koagülaz pozitif stafilokoklar ve klinik önemleri (Quinn vd., 2011)

TÜRLER KONAKLAR		HASTALIKLAR / İZOLE EDİLEN YERLER
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sığır	Mastit, impetigo
	Koyun	Mastit, benign folikülitis, dermatit, kene piyemisi,
	Keçi	Dermatit, mastit
	Domuz	Meme bezlerinde botriyomikoz, Meme bezlerinde impetigo
	At	Mastit
	Kedi, Köpek	Endometrit, piyoderma, sistit, otitis eksterna ve diğer irinli lezyonlar
	Kümes hayvanları	Septisemi, artrit, omfalit
<i>S. pseudintermedius</i>	Köpek	Endometrit, piyoderma, sistit, otitis eksterna ve diğer irinli lezyonlar
	Kedi	Çeşitli pyojenik durumlar
	At	Nadir
	İnek	Nadir
<i>S. hyicus</i>	Domuz	Artrit, eksudatif epidermit
	Sığır	Mastit
<i>S. intermedius</i>	At	Burun
	Güvercin	Üst solunum yolları
	Köpek, Kedi	Otitis eksterna,

		sistit,piyoderma
<i>S. aureus</i> subsp. Anaerobius	Koyun	Lenfadenit
<i>S. delphini</i>	Yunus	İrinli deri lezyonları
	At Burun	
	Güvercin	Üst solunum yolları
<i>S. lutrae</i>	Samur Patojenik önemi belirsiz	
<i>S. schleiferi</i> subsp. Coagulans	Köpek	Otitis eksterna

2.6.1.6. Kanatlılarda Stafilokok Enfeksiyonları

Kanatlılardaki enfeksiyonların en yaygın nedenlerinden biri olarak tanımlanan stafilokoklar kanatlıda akut ve kronik enfeksiyonlara neden olmaktadır. Ekseriyetle eklemlerde, tendo kılıflarında ve bursalarda bozukluklara neden olurlar. Bunun yanında endokarditlere ve yumurta sarı kesesi enfeksiyonlarına sebep olurlar. Ayrıca Kanatlı etlerinde bulunan stafilokoklar insanlarda gıda kaynaklı enfeksiyonlara da sebep olmaktadır (Altay vd.,2003).

2.6.2. İnsanlarda Stafilokok Enfeksiyonları ve Stafilokokal Enterotoksin

Stafilokoklar insanlarda çeşitli klinik semptomlarla beliren enfeksiyonlar oluştururlar. Stafilokokların toksinlerinden oluşanların dışında, deri, yumuşak doku, derin doku, çeşitli organ enfeksiyonları, sepsis ve endokardit gibi ciddi enfeksiyonlar görülebilir (Aygen vd., 1997).

Stafilokoklara bağlı sepsislerde özellikle Gram pozitiflerde son yıllarda yapılan araştırmalara göre ciddi artışlar olduğu görülmüştür. Amerika Birleşik Devletlerinin hastalıklardan korunma ve önleme merkezi (CDC), 1986-1989 yılları arasında Gram pozitif bakterilerin nozokomiyal bakteriyemilerin %55'inden sorumlu olduğunu ve Koagülaz negatif Stafilokokların da bu oranın %27'sinden sorumlu olduğunu bildirmiştir (Aygen vd., 1997).

Stafilokoklara bağlı enfeksiyonlarda son yıllarda görülen en büyük sorun, giderek artan ve tedaviyi zorlaştıran metisilin direncidir (Aygen vd., 1997).

Başta *S. aureus* olmak üzere enterotoksijenik özelliğe sahip Stafilocoklar, gıdalarda oluşturdukları enterotoksinlerin sindirim yoluyla alınması sonucunda tüm ülkelerde yaygın olarak görülen önemli intoksikasyonlardan birine sebep olurlar. Enterotoksijenik stafilocoklar, başta proteince zengin hayvansal gıdalar olmak üzere değişik gıdalardan izole edilebilirler. Enterotoksijenik türler içerisinde *S. aureus* dışında *S. hyicus*, *S. intermedius* ve *S. epidermidis* de bulunmaktadır (Erol&İşeri, 2004).

Stafilocokal enterotoksinler hem gastrointestinal toksin hemde süperantijen görevlerini yaparlar. Stafilocokal enterotoksinler (SE) SEA, SEB, SEC, SED, SEE serotiplerinde oluşturulur (Erol&İşeri, 2004).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Bakteriyel izolasyon gereçleri

3.1.1.1. İnceleme Örnekleri

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı teşhis laboratuvarına 2023 yılı Haziran ayı ile 2024 yılı Temmuz ayı tarihleri arasında getirilen çeşitli klinik vakalara ait 30 adet örnek ve aynı tarihler arasında Şanlıurfa il sınırları içerisinde temin edilen 100 adet gıda numunesi etken izolasyonu için inceleme örneği olarak kullanıldı.

Çizelge 3.1. Kullanılan klinik vakalara ait örnekler ve sayısı

Klinik vakalara ait örnek	Sayısı
Köpek yara enfeksiyonu	4
Köpek göz enfeksiyonu	1
Kedi yara enfeksiyonu	4
Köpek kulak enfeksiyonu	3
Kedi kulak enfeksiyonu	2
Kedi göz enfeksiyonu	3
Sığır mastitis	12
Civciv gagası	1
Toplam	30

Çizelge 3.2. Kullanılan gıda materyalleri ve sayısı

Kullanılan Gıda Materyali	Örnek Sayısı
Adana kebab	3
Yaş pasta	12
Dondurulmuş yaş pasta	9
Şehriyeli pirinç pilavı	3
Eritme peynir	4
Peynir	12
Tavuk döner	13
Tereyağı	2
Salata	13
Çikolatalı yaş pasta	8
İçli köfte	2
Pirinç pilavı	14
Kebab	5
Toplam	100

3.1.1.2. Besiyerleri

3.1.1.2.1. Buffered pepton water (BPW)

Gıda numunelerinden Stafilokok etkenlerinin izolasyonu için kullanıldı. Bu amaçla ticari olarak temin edilen BPW besiyerinden (Merck, Almanya) 25.5gr tartılarak 1 lt distile suda eritildi. 121 °C sıcaklıkta 15 dakika otoklav ile steril edildikten sonra kullanım zamanına kadar 2-8 °C sıcaklıkta buzdolabında muhafaza edildi.

3.1.1.2.2. Baird-Parker agar (BPA)

Gıda numunelerinden Stafilokoklara ait kolonilerin belirlenmesi için kullanıldı. Bu amaçla 58,0 g dehidre besiyeri, 950 ml distile steril su içinde 1-2 dakika kaynatılarak tümüyle eritildi. Besiyeri 45 °C sıcaklığa soğutularak manyetik karıştırıcı ile yavaşça karıştırılırken, üzerine önceden oda sıcaklığına getirilen 50 ml

yumurta sarısı- tellurit emülsiyonu (Merck, Almanya) ilave edilip 20 ml olacak şekilde steril petrilere (Isolab, Almanya) dökülerek petri döküldü. Donan petri kutuları alınarak kullanım zamanına kadar 2-8 °C sıcaklıkta buzdolabında muhafaza edildi.

3.1.1.2.3. Mannitol salt fenol red agar (MSA)

Klinik örneklerden Stafilokok türlerinin izolasyonu için kullanıldı. Bu amaçla ticari olarak temin edilen MSA besiyerinden (Merck, Almanya) 108.0 gr tartılarak 1 lt distile suda eritildi. 121 °C sıcaklıkta 15 dakika otoklav ile steril edildikten sonra 20 ml olacak şekilde steril petrilere (Isolab, Almanya) dökülerek kullanım zamanına kadar 2-8 °C sıcaklıkta buzdolabında muhafaza edildi.

3.1.1.2.4. Tryptic soy agar (TSA)

İzolatların saflaştırılması amacıyla kullanıldı. Ticari olarak temin edilen TSA besiyerinden (Merck, Almanya) 40.0gr tartılarak 1 lt distile suda eritildi. 121 °C sıcaklıkta 15 dakika otoklav ile steril edildikten sonra 20 ml olacak şekilde steril petrilere (Isolab, Almanya) dökülerek kullanım zamanına kadar 2-8 °C sıcaklıkta buzdolabında muhafaza edildi.

3.1.1.2.5. Brain heart infusion (BHI)

Koagülasyonun varlığını belirlemek amacıyla kullanıldı. Bu amaçla Brain heart infusion (BHI) besiyeri (Merck, Almanya) 37.0 gr tartılarak 1 lt distile suda eritildi. 121 °C sıcaklıkta 15 dakika otoklav ile steril edildikten sonra sonra 2 ml lik steril ağzı vida kapaklı kriyovial tüplere (Isolab, Almanya) alınarak kullanım zamanına kadar 2-8 °C sıcaklıkta buzdolabında muhafaza edildi.

3.1.1.2.6. %15 Gliserinli tryptic soy broth

İzolatlarının saklanması amacıyla kullanıldı. Bu amaçla Tryptic Soy Broth (TSB) besiyeri (Merck, Almanya) 30gr tartıldı ve üzerine 150 ml Gliserin (Merck, Almanya) ilave edildikten sonra karışım distile suyla 1lt hacme tamamlandı. 121 °C sıcaklıkta 15 dakika otoklav ile steril edildikten sonra 2 ml lik steril ağzı vida kapaklı kriyovial tüplere (Isolab, Almanya) alınarak kullanım zamanına kadar 2-8 °C sıcaklıkta buzdolabında muhafaza edildi.

3.1.1.2.7. Boyama gereçleri, biyokimyasal test gereçleri, sarf malzemeleri ve kullanılan cihazlar

Kullanıma hazır Gram boyama seti (Merck, Almanya) bakteri kolonilerinin saflığını, bakterilerin mikroskopik morfolojisini ve Gram özelliğini belirlemek için kullanıldı. Katalaz testi (Bactident, Merck, Almanya) katalaz enziminin varlığını tespit etmek, kullanıma hazır Tavşan Plazması (BD, USA) bakterilerin koagülaz enzimi üretimini belirlemek için kullanıldı. Analizlerde sarf malzemeler olarak 90 mm steril petri kabı (Isolab, Almanya), steril cam tüp, steril plastik öze (Isolab, Almanya), ağız vida kapaklı steril kriyovial tüp (Isolab, Almanya) ve lam (Isolab, Almanya) kullanıldı. Analizlerde ayrıca cihaz olarak otoklav, hassas tartı (Radwag, Polonya), derin dondurucu (Nüve, Türkiye), inkubatör (Memmert, Almanya) ve Mikroskop (Olympus, Japonya) kullanıldı.

3.1.2. Biyofilm belirleme için besiyerleri, solüsyon ve cihazlar

3.1.2.1. Tryptic soy broth (TSB)

Stafilokok izolatlarının biyofilm oluşturma yeteneklerinin araştırılması amacıyla TSB besiyeri (Merck, Almanya) kullanıldı. Bu amaçla 30 gr tartılarak 1lt distile suda çözdürüldü. 121 °C sıcaklıkta 15 dakika otoklav ile steril edildikten sonra 50 ml lik steril falkon tüplere (Isolab, Almanya) alınarak kullanım zamanına kadar 2-8 °C sıcaklıkta buzdolabında muhafaza edildi.

