

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aysun SAĞLAM

**ADANA'DA SATIŞA SUNULAN DONDURMALARDA STAFİLOKOKAL
ENTEROTOKSİNLERİNİN VARLIĞININ SAPTANMASI ve *Staphylococcus
aureus* İDENTİFİKASYONU**

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2011

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ADANA'DA SATIŞA SUNULAN DONDURMALARDA STAFİLOKOKAL
ENTEROTOKSİNLERİNİN VARLIĞININ SAPTANMASI ve *Staphylococcus
aureus* İDENTİFİKASYONU**

Aysun SAĞLAM

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

Bu tez 28/01/2011 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir.

.....
Doç. Dr. Hatice Korkmaz
DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. Burhan ARIKAN
ÜYE

.....
Yrd. Doç. Dr. Fatih MATYAR
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. İlhami YEĞİNGİL
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Ç. Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FEF2009YL68

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 Sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ADANA'DA SATIŞA SUNULAN DONDURMALARDA STAFİLOKOKAL ENTEROTOKSİNLERİNİN VARLIĞININ SAPTANMASI ve *Staphylococcus aureus* İDENTİFİKASYONU

Aysun SAĞLAM

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman : Doç. Dr. Hatice KORKMAZ GÜVENMEZ
Yıl: 2011, Sayfa: 57
Jüri : Doç. Dr. Hatice KORKMAZ GÜVENMEZ
: Prof. Dr. Burhan ARIKAN
: Yrd. Doç. Dr. Fatih MATYAR

Bu çalışmada, Adana'da farklı üretim birimlerinden tüketime sunulan 78 dondurma örneğinde *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) izolasyonu ve enterotoksin varlığı araştırılmıştır.

S. aureus izolasyonu ve identifikasyonu için Klasik Metot ve TEMPO Test Prosedürü, enterotoksin saptanması amacıyla VIDAS yöntemleri kullanılmıştır.

Klasik metotla 13 örnekte (%16.7), TEMPO yöntemiyle 19 örnekte (%24.4) *S. aureus* saptanmıştır. 59 örnekte saptanan *S. aureus* düzeyi Türk Gıda Kodeksi Tebliğinde (2009/6) belirtilen sınırlar içerisinde olup halk sağlığı açısından riskli görülmemiştir.

4 örnekte minimum 8.7×10^2 kob/g maksimum 7.4×10^4 kob/g *S. aureus* saptanmış ve bu örneklerin halk sağlığı açısından risk oluşturduğu görülmüştür.

27. ve 28. örneklerde *S. aureus* izole edilememiş fakat VIDAS yöntemiyle enterotoksin saptanmıştır. Bu sonuç bir gıdanın canlı bakteri taşımadan, enterotoksin bulundurabileceğini ve gıda intoksikasyonu yapabileceğini göstermektedir.

Adana'da farklı teknolojiler ile üretilerek tüketime sunulan 78 dondurma örneğinden 6'sının (%7.69) halk sağlığı açısından önemli bir risk oluşturduğu ortaya konmuştur.

Sonuç olarak; dondurma işletmelerinde modern üretim teknolojilerinin kullanılması, personelin hijyen ve sanitasyon konularında eğitilmesi ve gıda kontrol laboratuvarlarının uygun aralıklarla işletmeleri mikrobiyolojik açıdan kontrol ederek uygunsuz durumlarda yasal prosedürü işletmesi önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Staphylococcus aureus*, enterotoksin, dondurma, TEMPO, VIDAS

ABSTRACT

MSc THESIS

DETECTION OF STAPHYLOCOCCAL ENTEROTOXIN IN ICE-CREAMS WHICH IS SALED IN ADANA AND IDENTIFICATION OF *Staphylococcus aureus*

Aysun SAĞLAM

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Hatice KORKMAZ GÜVENMEZ
Year: 2011, Pages: 57
Jury : Assoc. Prof. Dr. Hatice KORKMAZ GÜVENMEZ
: Prof. Dr. Burhan ARIKAN
: Asst. Prof. Dr. Fatih MATYAR

In this study, *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) isolation and enterotoxin existances are investigated through 78 ice-cream samples which are supplied with different manufacturers in Adana.

Classical method and TEMPO test procedure is used for *S.aureus* isolation and identification VIDAS procedure is used for enterotoxin determination.

S.aureus is determined in 13 samples (%16.7) using classical method and in 19 samples (%24.4) using TEMPO test *S.aureus* determined in 59 samples is good enough the limits clarified in Turkish Food Codex declaration (2009/6) and found not risky for the public health.