3.1.2.2. Kongo kırmızısı agar (KKA)

Stafilokok izolatlarının biyofilm oluşturma yeteneklerinin araştırılması amacıyla kullanıldı. Bu amaçla litresinde 50 gr sakkaroz, 37 gr brain heart infusion agar (BHI) (Merck, Almanya) ve 0,8 gr kongo kırmızısı (Merck, Almanya) olacak şekilde besiyeri hazırlandı ürün hazırlama talimatına uygun olarak 121 °C sıcaklıkta otoklavda steril edildikten sonra kullanım zamanına kadar 2-8 °C sıcaklıkta buzdolabında muhafaza edildi.

3.1.2.3. %0,1 Kristal viyole solüsyonu

Tüp ve mikroplyt yöntemlerinde izolatların biyofilm üretimlerinin belirlenmesinde kullanıldı. Bu amaçla 2 gr kristal viyole (Merck, Almanya) boyasıyla 20 ml etanol (% 95'lik) (Merck, Almanya) karıştırıldı. Diğer taraftan 0,8 g amonyum okzalat (Merck, Almanya) ile 80 ml steril distile su karıştırıldı. Karışımların birbirine eklenmesiyle solüsyon son haline getirildi.

3.1.2.4. Biyofilm tespiti için kullanılan diğer gereç ve cihazlar

Biyofilm oluşumunu incelemek üzere %33'lük glasiyel asetik asit (Merck, Almanya) ve mikropleyt (Greiner BioOne, Avusturya) ve Mikropleyt okuyucu (VersaMax, USA) kullanıldı.

3.1.3. Referans suşlar

Tüm testlerde koagülaz pozitif stafilocoklar için *S. aureus* ATCC 25923 ve koagülaz negatif stafilocoklar için *S. epidermidis* ATCC 35984, referans kontrol suşları olarak kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Stafilocok türlerinin izolasyonu

3.2.1.1. Gıda numunelerinden Stafilocok türlerinin izolasyonu

Gıda numunelerinden 25 g tartılarak, steril bir spatül yardımıyla 225 ml BPW içine ilave edildi ve homojenize edildikten sonra 37 °C de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Bu ön zenginleştirme işleminden sonra BPW içinden BPA besiyerine öze yardımıyla pasajlar yapıldı. Petriler aerobik şartlarda 37 °C de 24 saat inkübasyona bırakıldı. BPA besiyerinde gelişebilen tipik koloniler, siyah renk almaları ve etrafında zon oluşturup oluşturumamasına göre değerlendirildi. Daha sonra üreyen tüm kolonilerin saflaştırma pasajları TSA besiyerine yapıldı. Petriler aerobik şartlarda 37 °C de 24 saat inkübe edildi. Kolonilerin saflık kontrolleri ve mikroskopik muayeneleri Gram boyama ile yapıldı. Saf olarak Gram pozitif ve kok şekilli olan kültürlere katalaz testi uygulandı. Bu testten sonra Stafilocok şüpheli kolonilere koagülaz testi yapıldı. Bu amaçla TSA' dan öze ile BHI besiyerine pasajlar yapıldı. Bu besiyerleri aerobik şartlarda, 37 °C de 24 saat inkübasyonda tutuldu. Üremenin gerçekleştiği BHI besiyerlerinden 0,1 ml alınarak 0,3 ml tavşan plazması ile steril cam tüpte karıştırıldı. Karışım, aerobik şartlarda 37 °C de 6 saat inkübasyonda bekletildikten sonra katılma olanlar koagülaz pozitif, katılma olmayanlar koagülaz negatif olarak değerlendirildi (Baird- Parker,1962; TS 6582-1 EN ISO 6888-1,2001)

3.2.1.2. Klinik örneklerden Stafilocok türlerinin izolasyonu

Klinik örnekler, öze yardımıyla doğrudan Mannitol salt fenol red agara ekildi ve petriler aerobik koşullarda 37 °C de 24 saat inkübasyonda tutuldu. Daha sonra üreyen tüm koloniler saflaştırılmak için TSA besiyerine pasajlandı ve aerobik şartlarda 37 °C de 24 saat inkübe edildi. Saf olarak elde edilen kolonilerin kontrolleri

Gram boyama ile yapıldı ve Gram pozitif kok şekilli olanlara katalaz testi uygulandı. Bu testten sonra Stafilokok şüpheli koloniler belirlendi ve bu kolonilere koagülaz testi yapıldı. Bu amaçla TSA kültürlerinden öze ile Brain-Heart Broth (BHI) (Merck, Almanya) besiyerine pasaj yapıldı. BHI besiyeri aerobik şartlarda, 37 °C de 24 saat inkübasyonda tutuldu. Üremenin gerçekleştiği BHI besiyerlerinden 0,1 ml alınarak 0,3 ml tavşan plazması ile steril cam tüpte karıştırıldı. Karışım, aerobik şartlarda 37°C de 6 saat inkübasyonda bekletildikten sonra katılaşma olanlar koagülaz pozitif, katılaşma olmayanlar koagülaz negatif olarak değerlendirildi (Holt vd., 1994; Merck Mikrobiyoloji El Kitabı III. Baskı,2014)

3.2.1.3. Kolonilerin tür seviyesinde identifikasyonu

İzole edilerek belirlenen Stafilokok şüpheli kolonilerinin doğrulanması ve tür seviyesinde identifikasyonu için VITEK-2 cihazında (Biomérieux, Fransa) analiz edildi.

3.2.1.4. İzolatların biyofilm oluşturma yeteneklerinin araştırılması

İzolatların biyofilm oluşturma yeteneklerinin araştırılması amacıyla Kongo kırmızısı agar yöntemi, tüp yöntemi ve mikropleyt yöntemi olmak üzere 3 ayrı yöntem kullanıldı.

3.2.1.4.1. Kongo kırmızısı agar yöntemiyle biyofilm tayini

İzolatların biyofilm oluşturma özelliklerinin fenotipik olarak değerlendirilmesi amacıyla stafilokok suşları ile birlikte pozitif ve negatif kontrol suşları TSA besiyerinden çeyrek öze alınarak, 10 ml TSB içeren steril cam tüplere pasajları yapıldı. Tüpler çalkalanmadan aerobik şartlarda 37°C de 24 saat inkübasyona bırakıldı. KKA besiyerine biyofilm oluşumunu tespit etmek için tek koloni (yayma plak tekniği) ve damlatma yöntemi olmak üzere 2 farklı yöntemle pasajlar yapıldı ve petriler aerobik şartlarda 37 °C de 24 saat inkübe edildi. Tek koloni yöntemi, öze ile alınan kültürün KKA petrilerine sürülmesiyle, yayma ekim yapılarak gerçekleştirildi. Damlatma yöntemi ise, sıvı kültürden otomatik pipet ile 0,1 ml kültür süspansiyonunun KKA petrilerinde belirlenen 5 ayrı noktaya damlatılmasıyla gerçekleştirildi. Bu petrilerin inkübasyonu sonucunda, kuru kristalize siyah koloniler oluşturan izolatlar renk oluşumundaki yoğunluğuna göre biyofilm çok iyi, iyi olmak üzere kırmızı veya pembe renk oluşturan izolatlar ise biyofilm az veya biyofilm yok olacak şekilde değerlendirildi. Kongo kırmızısı agar yöntemi her bir izolat için üç tekrarlı olarak uygulandı (Freeman vd., 1989; Gündoğ

vd., 2023).

3.2.1.4.2. Tüp yöntemiyle biyofilm tayini

Tüp Aderans Metodu olarak ta isimlendirilen bu yöntemde, Stafilokok izolatları, TSA petrilерinden, 10 ml TSB içeren steril cam tüplere çeyrek öze dolusu alınarak pasajlandı ve 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Cam tüplerin duvarlarında biyofilmleri oluşturan ve oluşturmeyen Stafilokok suşları, fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) (Merck) (pH: 7,3) ile iki kez yıkanarak boşaltıldıktan sonra tüpler 1 saat boyunca %0,1 kristalviyole boyası ile boyandı. Daha sonra boyalı cam tüpler, %0,1 kristalviyole boyasını gidermek için iki kez PBS ile yıkandı ve hava ile kurutuldu. Kontrol amacıyla hazırlanan referans suşların biyofilm sonuçları da değerlendirilerek tüm tüplerde skorlama yapıldı. Tüpün duvarında ya da tabanında görünür bir film tabakası gözlemlendiğinde, biyofilm oluşumu pozitif kabul edildi. Biyofilm sonuçları, biyofilm negatif (0), zayıf biyofilm (+), orta düzeyde biyofilm (++) ve güçlü biyofilm (+++) oluşumu olarak derecelendirildi. Çalışmalar 3'er kez tekrarlandı (Christensen vd., 1985; Gordon vd., 1982).

3.2.1.4.3. Mikropleyt yöntemiyle biyofilm tayini

İzolatlardan TSB sıvı besiyerine pasajlar yapıldıktan sonra kültür, 37°C de aerobik ortamda 24 saat inkübe edildi. İzolat kültürlerinin herbirinden 20 µl alınarak 230 µl TSB ile dolu mikropleyt test kuyucuklarına 3 tekrar olacak şekilde ilave edildi ve mikropleyt 37 °C de aerobik etüvde 24 saat inkübe edildi. Daha sonra kuyucuklar boşaltıldı ve üç kez 350 µl' lik steril saf su ile yıkandı. Kuyucuklarda kalan partiküller, 250 µl metanol ile 15 dakika fikse edildi. Mikropleytler boşaltıldı ve ters pozisyonda oda sıcaklığında yaklaşık 12 saat kurumaya bırakıldı. Biyofilm tabakası, her bir kuyucuğa 250 µl kristalviyole ilave edilerek 5 dakika sürede oda sıcaklığında boyandı ve kuyucuklar akan suda tekrar yıkandı. Boya iyice temizlendikten sonra mikropleytler oda sıcaklığında tekrar kurutuldu ve hücrelere bağlanmış olan boya her kuyucukta %33'lük glasiyel asetik asit ile çözdürüldü ve optik yoğunluk (OD), 570 nm'de mikropleyt okuyucu ile ölçümler yapıldı. Negatif kontrol olarak kullanılan ve sadece besiyeri içeren kuyucuk üzerinden cut-off OD yani ODC değeri hesaplandı.

Çizelge 3.3. ODC hesaplamasına göre biyofilm oluşum düzeyi

Biyofilm Oluşumu Düzeyi	ODC Hesaplaması
Biyofilm yok	$OD \leq ODc$
Zayıf biyofilm	ODc
Orta seviyede biyofilm	$2 \times ODc < OD \leq 4 \times ODc$
Güçlü biyofilm	$OD > 4 \times ODc$

Nihai sonuçlar, 3 tekrar olarak analiz edilen kuyucukların ortalama OD sonuçları dikkate alınarak hesap edildi (Stepanovic vd., 2000).

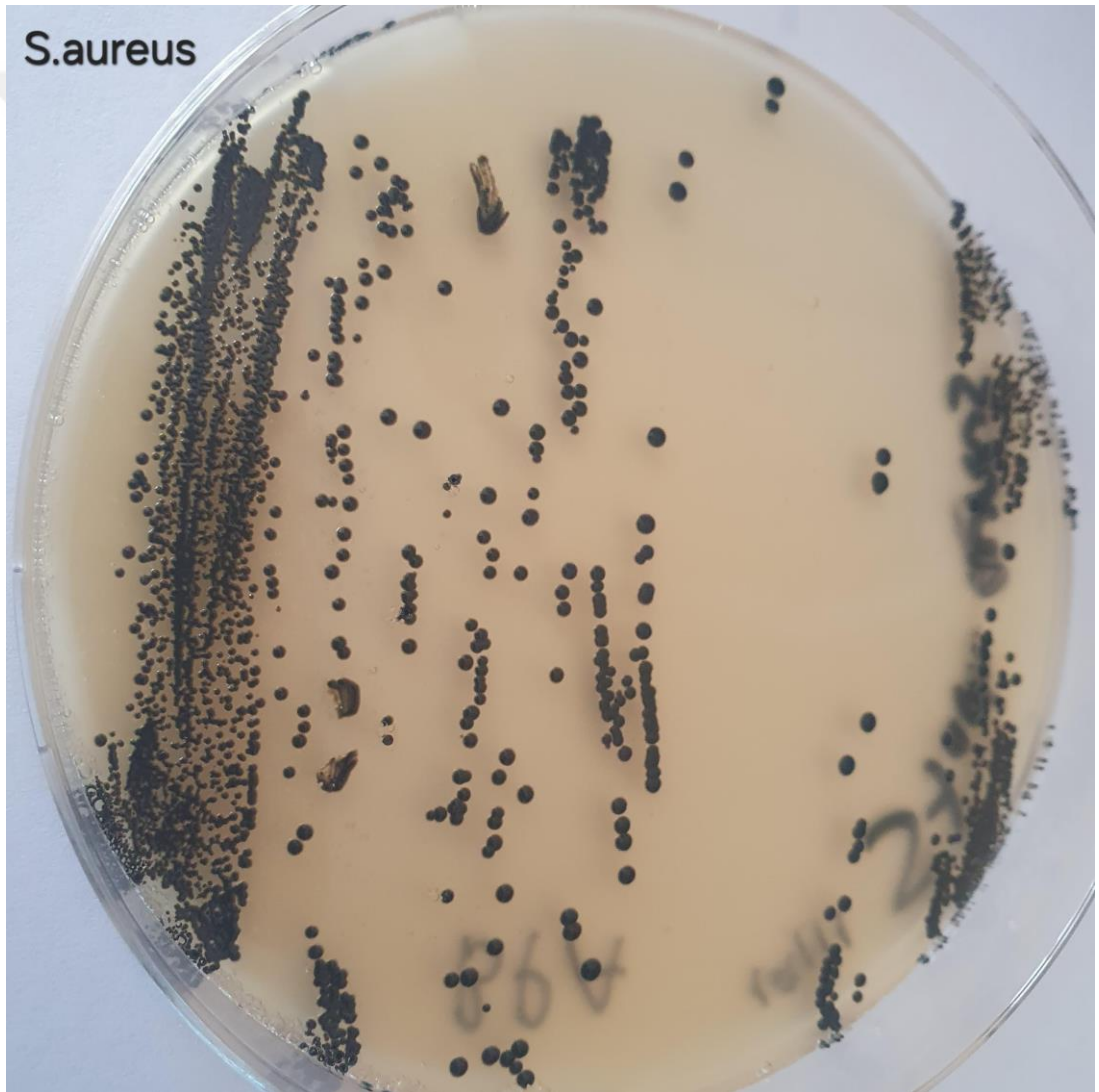
3.2.2. İstatistiksel analiz

Stafilokok izolatlarının klinik veya gıda kökenli olmasının, bu izolatların biyofilm oluşturma yeteneklerine olan etkisi, başka bir ifadeyle, izolatların kökeni ile bu izolatların biyofilm oluşturma yetenekleri arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı, 2x2 olasılık tablosu oluşturularak Fisher's Exact Test yöntemi ile analiz edildi. Anlamlılık seviyesi, $\alpha = 0,05$ olarak kabul edildi. Ayrıca farklı bir istatistiksel araştırma, izolatların koagülaz pozitif ya da negatif olmasının bu izolatların biyofilm oluşturma yeteneğine olan etkisi, başka bir ifadeyle, izolatların koagülaz enzimi üretimiyle bu izolatların biyofilm oluşturma yetenekleri arasındaki ilişkinin anlamlı olup olmadığı 2x2 olasılık tablosu oluşturularak Fisher's Exact Test yöntemi ile analiz edildi. Anlamlılık seviyesi, $\alpha = 0,05$ olarak kabul edildi.

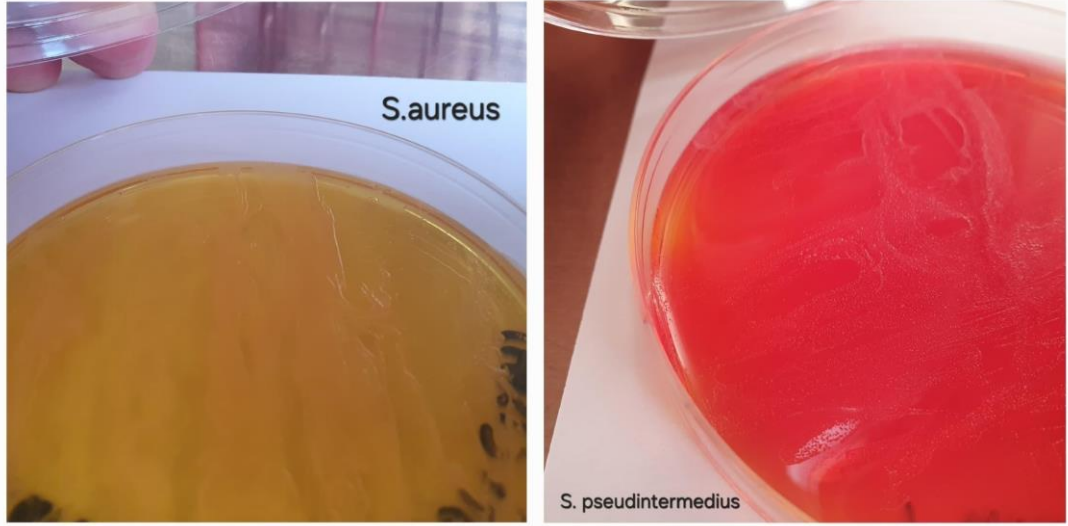
4. BULGULAR

4.1. Stafilokok türlerinin izolasyon ve identifikasyon bulguları

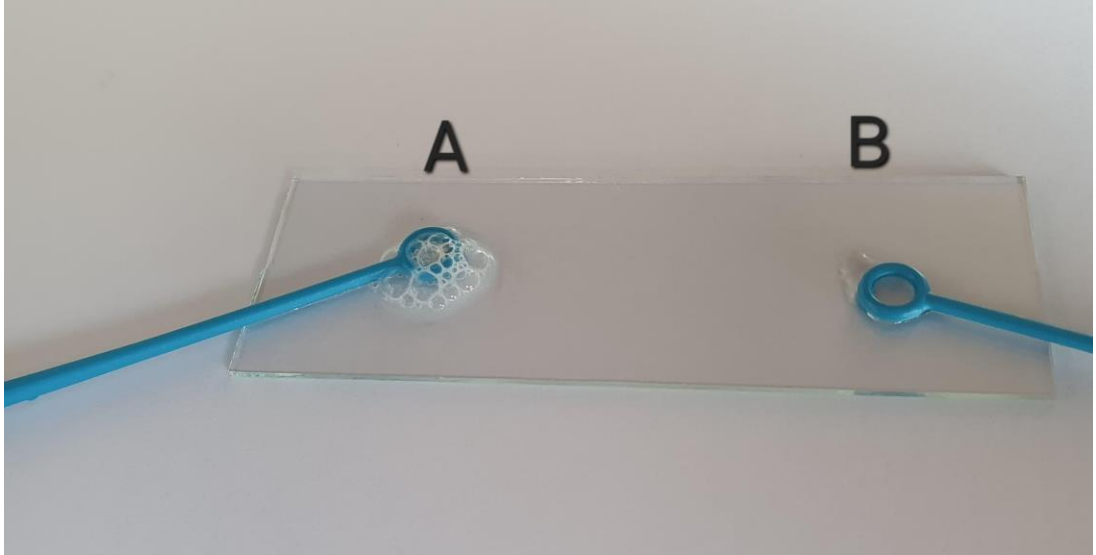
30 klinik örnekten 11 adet, 100 gıda numunesinden 21 adet olmak üzere toplam 32 adet Stafilokok şüpheli izolat elde edildi. İzolatların doğrulamaları ve tür seviyesinde identifikasyonları VITEK 2 cihazında yapıldı. Şüpheli izolatların tamamı doğrulandı. İdentifikasyon sürecinde uygulanan testlere ait fotoğraflar Şekil 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4’de, izolatların tür seviyesindeki identifikasyon sonuçları Çizelge 4.1 ve 4.2 de, Stafilokok türlerinin klinik materyallerden ve gıda numunelerinden izolasyon oranları da Çizelge 4.3’ te verildi.



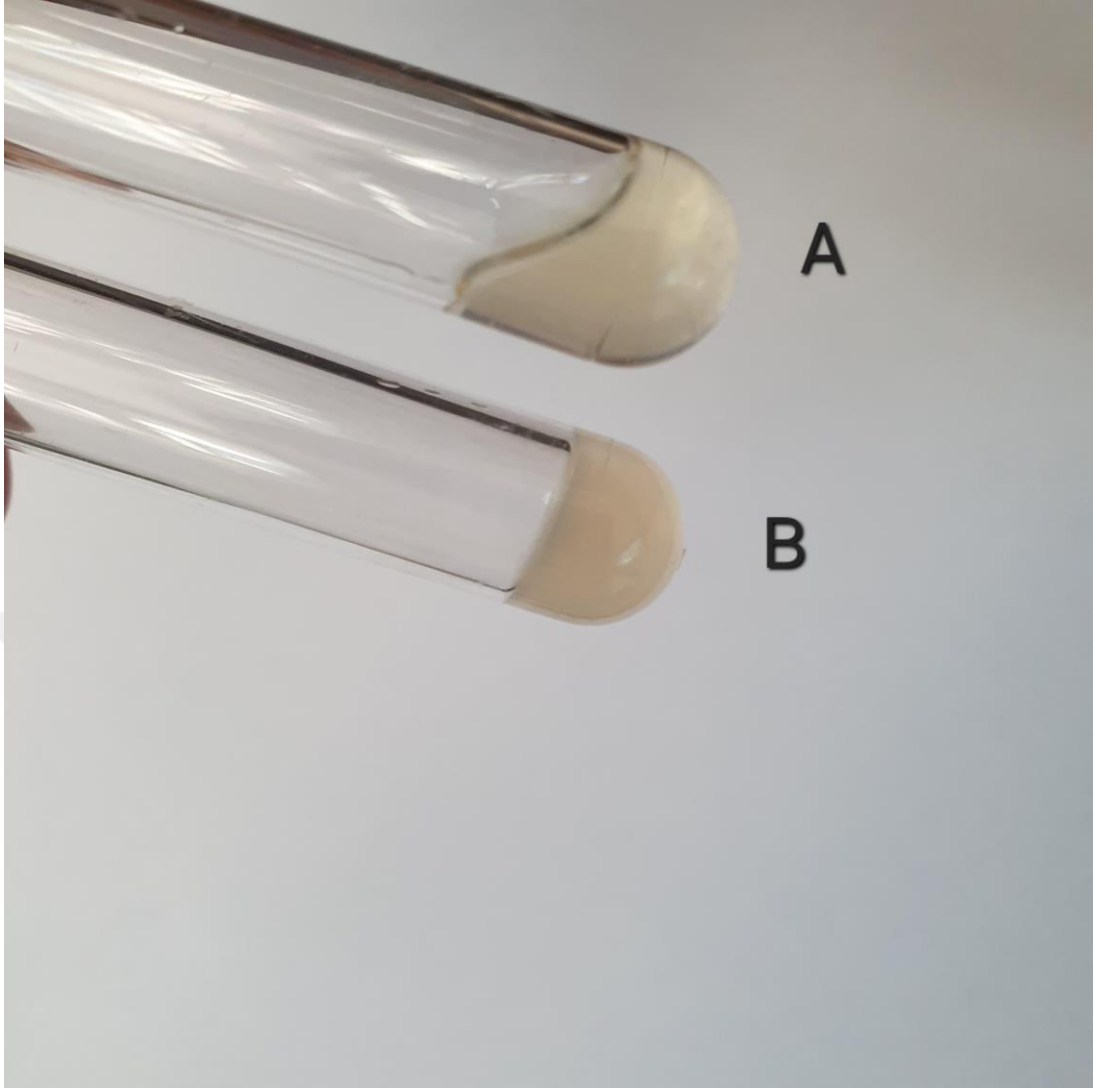
Şekil 4.1. *S.aureus*'un BPA besiyerindeki üreme görüntüsü