In 4 samples minimum 8.7×10^2 kob/g and maximum 7.4×10^4 kob/g *S.aureus* are determined. These samples are found to be risky for the public health.

In 27th and 28th samples, *S.aureus* could not be isolated, but enterotoxin is determined with VIDAS method. This result that food products can have enterotoxin and can make food intoxication without carrying live bacteria. 6 samples out of 78 samples (%7.69) of ice-cream produced using different Technologies in Adana, are determined to be risky for the public health.

As a result, using modern production technologies in the ice-cream companies, education of personnel's hygiene and sanitation subjects, and controlling microbiologically of production companies with appropriate intervals of time, by the foodstuff control laboratories, and applying the legal procedure in the inappropriate conditions, have big importance.

Key Words: *Staphylococcus aureus*, enterotoxin, ice-cream, TEMPO, VIDAS

TEŞEKKÜR

Lisans ve Yüksek lisans öğrenimimin her aşamasında bana yol gösteren, araştırmamın gerçekleştirilmesi ve değerlendirilmesinde katkılarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Hatice KORKMAZ GÜVENMEZ'e, jüri üyesi olarak tezimi değerlendiren Sayın Prof. Dr. Burhan ARIKAN'a, Sayın Yard. Doç. Dr. Fatih MATYAR'a, değerli fikirleriyle katkıda bulunan Sayın Yard. Doç. Dr. Işıl VAR'a ve daima beni olumlu yönlendiren hocam Sayın Prof. Dr. Cengiz DARICI'ya,

Çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen Adana İl Kontrol Laboratuvarı Müdürü ve Müdürüm Zir. Yük. Müh. Hasan KESKİN'e, iř arkadaşlarım Uzm. Biyolog Ayřegül AKTÜRE'ye, Vet. Hek. Enis ÖZ'e, Zir. Yük. Müh. Aysun GEDİK'e, Zir. Yük. Müh. Seher KUYUCU'ya, Zir. Yük. Müh. Dilek ÖZCAN'a, Ferhat ÇELİK'e, Gıda Yük. Müh. Erhan YEDİKARDAŐ'a, Biyolog Ali TOPAL'a,

Tez çalışmamın başından beri değerli fikirleri ve teknik yardımlarını esirgemeyen Biyolog Mehmet BAYSAL, Uzm. Biyolog Oya DURMUŐ ve Müh. Yücel İŐKEN'e,

Eęitimimin her aşamasında maddi ve manevi katkıda bulunan, sevgili eşim Faruk SAğLAM'a, değerli annem Nezaket AVCU ve babam Hacı Ahmet AVCU'ya, ablalarım Arzu ERİKCI ve Mak. Yük. Müh. Gülřen GÜZEL'e ve tabiki biricik kardeşim pilot Yakup AVCU'ya,

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ	1
1.1.Tarihçe.....	1
1.2.Stafilokokların Klasifikasyonu ve Genel Özellikleri.....	2
1.3.Stafilokokların Virulens Faktörleri.....	5
1.3.1.Hücre Yapısı.....	5
1.3.2.Stafilokokal Enterotoksinler.....	8
1.3.3.Stafilokokal Enterotoksinlerin Genel Özellikleri.....	9
1.4. Stafilokokal Entertoksinlerin Oluşumuna Etki Eden Faktörler.....	10
1.4.1.Kontaminasyon Düzeyi.....	10
1.4.2.pH ve NaCl.....	11
1.4.3.Sıcaklık.....	11
1.4.4.Rekabetçi Özellik.....	11
1.5.Stafilokokal Enterotoksinleri Saptama Yöntemleri.....	11
1.6.Immunolojik Yöntemler.....	12
1.7. <i>Staphylococcus aureus</i> ve Gıda Zehirlenmesi.....	13
1.8.Stafilokokal İntoksikasyonların İnsanlarda Oluşturduğu Semptomlar.....	14
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	15
3.MATERYAL ve METOD.....	23
3.1.Materyal.....	23
3.1.1.Bakteri İzolasyonunda Kullanılan Besiyerleri ve Kitleri.....	23
3.1.1.1.Pepton Water (Oxoid CM0009).....	23
3.1.1.2.Maximum Recovery Diluent (Oxoid CM0733).....	23
3.1.1.3.Baird Parker (BPA) Agar Base (Oxoid CM0275).....	24