Şekil 4.2. *S. aureus* ve *S.pseudintermedius*' un MSA besiyerindeki üreme görüntüsü



Şekil 4.3. Katalaz Testi A Katalaz (+), B Katalaz (-)



Şekil 4.4. Koagülaz testi: A Koagülaz (-)(*S. sciuri*), B Koagülaz (+)(*S. aureus*)

Çizelge 4.1. Gıda numunelerinden izolatların test sonuçları

Numune No	Numune Cinsi	BPA'da Üreme	Gram Boyama	Katalaz	Koagülaz	VİTEK Analizi
1	Adana Kebap	Siyah	+	+	-	<i>Staphylococcus lentus</i>
2	Yaş Pasta	Siyah	+	+	-	<i>Staphylococcus lentus</i>
3	Şehriyeli Pirinç Pilavı	Siyah Zonlu	+	+	+	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>
4	Eritme Peynir	Siyah Zonlu	+	+	+	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>
5	Tavuk Döner	Siyah Zonlu	+	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
6	Yaş Pasta	Siyah Zonlu	+	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
7	Yaş Pasta	Siyah	+	+	-	<i>Staphylococcus xylosus</i>
8	Dondurul	Siyah	+	+	-	<i>Staphylococcus</i>

	muş Yaş Pasta					<i>occus warneri</i>
9	Tereyağı	Siyah	+	+	-	<i>Staphylococcus sciuri</i>
10	Yaş Pasta	Siyah	+	+	-	<i>Staphylococcus xylosus</i>
11	Salata	Siyah	+	+	-	<i>Staphylococcus xylosus</i>
12	Çikolatalı Yaş Pasta	Siyah	+	+	-	<i>Staphylococcus xylosus</i>
13	Tavuk Döner	Siyah	+	+	-	<i>Staphylococcus xylosus</i>
14	Peynir	Siyah Zonlu	+	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
15	İçli Köfte	Siyah	+	+	-	<i>Staphylococcus warneri</i>
16	Tavuk Döner	Siyah Zonlu	+	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
17	Pirinç Pilavı	Siyah Zonlu	+	+	+	<i>Staphylococcus pse</i>

						<i>Staphylococcus aureus</i>
18	Kebab	Siyah	+	+	-	<i>Staphylococcus lentus</i>
19	Çikolata Yaş Pasta	Siyah	+	+	-	<i>Staphylococcus xylosus</i>
20	Peynir	Siyah	+	+	-	<i>Staphylococcus warneri</i>
21	Yaş Pasta	Siyah Zonlu	+	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>

Çizelge 4.2. Klinik örneklerden izolatların test sonuçları

No	Numunenin kökeni	MSA'da Mannitol fermentasyonu	Gram boyama	Katalaz	Koagülaz	VITEK Analizi
1	Köpek Yara Enfeksiyonu	Var	+	+	+	<i>S. aureus</i>
2	Köpek Göz Enfeksiyonu	Var	+	+	-	<i>S. sciuri</i>
3	Kedi Yara Enfeksiyonu	Yok	+	+	+	<i>S. pseudintermedius</i>
4	Köpek Kulak Enfeksiyonu	Yok	+	+	+	<i>S. pseudintermedius</i>
5	Kedi Yara Enfeksiyonu	Yok	+	+	+	<i>S. pseudintermedius</i>
6	Kedi Kulak Enfeksiyonu	Yok	+	+	+	<i>S. pseudintermedius</i>

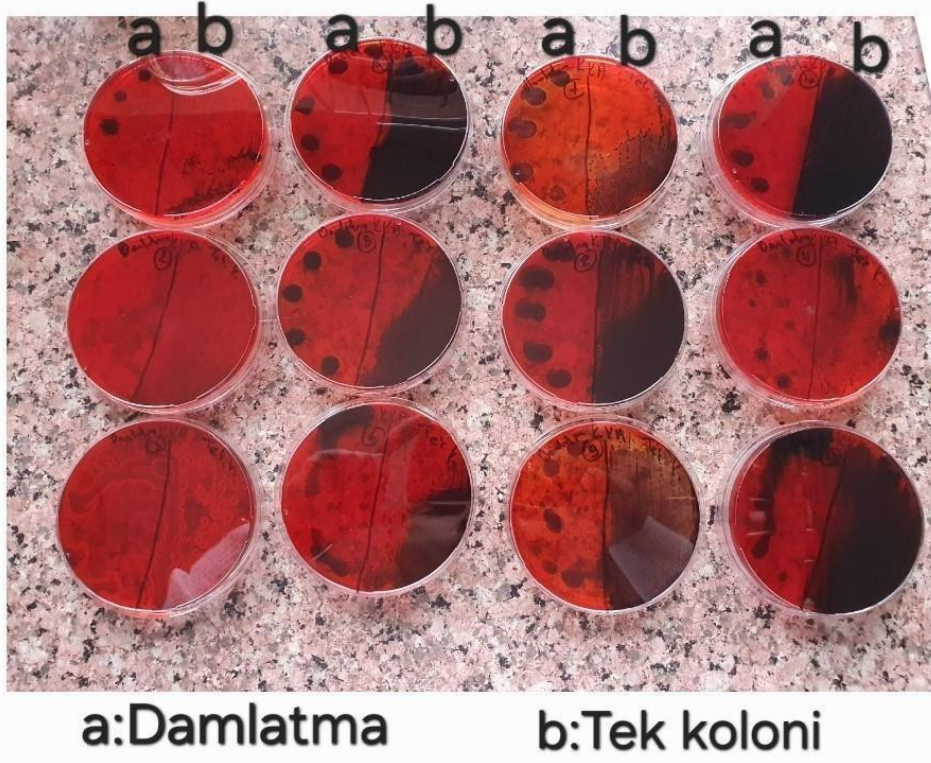
7	Kedi Göz Enfeksiyonu	Yok	+	+	+	<i>S. pseudintemedius</i>
8	Sığır Mastitis	Var	+	+	+	<i>S. aureus</i>
9	Sığır Mastitis	Var	+	+	+	<i>S. aureus</i>
10	Civciv Gagası	Yok	+	+	-	<i>S.epidermidis</i>
11	Köpek Kulak Enfeksiyonu	Yok	+	+	-	<i>S.epidermidis</i>

Çizelge 4.3. Stafilokok türlerinin klinik materyallerden ve gıda numunelerinden izolasyon oranları

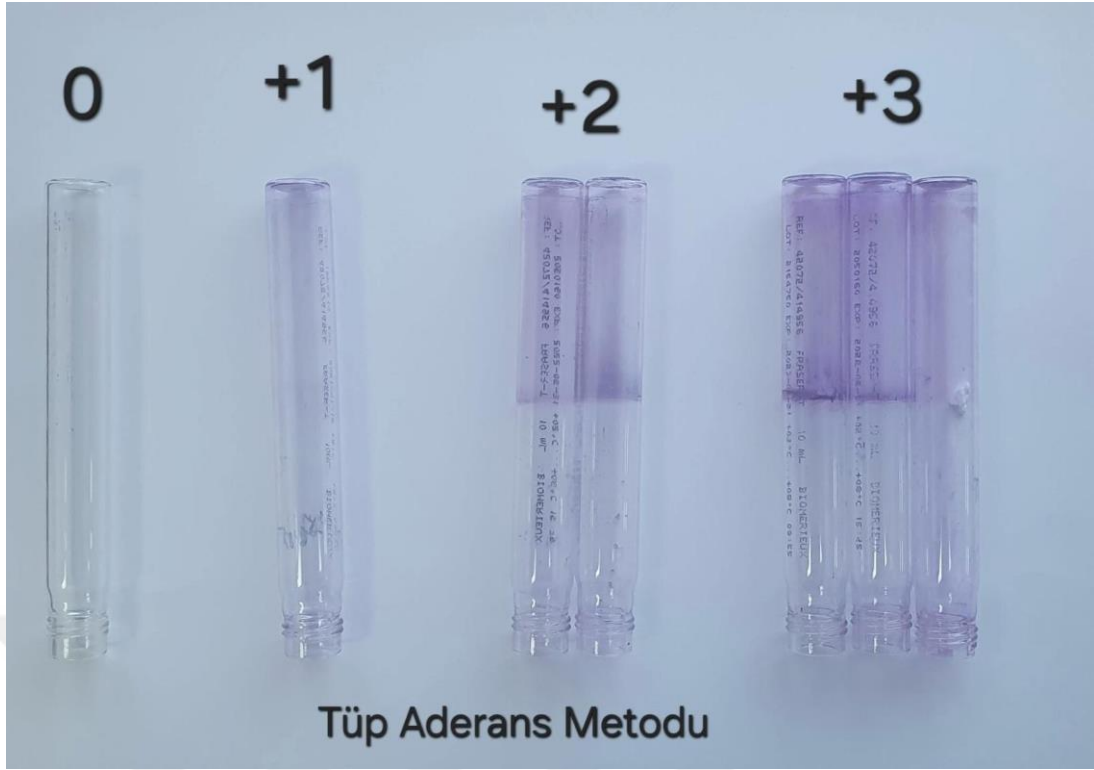
İzole Edilen Tür	Klinik örnekler (n=30)	Gıda örnekleri (n=100)	Toplam örnek (n=130)
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	5 (% 16,6)	3 (%3)	8 (% 6,15)
<i>Staphylococcus aureus</i>	3 (% 10)	5 (%5)	8 (% 6,15)
<i>Staphylococcus xylosus</i>	0 (%0)	6 (%6)	6 (% 4,61)
<i>Staphylococcus lentus</i>	0 (%0)	3 (%3)	3 (% 2,3)
<i>Staphylococcus warneri</i>	0 (%0)	3 (%3)	3 (% 2,3)
<i>Staphylococcus sciuri</i>	1 (% 3,33)	1 (% 1)	2 (% 1,53)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2 (% 6,66)	0(%0)	2 (% 1,53)
Toplam	11 (% 36,6)	21 (% 21)	32 (% 24,6)

4.2. Biyofilm test sonuçları

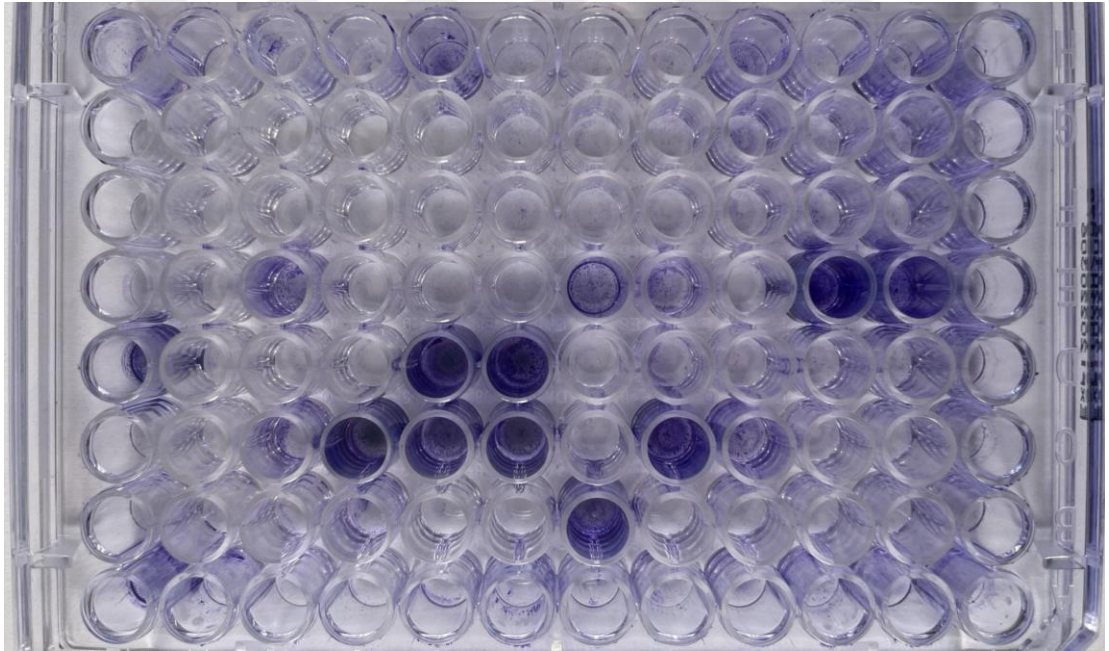
İzolatların biyofilm oluşturma yeteneklerinin tespit edilme sürecinde kullanılan yöntemlere ilişkin fotoğraflar şekil 4.5, 4.6 ve 4.7' de, kullanılan yöntemlere ait karşılaştırmalı test sonuçları ise Çizelge 4.4. de verildi.



Şekil 4.5. Her bir ikiye bölünmüş petride a: Damlatma yöntemiyle ekim, b: Tek koloni yöntemiyle ekim



Şekil 4.6. Boyama sonrası kurutulmuş tüp çeperinde biyofilm oluşumunun görünümü ve skorlanması



Şekil 4.7. Kristal viyole ile boyanmış mikroplyet kuyucuklarında farklı yoğunluklarda biyofilm oluşumu

Çizelge 4.4. İzolatların biyofilm oluşturma yeteneklerinin karşılaştırmalı bulguları

Sıra No	Numune Cinsi	İzole Edilen Tür	Kongo Agar Yöntemi	Tüp Yöntemi	Mikropleyt Yöntemi
1	Köpek Yara Enfeksiyonu	<i>S. aureus</i>	Çok İyi	+++	Güçlü biyofilm
2	Köpek Göz Enfeksiyonu	<i>S. sciuri</i>	İyi	++	Orta biyofilm
3	Kedi Yara Enfeksiyonu	<i>S.pseudintermedius</i>	İyi	+	Zayıf biyofilm
4	Köpek Kulak Enfeksiyonu	<i>S.pseudintermedius</i>	Az	+	Zayıf biyofilm
5	Kedi Deri Enfeksiyonu	<i>S.pseudintermedius</i>	Az	++	Orta biyofilm
6	Kedi Kulak Enfeksiyonu	<i>S.pseudintermedius</i>	İyi	++	Orta biyofilm
7	Kedi Göz Enfeksiyonu	<i>S.pseudintermedius</i>	Az	+	Orta biyofilm

8	Sığır Mastitis	<i>S. aureus</i>	Çok İyi	+++	Güçlü biyofilm
9	Sığır Mastitis	<i>S. aureus</i>	Çok İyi	+++	Güçlü biyofilm
10	Civciv Gagası	<i>S. epidermidis</i>	Çok İyi	++	Güçlü biyofilm
11	Köpek Kulak Enfeksiyonu	<i>S. epidermidis</i>	Çok İyi	+	Güçlü biyofilm
12	Adana Kebap	<i>S. lentus</i>	Biyofilm yok	Biyofilm yok	Biyofilm yok
13	Yaş Pasta	<i>S. lentus</i>	Biyofilm yok	Biyofilm yok	Biyofilm yok
14	Şehriyeli Pirinç Pilavı	<i>S.pseudintermedius</i>	Az	++	Zayıf biyofilm
15	Eritme Peynir	<i>S.pseudintermedius</i>	Az	++	Zayıf biyofilm
16	Tavuk Döner	<i>S. aureus</i>	Çok İyi	+++	Güçlü biyofilm

17	Yaş Pasta	<i>S. aureus</i>	Çok İyi	+++	Güçlü biyofilm
18	Yaş Pasta	<i>S. xylosus</i>	İyi	+++	Zayıf biyofilm
19	Dondurulmuş Yaş Pasta	<i>S. warneri</i>	Biyofilm yok	Biyofilm yok	Biyofilm yok
20	Tereyağı	<i>S. sciuri</i>	İyi	++	Orta biyofilm
21	Yaş Pasta	<i>S. xylosus</i>	İyi	+	Orta biyofilm
22	Salata	<i>S. xylosus</i>	İyi	+	Zayıf biyofilm
23	Çikolatalı Yaş Pasta	<i>S. xylosus</i>	İyi	++	Zayıf biyofilm
24	Tavuk Döner	<i>S. xylosus</i>	İyi	++	Zayıf biyofilm
25	Peynir	<i>S. aureus</i>	Çok İyi	+++	Güçlü biyofilm
26	İçli Köfte	<i>S. warneri</i>	Biyofilm	Biyofilm	Biyofilm

			yok	yok	yok
27	Tavuk Döner	<i>S. aureus</i>	Çok İyi	+++	Güçlü biyofilm
28	Pirinç Pilavı	<i>S. pseudintermedius</i>	İyi	+	Zayıf biyofilm
29	Kebab	<i>S. lentus</i>	Biyofilm yok	Biyofilm yok	Biyofilm yok
30	Çikolatalı Yaş Pasta	<i>S. xylosum</i>	İyi	+	Zayıf biyofilm
31	Peynir	<i>S. warneri</i>	Biyofilm yok	Biyofilm yok	Biyofilm yok
32	Yaş Pasta	<i>S. aureus</i>	Çok İyi	++	Güçlü biyofilm
Referans1	<i>S. aureus</i> ATCC 25923		Çok İyi	+++	Güçlü biyofilm
Referans2	<i>S. epidermidis</i> ATCC 35984		Çok İyi	+++	Güçlü biyofilm

4.3. İstatistiksel Analiz Bulguları

Stafilokok izolatlarının gıda ya da klinik kökenli olması ile

biyofilm oluşturma kabiliyetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($P>0,05$).

Stafilokok izolatlarının koagölaz enzimi üretimi ile bu izolatların biyofilm oluşturma kabiliyetleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir ($P<0,05$).



5. TARTIŞMA

Stafilokok türlerinin gıda numunelerinden izolasyonu amacıyla geçmişten günümüze çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bir çalışmada araştırmacılar, 30 adet peynir numunesinden stafilokok türlerinin izolasyonu için MSA ve BPA besiyerlerini kullanmışlar, elde ettikleri şüpheli kolonilere katalaz, O/F ve koagülaz testlerini yapmışlar ve 14 adet koagülaz negatif Stafilokok izolatı tanımlamışlardır. Ayrıca bu izolatların BPA besiyerinde tamamının siyah-kurşuni renkte koloniler oluşturduğunu, bu kolonilerin çevrelerinde ise beyaz-parlak bir alanın oluşmadığını vurgulamışlardır (Gülseren&Tanış., 2020). Farklı bir çalışmada ise araştırmacılar, 64 adet beyaz peynir numunesi örneğinden 24 adet koagülaz pozitif Stafilokok izole ettiklerini bildirmişlerdir (Güngören vd., 2022). Hayvansal kökenli gıda numunelerinin kullanıldığı bir başka çalışmada, 200 adet numunenin 45 tanesinden koagülaz pozitif Stafilokok izolasyonu bildirilmiştir (Akyol vd., 2023). Resch vd. (2008) çalışmalarında çeşitli gıdalardan, klinik örneklerden ve starter kültürlerden 330 koagülaz negatif Stafilokok etkeninin izole edildiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da Stafilokok etkenlerinin gıda numunelerinden izolasyonu için hem seçicilik hem de ayırt edicilik sağlayan BPA besiyeri kullanılarak 100 adet gıda numunesinin 21'inden Stafilokok türleri izole edildi. Bu izolasyon oranı önceki çalışmalarla kıyaslandığında, peynir numunelerinden izolasyon oranlarına göre (Gülseren&Tanış, 2020; Güngören vd. 2022) daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durum peynir üretim ve pazarlama proseslerinde insan faktörünün etkin rol almasından, peynirlerin muhafaza ve nakil şartlarına uyulmamasına kadar bir dizi olumsuzluktan kaynaklanmış olabilir. Öte yandan bu çalışmada olduğu gibi çok çeşitli gıda numunelerinin çalışıldığı benzer çalışmalarda, Stafilokok türlerinin izolasyon oranları ile bu çalışmada elde edilen oranlar arasındaki farklılıkların nedeni, inceleme örneklerinin seçildiği yer, numune sayısı, coğrafi farklılıklar, inceleme örneklerinin nevi, numunelerin saklanma şartları, işlenme şekilleri ve yapılan analizlerin metot farklılıkları ile ilgili olabileceği düşünülmektedir (Akyol vd., 2023).