3.1.1.4.Brain Heart Infusion (BHI) Broth (Oxoid CM0225).....	25
3.1.1.5.TEMPO STA Besi Yeri ve Test Kitleri.....	26
3.1.1.6.VIDAS SET2 Test Kitleri.....	26
3.1.1.7.Test Suşu (Kontrol suşu).....	27
3.1.2.Kullanılan Ekipmanlar.....	27
3.2.METOD.....	28
3.2.1.Katı Besiyerine Ekim ve Kolonilerin Değerlendirilmesi (Klasik yöntem).....	28
3.2.2.Tempo Test Prosedürü İle Koagulaz Pozitif Stafilokokların Saptanması.....	29
3.2.3.Stafilokokal Enterotoksinlerin Belirlenmesi.....	30
3.2.4.Tüpte (BHI) Koagulaz Test.....	30
4.BULGULAR ve TARTIŞMA.....	31
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	41
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ.....	57

ÇİZELGELER DİZİNİ	SAYFA
3.1.VIDAS SET2 Reaktif Stribinin Tanımı	26
3.2.VIDAS SET2 Kit içeriği (30 Test)	27
4.1.78 Dondurma örneğinde Klasik Metod, TEMPO ve VIDAS sonuçları	32

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

1.1. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 Baird Parker Besiyerindeki kolonizasyonu.....	2
1.2.Stafilokok'ların gram boyama görüntüsü.....	3
1.3. Stafilokok'ların mikrografı.....	4
1.4.VIDAS Bakteri tanılama sistemi.....	13
4.1.Klasik Metod ve TEMPO ile <i>Staphylococcus aureus</i> sayısı.....	34

1. GİRİŞ

Günümüzde barsak rahatsızlıklarına neden olan bakterilerden bazılarının enfeksiyon yolu ile mi, yoksa intoksikasyon şeklinde mi etkili oldukları üzerine tartışmalar halen sürmektedir. Ancak gıdalar üzerinde uygun koşullar yakaladıklarında çoğalan, toksin üreten ve ürettikleri toksinlerin gıda yolu ile vücuda girerek intoksikasyona neden olduğu kesin bilinen iki bakteri türü vardır. Bunlardan biri *Clostridium botulinum*, diğeri ise *Staphylococcus aureus*'tur (Tunail, 2000).

Stafilokoklar insan ve hayvanlarda birçok enfeksiyonun ve insanlarda oluşabilen stafilokokal intoksikasyonların etkenidirler. Stafilokokal enfeksiyonlar, koagulaz pozitif ve koagulaz negatif stafilokoklar tarafından oluşturulabilmektedir. Bununla beraber stafilokokal gıda intoksikasyonunun predominant etkeni *Staphylococcus aureus*'tur (Oliver ve ark, 2005; Kılıç, 2007).

Epidemiyolojik araştırmalar genel gıda zehirlenmesi olguları içerisinde en önemlilerinden birisinin, stafilokok türleri ve çoğunlukla *Staphylococcus aureus* tarafından oluşturulan enfeksiyonlar olduğunu göstermiştir (Niskanen ve ark, 1978; Wieneke ve ark, 1993).

1.1. Tarihçe

Stafilokoklar ilk kez 1878 yılında Robert Koch tarafından tanımlanmış, 1880 yılında Ogston tarafından "mikrokoklar, aktiviteleri düşük ve yayılma alanları sınırlı olduğunda yüzeysel süperatif inflamasyona yol açan, ancak etkinlikleri daha fazla olursa ve yayılma imkanı bulurlarsa septisemi ve pyemi oluşturan mikroorganizmalardır" şeklinde patojen olduğu vurgulanmıştır. Rosenberg 1884'te stafilokokları saf kültür olarak ilk üreten ve onların karakteristikleri üzerinde ilk laboratuvar çalışmalarını yapan kişidir. Stafilokokları bir soy olarak düşünmüş ve katı ortamlarda beyaz ve portakal renkli kolonilerin ürediğini gözlemlemiştir. Bu soyun alt türleri olarak pigmentasyona dayalı olarak iki tip stafilokok tanımlamıştır. Portakal renkli koloni oluşturan mikroorganizmaları *Staphylococcus pyogenes aureus*, beyaz koloni oluşturanları ise *Staphylococcus pyogenes albus* olarak