Bu çalışmada, gıda numunelerinden Stafilokok türlerinin izolasyonunda kullanılan BPA besiyerinde üreyen siyah renkli kolonilerin etrafında beyaz-parlak hale (zon oluşumu) olanlar ve olmayanlar olarak ayrıldığı görüldü. Yapılan ilave testlerle de beyaz- parlak haleli olan kolonilerin koagülaz pozitif, halesi olmayanların ise koagülaz negatif Stafilokok türlerine ait oldukları tespit edildi (Çizelge 4.1). Koloni etrafındaki beyaz-parlak hale yapısı, üretici tarafından bu besiyerinin Stafilokok türlerinin koagülaz varlığını tespit etmek amacıyla ayırt edici bir özelliği olarak vurgulanmamış olsa da bu halenin daha önceki çalışmalarla da uyumlu olarak

(Gülseren&Tanış., 2020) izolatin koagülaz özelliği hakkında araştırmacılara bir ön bilgi sağladığı görülmektedir. Bu durum, BPA besiyerinde tespit edilebilen Stafilocok izolatlarının lipaz (parlak halka oluşturur) ve lesitinaz (bulanıklık oluşturur) aktiviteleriyle bu izolatların koagülaz aktiviteleri arasında bir korelasyon olabileceğini düşündürmektedir. Nitekim Alçay'ın yapmış olduğu İstanbul'da satılan pişmiş tavuk dönerlerinin mikrobiyolojik kalitesini araştırdıkları bir çalışmada, BPA besiyerinin bu özelliğini kullanarak, besiyerinde üreyen kolonileri, etrafı şeffaf zonla çevrili siyah renkli tipik koloniler ve atipik koloniler olarak ayırmış ve koagülaz pozitif stafilocokları koagülaz testiyle de doğrularak belirlediklerini bildirmişlerdir (Alçay, 2019).

Yapılan çalışmalarda araştırmacılar çeşitli Stafilocok türlerini farklı oranlarda izole ettiklerini bildirmişlerdir. Resch vd. (2008) yaptıkları çalışmada fermente balık, et, peynir, sosis gibi çeşitli gıdalarda bulunan toplamda 330 koagülaz negatif Stafilocok etkenini izole etmişlerdir. İzolatların 137'sinin *S. xylosus*, 106'sının *S. carnosus*, 64'ünün *S. equorum*, 11'inin *S. piscifermantans*, 10'unun *S. succinus* ve ikisinin *S. condimenti* olarak tespit edildiği bildirilmiştir. Kıyma örneklerinin çalışıldığı başka bir çalışmada, elde edilen 56 izolatin altısının *S. aureus*, 50'sinin ise KNS olarak tanımlanmış olduğu, KNS türlerinin 36'sının *S. xylosus*, yedisinin *S. hominis*, üçünün *S. capitis*, ikisinin *S. epidermidis* ve ikisinin de *S. cohnii* türleri olarak bildirilmiştir (Gündoğan & Ataol, 2012). Aynı araştırmacılar, tavuk örneklerinden toplam 41 izolat elde etmişler ve tamamının KNS türlerine ait olduğunu, bu türlerin 13'ünün *S. simulans*, 10'unun *S. cohnii*, dokuzunun *S. capitis*, altısının *S. hominis*, ikisinin *S. auricularis*, birinin *S. haemolyticus* olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir (Gündoğan & Ataol, 2012). Bu çalışmada da gıda örneklerinden 6 farklı tür izole edildi. *S. xylosus* 6 (%6), *S. aureus* 5 (%5), *S. pseudintermedius* 3 (%3), *S. lentus* 3 (%3), *S. warneri* 3 (%3), *S. sciuri* 1(%1) olarak tespit edildi (Çizelge 4.3). Çalışmalarda çeşitli türlerden Stafilocok etkenleri elde edilmiş olsa da izolasyon oranlarının birebir aynı olmadıkları görülmektedir.

Stafilocokların klinik örneklerden izolasyonu amacıyla da geçmişten günümüze çok sayıda çalışma yapılmıştır. Uysal (2006), 60 adet yara svabı örneğinden 42 adet Stafilocok etkeni izole ettiklerini, bunlardan 30'unun koagülaz pozitif ve 12'sinin koagülaz negatif olarak belirlendiğini, koagülaz pozitif olduğu tespit edilen izolatlardan 22'sinin *S. aureus*, sekizinin *S. intermedius*, koagülaz negatif izolatların ise yedisinin *S. hyicus*, ikisinin *S. sciuri*, ikisinin *S. haemolyticus* ve birinin *S. cohnii* subsp. *Cohnii* olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, *S. hominis* ve *S. epidermidis* gibi bazı türlerin adaptasyon yeteneğine

sahip olduklarını, insan derisi ve mukozası üzerinde yüksek hakimiyet kurabildiklerini bildirmektedir (Molnar vd.,1994). Nitekim Öcal vd. (2022) yapmış oldukları çalışmada *S. hominis* ve *S. epidermidis* türlerini en sık izole edilen Stafilocoklar içerisinde bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada, subklinik mastitli sığırlardan temin edilen 100 süt örneğinin 28'inden *S. aureus*, 21'inden *Streptococcus uberis* ve 8'inden *Streptococcus dysgalactiae* izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Toplam 43 örnekte ise bakteriyel üreme saptanmamıştır (Genç & Kaya., 2015). Sağlıklı ve otitis externalı köpeklerin kulaklarından örneklerin alındığı bir çalışmada 100 adet örnekten 42 *Staphylococcus* etkeni izole edilmiştir. Stafilocok olduğu belirlenen 42 örnekten 19 tanesi koagülaz testi ile pozitif bulunmuştur (Kocatepe, 2015). Yapılan bir diğer çalışmada deri enfeksiyonları bulunan atların 512 adet örneğinden 75 adet *S. aureus* izole edilmiştir. (Chiers vd., 2003). İran'ın Doğu ve Batı Azerbaycan bölgelerinde bulunan 7 sütçü inek sürüsüne ait 158 süt örneğinin bakteriyolojik ve moleküler yöntemlerle incelendiği bir çalışmada, 113 örnekten çok sayıda Stafilocok türünün izolasyonu bildirilmiştir. Araştırmacılar, 113 adet izolattan beşini *S. aureus*, 108'ini ise KNS olarak tanımlamışlardır. Araştırmacılar elde ettikleri 108 KNS türünün 44'ünü *S. haemolyticus*, 17'sini *S. chromogenes*, 11'er adedini *S. epidermidis*, *S. arneri* ve *S. cohnii*, altısını *S. simulans*, dördünü *S. hominis*, üçünü *S. capitis* ve birinide *S. xylosus* olarak tanımlamışlardır. Klinik mastitis olgularından ise sadece *S. haemolyticus*, *S. warneri* ve *S. chromogenes* türlerinin izole edildiğini bildirmişlerdir (Hosseinzadeh&Saei, 2014). Göçmen vd., (2018) nin yapmış olduğu bir çalışmada 67 adet hayvana ait klinik materyallerden Stafilocok türlerinin izolasyonu için %7 koyun kanlı agar ve BPA kullanmışlardır. İzolasyonlarını yaptıkları ve saf olarak elde ettikleri bakteri kolonilerinden Gram pozitif kok şekilli olanlara katalaz ve koagülaz testlerini uygulamışlardır. VITEK 2 otomatize sistem cihazı ile de tür seviyesinde identifikasyonlarını gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada da bazı araştırmacılar gibi (Gülseren&Tanış, 2020) klinik örneklerden Stafilocok etkenlerinin izolasyonu için seçici besiyeri olarak MSA besiyerleri kullanıldı. Yüksek yoğunlukta tuz ortamı sağlayan MSA besiyeri, amaca yönelik olarak yüksek derecede de selektif özellik gösterdi. Ancak mannitol fermentasyonu sadece *S. aureus* için pozitif olurken diğer koagülaz pozitif izolatlar için değişti. Bu durum mannitol fermentasyonunun koagülaz varlığını belirlemede %100 spesifik olamayacağını göstermektedir. Veteriner hekimliğinde, başlıca koagülaz pozitif Stafilocok türlerinden *S. aureus* ve *S. pseudintermedius* ayrıca koagülaz negatif Stafilocok türlerinden *S. chromogenes* ve *S. epidermidis*'in önemli hastalıklara neden olduğu bildirilmektedir (Göçmen vd. 2018). Bu çalışmada da klinik örneklerden 4 farklı tür, *S. pseudintermedius* 5 (%16,6), *S. aureus* 3 (%10), *S. sciuri* 1 (%3,33) ve *S. epidermidis* 2 (%6,66), olarak tespit edildi (Çizelge 4.3). Stafilocok türlerinin

izolasyon oranları arasındaki farklılıklar, gıda materyallerindeki farklılıklar için belirtilen sebeplerle benzer olabilir. İnceleme örneklerinin seçildiği yer, numune sayısı, coğrafi farklılıklar, inceleme örneklerinin nevi, numunelerin saklanma şartları, işlenme şekilleri ve yapılan analizler için metod farklılıkları sonuçlara etki etmiş olabilir. Bu çalışmada %6,15'lik oranlarıyla *S. pseudointermedius* ve *S. aureus* izolasyon oranı en yüksek türler olarak tespit edilmiştir. Bu türlerin özellikleri incelendiğinde tespit edilen diğer türlerden koagülaz pozitif olmalarıyla ayrılmaktadır. Bu durum, koagülaz varlığının, bu mikroorganizmaların diğer koagülaz negatif türlere oranla baskın türler olarak bulunurluklarını arttıran önemli bir faktör olduğunu düşündürse de, Keskin vd., 2003, biyofilm üreten KNS suşlarının enfeksiyonlardan sıklıkla izole edildiklerini bildirmişlerdir.

Stafilokok türleri, hemen her ortamda insan ve hayvan sağlığını olumsuz etkileyebilecek şekilde bulunabildikleri için araştırmacılar tarafından bu etkenlerin virülens özellikleri sıklıkla araştırılmıştır. Stafilokok türlerinin biyofilm oluşturabilme yetenekleri de etkenin hayatta kalarak etkinliğini devam ettirebilmesini sağladığından çok sayıda çalışmada ele alınmıştır. Öcal vd. (2022) Stafilokok izolatlarının biyofilm oluşturma yeteneklerini KKA besiyerlerinde araştırmış, yayma ve damlatma yöntemleri arasında biyofilm oluşumunu saptama açısından fark bulunmadığını ancak sonuçları değerlendirirken damlatma yöntemi ile yapılan ekimlerin daha kolay yorumlandığını bildirmişlerdir. Ayrıca biyofilm oluşumunun tespiti açısından uygulanan yöntemleri karşılaştırmışlar ve mikropleyt yönteminin KKA yöntemine göre istatistiksel olarak anlamlı oranda daha fazla biyofilm saptadığını belirlemişlerdir. Erciyes Üniversitesinde yapılan bir çalışmada ise *S. aureus* izolatlarının %35'i KKA'da, %36'sı mikropleyt'de ve %94.4'ü her iki yöntemle de biyofilm pozitif olarak raporlanmıştır (Gündoğ vd., 2023). Benzer şekilde, Hindistan'da yapılan bir çalışmada da biyofilm tanılama sonuçlarının karşılaştırıldığı çalışmalarda analiz edilen 84 adet *S. aureus* izolatının %79'unun mikropleyt ve %75'inin KKA yöntemleri ile biyofilm üretebildikleri rapor edilmiştir (Jain&Agarwal, 2009). Mathur vd., (2006) yapmış oldukları bir çalışmada 152 KNS izolatının biyofilm oluşturma özelliklerini KKA ve mikropleyt yöntemlerini kullanarak araştırmışlar, KKA ile 8'inde (%5,2), mikropleyt yöntemi ile 82'sinde (%53,9) biyofilm oluşumunu göstererek mikropleyt yönteminin daha duyarlı olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca Stafilokokları kandan, enfekte araç ve deri yüzeylerinden elde ederek biyofilm oluşturma yetenekleriyle ilgili oranların yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Manandhar vd., (2021) çalışmalarında mikropleyt yöntemiyle (%42,1), tüp metodu (%31,8) ve KKA yöntemine (%20,1) göre daha yüksek oranda biyofilm tespiti yapabildiklerini bildirmişlerdir. Kord vd., (2018)