adlandırmıştır. Sonradan limon renkli koloni pigmentasyonu veren *Staphylococcus pyogenes citreus* eklenmiştir. Winslow 1920 yılında, stafilokokları *Micrococaceae* familyasına dahil etmiştir. Evans'ın glikozu anaerobik fermente edebilme yeteneklerini 1957 yılında belirlemesi ile *Staphylococcus* isminde ayrı bir soy olarak sınıflandırılmıştır. Daha sonraları Winslow ve Winslow tarafından ikinci tür olan *Staphylococcus epidermidis* öne sürülmüştür. *S. aureus* 1972'ye kadar bilinen tek türdür ve *Staphylococcus epidermidis* ile arasındaki temel fark, koagulaz üretimine dayanmaktadır. Üçüncü tür olan *S. saprophyticus* 1974'te stafilokoklara eklenmiştir. Tür sayısı 1980'de 13, 1984'te ise 20 olmuştur. *S.intermedius* ve *S. hyicus* hariç yeni türlerin tamamı koagulaz negatiftir (Şardan, 2000; Kılıç, 2007).



Şekil 1.1 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Baird Parker Besiyerindeki kolonizasyonu (<http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/920020075.pdf>)

1.2. Stafilokokların Klasifikasyonu ve Genel Özellikleri

Stafilokoklar Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin son baskısında *Staphylococcaceae* familyasında yer alırlar (Kılıç, 2007).

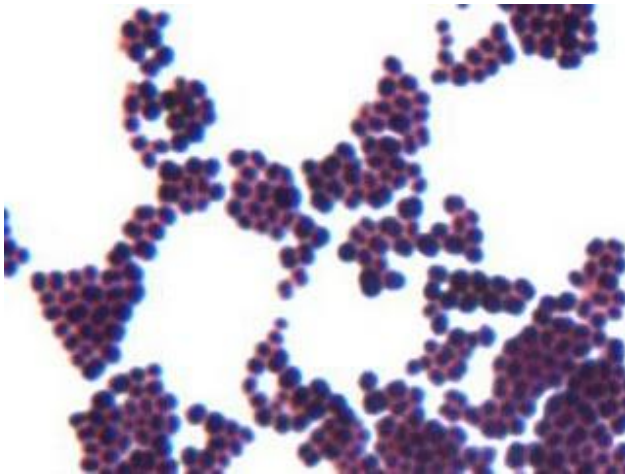
Staphylococcus türleri Gram pozitif, fakültatif anaerob, spor oluşturmayan, hareketsiz ve katalaz pozitif bakterilerdir. Bu cins içinde 28 tür ve 32 alt tür bulunmaktadır. Familyada yer alan *Staphylococcus aureus*, başta sıcaklık uygulamaları olmak üzere mikroorganizmaların idirgenmesine yönelik tüm uygulamalara karşı yüksek bir duyarlılık göstermesine rağmen, insanlarda zehirlenmeye neden olan

sıcaklığa dayanıklı enterotoksinler üretmektedirler. Stafilokokal enterotoksinler (SE) molekül ağırlığı 26900-29600 Da arasında değişim gösteren, yapısında fazla miktarda lizin, tirozin, aspartik asit ve glutamik asit bulunduran tek zincirli proteinlerdir (Milci ve Yagın, 2006).

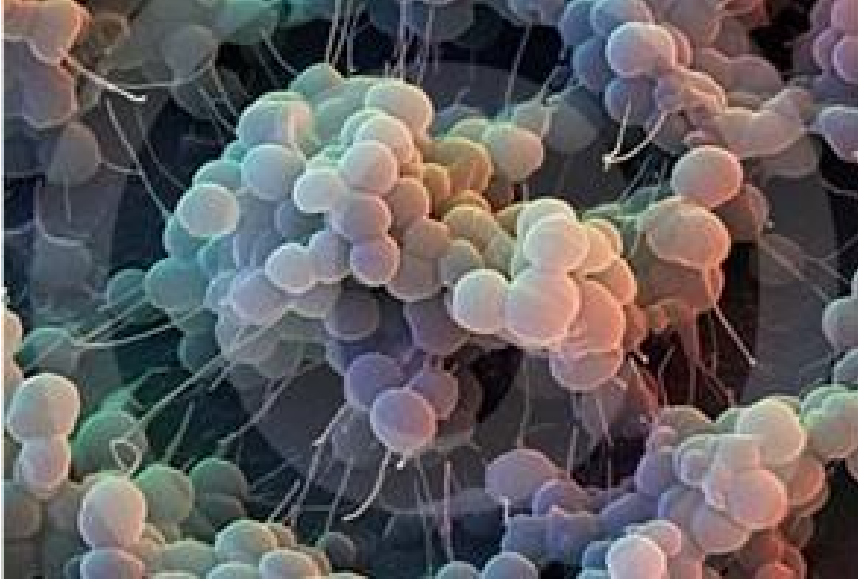
Birçok enfeksiyona (cilt ve doku enfeksiyonları, bakteriyemi, toksik şok sendromu, endokardit gibi) ve gıda zehirlenmesine neden olan *Staphylococcus aureus* suşları için doğal rezervuar insandır (Demir ve ark, 2003).