çalışmalarında 41 *S. epidermidis* izolatının %53,6'sında tüp ve mikropleyt metodu ile %24,4'ünde KKA yöntemi ile biyofilm oluşumunu göstermiştir. Cafiso vd., (2004) da enfeksiyonlardan izole ettikleri Koagülaz negatif Stafilokok izolatlarının biyofilm oluşturma yeteneklerini KKA yöntemi ile araştırmışlar ve %83'ünün biyofilm oluşturabildiklerini göstermişlerdir. Demir&Battaloğlu (2015), yaptıkları çalışmada üç tespit yöntemini birlikte kullanarak, klinik örneklerden izole ettikleri koagülaz negatif Stafilokoklardan 65 adet ve *S. aureus* izolatlarından 127 adet değerlendirmişler ve biyofilm tespiti açısından sonuçların birbirine yakın olduğunu ve yöntemler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, gıda ve klinik örneklerden farklı türlerde toplam 32 Stafilokok izolatının biyofilm oluşturma yetenekleri 3 farklı yöntem kullanılarak araştırıldı. Literatürde, benzer şekilde karşılaştırmaları içeren çalışmalarda, mikropleyt yönteminin diğer yöntemlerle benzer duyarlılıkta olduğunu belirten çalışmalar olduğu kadar (Gündoğ vd., 2023; Demir&Battaloğlu, 2015; Jain&Agarwal, 2009), daha duyarlı olabileceğinin belirtildiği çalışmalar da mevcuttur (Mathur vd., 2006; Manandhar vd., 2021). Bu çalışmada ise kullanılan yöntemlerle tespit edilebilen biyofilm oluşum miktarları, tüm izolatlar için oldukça benzer bulundu. Laboratuvar alt yapısına uygun olacak şekilde bu yöntemlerden herhangi birinin tercih edilebileceği kanaatine varıldı. Araştırmacılar, biyofilm oluşumundaki farklılığın sebebini çok sayıda nedene bağlamaktadır. Bakteri türü ve bulunduğu ortamla birlikte besiyeri kompozisyonu (Dhanawade vd., 2010), glukoz mevcudiyeti ve yoğunluğu, hidrojen iyon konsantrasyonu ve H₂O₂ varlığı gibi birtakım faktörlerin, biyofilm oluşumunu etkileyebileceği bildirilmektedir (Nostro vd., 2014). Nitekim bu çalışmada klinik ve gıda kökenli izolatlar arasında, biyofilm oluşturma kabiliyetleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamış, fakat Stafilokok izolatlarının koagülaz enzimi üretimi ile bu izolatların biyofilm oluşturma kabiliyetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. Koagülaz üretimi ile biyofilm üretimi arasında literatürde tespit edilmiş kesin bir nedensellik ilişkisi bulunamamıştır. Ancak koagülaz pozitif türlerin genellikle daha güçlü biyofilm üretme kapasitesine sahip olabileceği kanaati yüksektir. Koagülaz negatif türlerin de ciddi biyofilm üreticileri olduğu durumlar vardır. Her iki grupta da biyofilm üretiminin çok çeşitli fenotipik ve genotipik faktörlerle belirlenmesi (Nostro vd., 2014) biyofilm oluşumunun dinamikleriyle ilgili yapılacak yorumları güçleştirmektedir.

6. SONUÇLAR

Sonuç olarak gıda ve klinik örneklerden Stafilocok türlerinin izolasyonlarının kolaylıkla ve sıklıkla yapılabildiği görüldü. Bu durum gıda ürünlerinin işletmeden sofralara üretim ve pazarlama ile ilgili her aşamasının insan faktöründen etkilenmeden ve hijyenik şartlarda olması gerektiğini bir kez daha göstermektedir. Biyofilmler inatçı, kronik ve tekrarlayan enfeksiyonların oluşumunda önemli rol alabilir. Enfeksiyonlarda, tedavideki en büyük güçlüklerden biri olarak biyofilm oluşturan mikroorganizmaların konak savunma mekanizmalarına ve antimikrobiyal ajanlara artan dirençleri olarak gösterilmiştir. Gıda ve klinik Stafilocok izolatlarının orjininden bağımsız olarak çoğunun biyofilm üretme potansiyeli bu etkenlerle mücadelede, akılcı uygulamaların zorunluluğunu bir kez daha ortaya koymaktadır. Biyofilmlerin oluşum mekanizmasında genel özellikler, çoğu mikroorganizma için benzer olsa da etkene spesifik davranışlar her bir mikroorganizmanın özel olarak değerlendirilmesini gerektirmektedir. Bu etkenlerin çok çeşitli ortamlarda bulunabilme potansiyelleri, gıda ürünlerinde kolay kontaminasyonlara, klinik vakalarda da antibiyotik dirençliliği sebebiyle ekonomik zararlara yol açmakta, sonuç olarak her açıdan sağlığımızı tehdit etmektedir.

7. ÖNERİLER

Biyofilm kontrolü için stratejiler geliştirilmelidir. Mücadele yolları güncellenmelidir. Bu mikroorganizmaların çevre adaptasyonları ve olumsuz şartlara karşı dirençleri oldukça yüksek olabilmektedir.

Stafilokoklar arasında görülen biyofilm üretme yaygınlığının temel sebepleri daha detaylı araştırılabilir.

Gıda üretim aşamalarının *S. aureus* kontaminasyonunu engelleyici önlemlerle gerçekleştirilmesi, sürekli mikrobiyolojik etken ve biyofilm varlığı için kontrollerin yapılması oldukça önemlidir.

Klinik vakalardan da izolasyon potansiyeli yüksek olan bu bakteri türü özellikle antibiyotik dirençliliği açısından tehlike arz etmektedir. Klinik vakalarda, uygun antibiyotik seçimi yapıldıktan sonra ve uygun doz, uygulama yolu, kombinasyon ve süreye karar verildikten sonra tedavi protokolleri oluşturulmalıdır.

Gıda üretimi hatlarında veya çiftliklerde, biyofilm oluşumunun önlenmesi için düzenli ve etkili temizlik faaliyetlerinde bulunulmalıdır. Biyofilmin ve biyofilm oluşumuna zemin hazırlayan nedenlerin elimine edilmesi için mekanik kuvvet, kimyasal maddeler, ultrasonik temizleme ve enzimler kullanılabilir, mücadele için yeni yöntemler geliştirilebilir.

KAYNAKLAR

- Agarwal A., J. A. (2009) Biofilm production, a marker of pathogenic potential of colonizing and commensal staphylococci. *Journal of microbiological methods*, (), 88-92.
- McGowan Jr, J. E. (1983). Antimicrobial resistance in hospital organisms and its relation to antibiotic use. *Reviews of infectious diseases*, 5(6), 1033-1048.
- Akkan, H. A., & Karaca, M. (2003). Veteriner iç hastalıklarında antibiyotiklerin kullanımı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 14(2), 72-77.
- Alçay, A. Ü. (2019). İstanbul'da satılan pişmiş tavuk dönerlerin mikrobiyolojik kalitesinin araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 49(2), 74-85.
- ALTAY, G., KESKİN, O., & AKAN, M. (2003). Identification of staphylococci isolated from chickens and the determination of their susceptibility to some antibiotics. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 27(3), 595-600.
- Atli, O. (2007). Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotik duyarlılığının incelenmesi (Master's thesis, Ankara Üniversitesi (Turkey)).
- Aydemir, D. H. (2018). Bakteriyal biyofilmlerin biyolojik önemi ve etkili kontrol stratejileri. *Turkish Journal of Life Sciences*, 3(1), 218-230.
- Aygen, B., Sehmen, E., Kayabaş, Ü., Sümerkan, B., & Doğanay, M. (1997). Erişkin yaş grubunda toplumda ve hastanede kazanılan stafilokok infeksiyonları. *Flora Dergisi*, 1, 21-6.
- Baba, T., Takeuchi, F., Kuroda, M., Yuzawa, H., Aoki, K. I., Oguchi, A., ... & Hiramatsu, K. (2002). Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. *The Lancet*, 359(9320), 1819-1827.
- Baird-Parker, A. C. (1962). An improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase positive staphylococci. *Journal of Applied Microbiology*, 25(1), 12-19.
- Bannerman, T. L. (2003). Staphylococci and other catalase positive cocci that grow aerobically. *Manual of clinical microbiology*, 384-404.
- Bastos, M. C. F., Ceotto, H., Coelho, M. L. V., & Nascimento, J. S. (2009). Staphylococcal antimicrobial peptides: relevant properties and potential biotechnological applications. *Current pharmaceutical biotechnology*, 10(1), 38-61.
- Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. Coagulase-negative staphylococci. *Clinical microbiology reviews*, 2014; 27(4), 870-926.
- Bergey, D. H. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Lippincott Williams & Wilkins
- Bremer, P. J., Fletcher, G. C., & Osborne, C. (2004). *Staphylococcus Aureus*. *New*

Zealand Institute for crop and food research limited.

- Bulger RJ, Sherris JC. Decreased incidence of antibiotic resistance among *Staphylococcus aureus*. *Ann Intern Med* 1968; 69
- Cengiz, T., Mısırlıgil, A., & Aydın, M. (2004). Tıp ve diş hekimliğinde genel ve özel mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitapevi, 45-46.
- Cr, A. (2001). Presence of *icaA* and *icaD* genes and slime production in a collection of staphylococcal strains from catheter-associated infections. *J Clin Microbiol*, 39, 2151-2156.
- Dassy, B., Hogan, T., Foster, T. J., & Fournier, J. M. (1993). Involvement of the accessory gene regulator (*agr*) in expression of type 5 capsular polysaccharide by *Staphylococcus aureus*. *Microbiology*, 139(6), 1301-1306.
- Demirtürk, N., & Demirdal, T. (2004). Antibiyotiklerde direnç sorunu. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 5(2).
- Department of Microbiology, Chhatrapati Shahuji Maharaj Medical University, Lucknow. India.
- Dhanawade, N. B., Kalorey, D. R., Srinivasan, R., Barbuddhe, S. B., & Kurkure, N. V. (2010). Detection of intercellular adhesion genes and biofilm production in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis. *Veterinary research communications*, 34, 81-89.
- Doğan, B., Palaz, M., & İzgür, M. (2018). Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* ve önemi. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 29(2), 157-161.
- Dossett, J. H., Kronvall, G., Williams Jr, R. C., & Quie, P. G. (1969). Antiphagocytic effects of staphylococcal protein A. *The Journal of Immunology*, 103(6), 1405-1410.
- E., K. (2009) Evcil hayvanlarda MRSA taşıyıcılığı *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 16(4), 45-49.
- Egemen Cevahir. (2020).SPSS ile Nicel Veri Analiz Rehberi : (1. bs). KIBELE Yayınları. İstanbul.
- Enstitüsü, T. T. S. (2001). TS 6582-1 EN ISO 6888-1. Gıda ve hayvan yemlerinin.
- Erol, İ., & İşeri, Ö. (2004). Stafilokokal enterotoksinler. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 51(3), 239-249.
- Forsgren, A., Ghetie., V, Lindmark, R., Sjoquist, J. Protein A and its exploitation. In: Easmon CSF, Adlam C (eds) *Staphylococci and staphylococcal infections*, vol 2: The organism in vivo and in vitro. London, Academic Press, 1983;429-480.
- Fux, C. A., Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Stoodley, P. (2005). Survival strategies of infectious biofilms. *Trends in microbiology*, 13(1), 34-40.
- Göçmen, H., Şükür, H., Tamakan, H., & Esenal, Ö. M. (2018). Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde hayvanlardan izole edilen stafilokok türlerinin metisilin dirençliliği üzerine retrospektif bir çalışma. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji*

Dergisi, 29(2), 87-93.

- Götz, F., Bannerman, T., & Schleifer, K. H. (2006). The genera staphylococcus and macrococcus. The prokaryotes, 5.
- Gün, İ., & Ekinci, F. Y. (2009). Biyofilmler: yüzeylerdeki mikrobiyal yaşam. *Gıda*, 34(3), 165-173.
- Günday, H. (2017). Aydın bölgesinde ürüne işlenecek çiğ sütlerde staphylococcus aureus ve enterotoksin varlığının araştırılması (Yayın No.) [Master's thesis,
- Gündoğ, D. A., Güngör, G., Güngör, C., Onmaz, N. E., & Gönülalan, Z. (2023). Çeşitli Gıda Kaynaklı Patojenik Bakterilerin Biyofilm Oluşturma Yeteneklerinin Tespitinde Kongo Kırmızısı Agar'ın Etkinliğinin Değerlendirilmesi. *Bozok Veterinary Sciences*, 4(1), 18-26.
- Güneş, E. (2011). Çeşitli kaynaklardan izole edilen Staphylococcus aureus suşlarının metisilin direncinin farklı yöntemlerle araştırılması.
- Habash, M., & Reid, G. (1999). Microbial biofilms: their development and significance for medical device—related infections. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 39(9), 887-898.
- Halkman, A. K., & Sağdaş, E. Ö. (2014). Mikrobiyoloji El Kitabı. Merck Millipore, (s 38).
- Heo, S., Lee, J. H., & Jeong, D. W. (2020). Food-derived coagulase-negative Staphylococcus as starter cultures for fermented foods. *Food science and biotechnology*, 29, 1023-1035.
- Jain, A., & Agarwal, A. (2009). Biofilm production, a marker of pathogenic potential of colonizing and commensal staphylococci. *Journal of microbiological methods*, 76(1), 88-92.
- Jamal, M., Ahmad, W., Andleeb, S., Jalil, F., Imran, M., Nawaz, M. A., ... & Kamil, M. A. (2018). Bacterial biofilm and associated infections. *Journal of the chinese medical association*, 81(1), 7-11.
- JL del Pozo and R Patel. (2007) The Challenge of Treating Biofilm-associated Bacterial Infections *TRANSLATIONAL MEDICINE* , 82(2), 204-209.
- Kartal, M. O., Ekinci, M. B., & Poyraz, B. (2021). Biyofilm yapısı ve önlenmesi. *Akademik Gıda*, 19(3), 353-363.
- Keskin, A., & Koluman, A. (2021). Hidrojen peroksit dekontaminasyon etkinliğinin belirlenmesine yönelik mikrofluidik katalaz biyosensörü: Mikrobiyal optimizasyon. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 32(2), 157-163.
- Keskin, O., Altay, G., & Akan, M. (2003). Adherence and slime production in coagulase negative staphylococci isolated from different animal sources. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 27(1), 253-257.
- Kireççi, E. (2009). Evcil hayvanlarda MRSA taşıyıcılığı. *Medical Journal of Süleyman Demirel University*, 16(4), 45-49.

- Koç Büyüktarakçı, B. (2016). Mastitisli sütlerden izole edilen stafilocokların biyofilm üretme yeteneğinin fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırılması [Master's thesis, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü].
- Kokare CR, Chakraborty S, Khobade AN, Mahadik KR. 2009. Biofilms: Importance and Applications. *Indian J Biotechnol*, 8: 159-168.
- Kronvall, G., Holmberg, O., & Ripa, T. (1972). Protein A in *Staphylococcus aureus* strains of human and bovine origin. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Section B Microbiology and Immunology*, 80(5), 735-742.
- Kutlu, S. B. (2006). Çeşitli klinik materyallerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında metisilin direnci ve E-Test İle vankomisin MIC değerlerinin araştırılması. İstanbul. Uzmanlık Tezi. TC Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği.
- Lamers, R. P., Muthukrishnan, G., Castoe, T. A., Tafur, S., Cole, A. M., & Parkinson, C. L. Phylogenetic relationships among *Staphylococcus* species and refinement of cluster groups based on multilocus data. *BMC evolutionary biology*, 2012;12(1), 1-15.
- Lowy, F. D. (1998). *Staphylococcus aureus* infections. *New England journal of medicine*, 339(8), 520-532.
- Maza, M.L., Pezzlo, M.T., Baron, E., (1997) *Color Atlas of Diagnostic Microbiology*. Mosbyyear book.inc. p: 32-39
- Moreillon, P., Que, Y. A., & Glauser, M. P. (2005). *Staphylococcus aureus: Principles And Practice Of Infectious Diseases*. Elsevier Churchill Livingstone, Philadelphia, 2321-2351.
- Muratoğlu, K., Çetin, Ö., & Çolak, H. (2015). Besin kaynaklı hastalıkların epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri J Food Hyg Technol-Special Topics*, 1(3), 1-8.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller PA. *Medical Microbiology*; 4th ed. Philadelphia: Elsevier, 2005; 203-12;221-36.
- Mutlu, G., İmir, T., Cengiz, A. T., Ustaçelebi, Ş., Tümbay, E., & Mete, Ö. (1999). *Temel ve klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 571-7..
- Nostro, A., Cellini, L., Ginestra, G., D'Arrigo, M., di Giulio, M., Marino, A., ... & Bisignano, G. (2014). *Staphylococcal biofilm formation as affected by type acidulant*. *Apmis*, 122(7), 648-653.
- O'Riordan, K., & Lee, J. C. (2004). *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides. *Clinical microbiology reviews*, 17(1), 218-234.
- Öksüztepe, G., & Demir, P. (2019). Süt işletmelerinde temizlik ve dezenfeksiyon. Atasever M, editör. *Süt ve Süt Ürünleri*, 1, 195-200.
- Özgen Top, Ö. Z. G. E. *Zor Cerrahi İnfeksiyonlarda Direnç ve Biyofilm Sorunu*.
- Özpinar, N. (2011). Erzincan tulum peynirinden izole edilen *Staphylococcus aureus* izolatlarında antibiyotik direncinin ve biyofilm oluşturma özelliğinin fenotipik

- ve genotipik olarak belirlenmesi (Master's thesis, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).
- Peacock SJ. Staphylococcus. In Borriello SP, Murray PR, Funke G. (Ed). Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections. p. 771-832, 10th Ed. Hodder Arnold, London, United Kingdom. 2005.
- Peterson, P. K., Verhoef, J. A. N., Sabath, L. D., & Quie, P. G. (1977). Effect of protein A on staphylococcal opsonization. *Infection and immunity*, 15(3), 760-764.
- Procop, G. W., Church, D. L., Hall, G. S., & Janda, W. M. (2020). *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. Jones & Bartlett Learning.
- Quinn, P. J., Markey, B. K., Leonard, F. C., Hartigan, P., Fanning, S., & Fitzpatrick, E. (2011). *Veterinary microbiology and microbial disease*. John Wiley & Sons.
- Sareyyüpoğlu, B., Müştak, H. K., Cantekin, Z., & Diker, K. S. (2013). Molecular detection of exfoliative toxin in *Staphylococcus intermedius* isolates from dogs with pyoderma.
- Simões, M., Simões, L. C., Machado, I., Pereira, M. O., & Vieira, M. J. (2006). Control of flow-generated biofilms with surfactants: evidence of resistance and recovery. *Food and Bioproducts Processing*, 84(4), 338-345.
- Stepanović, S., Ćirković, I., Ranin, L., & Šabić-Vlahović, M. (2004). Biofilm formation by *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on plastic surface. *Letters in applied microbiology*, 38(5), 428-432.
- Sutra, L., & Poutrel, B. (1994). Virulence factors involved in the pathogenesis of bovine intramammary infections due to *Staphylococcus aureus*. *Journal of Medical Microbiology*, 40(2), 79-89.
- Şahin, R. (2007). *Staphylococcus aureus* suşlarında biyofilm üretimi, biyofilm pozitif ve negatif suşların genotipik ve fenotipik karakterlerinin karşılaştırılması.
- Şeker, E., & Özenç, E. (2010). Mastitisli inek sütlerinden izole edilen koagülaz negatif stafilkokların antibiyotik dirençlilikleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21(2), 107-111.
- Tanış, H., & Gülseren, B. (2020). Parmak Peynirinden İzole Edilen *Staphylococcus* Türlerinin Virülans Faktörleri ve Antibiyotik Dirençliliği. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(2), 126-134.
- Gümüştü, N. (2019). Vankomisin, metisilin duyarlı teikoplanin dirençli bakterilerin direnç paternlerinin belirlenmesi (Yayın No.) [Master's thesis, Namık Kemal Üniversitesi]
- Tel, O., Aslantaş, Ö., Keskin, O., Yılmaz, E., & Demir, C. (2012). Investigation of the antibiotic resistance and biofilm formation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from gangrenous mastitis of ewes. *Acta Veterinaria Hungarica*, 60(2), 189-197.
- Tel, O. Y., & Keskin, O. (2011). Subklinik mastitisli ineklerden izole edilen

stafilokok suşlarının bazı virulens faktörleri ve antibiyotik direnci. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 22(1), 17-21.

Temel, A., & Eraç, B. (2018). Bakteriyel biyofilmler: Saptama yöntemleri ve antibiyotik direncindeki rolü. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 48(1), 1-13.

Tünger, A. (2004). Staphylococcus aureus: Mikrobiyoloji, patogenez ve epidemiyoloji. Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları, 1st edn. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 9-22.

Uçan, N. (2014). Subklinik mastitisli keçilerdeki koagulaz negatif Stafilokokların saptanması ve antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi (Master's thesis, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).

Ünal, D. (2011). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen Pseudomonas, Klebsiella, Staphylococcus ve Candida cinsi mikroorganizmalarda biyofilm varlığının araştırılması. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 66-67.

Yüksekdağ, Z. N., & Baltacı, N. (2013). Staphylococcus aureus türlerinde biyofilm ve biyofilm oluşumundan sorumlu genler. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 43(3), 77-83.