S. aureus sağlıklı insanların derisinde % 50-30 ve burun deliklerinde % 20 oranında saptanabilen saprofitik bir bakteridir (Tomi ve ark, 2005).

Stafilokoklar düşük oranda Guanin ve Sitozin (G+C) içerir. G+C içeriği % 30-39 mol arasındadır. Bununla beraber *Micrococcus* cinsi üyeleri 568-74 mol oranı arasında G+C içerirler. Stafilokokal hücre duvarı yapısı tipik Gram pozitif mikroorganizma yapısında olup kalındır (30-60 nm). *S. aureus*'un hücre duvarı kalınlığı 120 nm'nin üzerinde olabilir. Hücre duvarı peptidoglikan, teikoik asit ve proteinlerden oluşmuştur. Bu komponentlerden proteinler ökoryatik hücrelere bağlanma ve adezyon için önemli fibrinonektin, fibrinojen, laminin ve kollagen içerirler. Adezyon proteinlerinin bağlanması ile dokulara bakteriyel tutunma mekanizması gerçekleşmiş olur. Antijenik proteinlerden en iyi çalışılmış olanı Protein A'dır ve *S. aureus* suşlarının %90-98'inde mevcuttur (Aktaş, 2006).



Şekil 1.2. Stafilokok'ların gram boyama görüntüsü



Şekil 1.3. Stafilokok'ların mikrografı

Stafilokoklar mezofil mikroorganizmalardır. *S.aureus* 0.5-1.5 µm çapında, sferik veya oval şekilde, Gram pozitif, hareketsiz, sporsuz, genellikle kapsülsüz, fakültatif anaerob, 37°C'de optimal olarak üreyebilen, katalaz pozitif, oksidaz negatif bir mikroorganizmadır. Toksin oluşturmaları için gerekli minimum ve maksimum sıcaklık dereceleri biraz daha yüksek olup 10-48°C'dir (Tunail, 2000). Hücreler tek veya çiftler halinde veya üzüm salkımı benzeri form oluştururlar (Carey ve ark, 2004; Madigan ve ark, 2009).

Stafilokoklar, sporsuz bakteriler içinde çevre şartlarına ve dezenfektanlara en çok dayanan, kültürlerde 4°C'de 2-3 ay, -20°C'de 3-6 ay dayanma süresine sahip mikroorganizmalardır. 60°C'deki sıcaklığa 30 dakika dayanabilirler. Antibiyotiklere karşı çok çabuk direnç oluştururlar. Ürettiği penisilinaz etkisiyle penisilin etkisini ortadan kaldırır (Ekici ve ark, 2008).

Koagülaz üretimi, patojen *S. aureus* suşlarının önemli bir kriteridir fakat kesin belirleyici bir faktör değildir. Koagülaz üretenler; *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. aureus* subsp. *anaerobius*, *S. delphini* ve *S. schleiferi* subsp. *coagulans*'tır. Gıdalar için önemli olan grup koagülaz pozitif olan ve stafilokokal gıda zehirlenmelerine neden olan enterotoksijenik stafilokokların yer aldığı gruptur (Tunail, 2000).

1.3. Stafilokokların Virulens Faktörleri

1.3.1. Hücre Yapısı

Stafilokokların genomu yaklaşık 2800 baz çiftli sirküler bir kromozom ile profajlar, plazmidler ve transpozonlardan oluşur. Bakterinin virulansından ve direncinden sorumlu olan genler diğer *S. aureus* suşlarına, başka stafilokok türlerine ve farklı cins Gram-pozitif bakterilere en sık aktarılma yolu transdüksiyondur. Kuru ağırlığının yaklaşık %50'sini peptidoglikan tabaka oluşturmaktadır. Peptidoglikan tabaka N-asetilglikozamin ve N-asetilmuramikasit polimerlerinden oluşur. Bu tabaka mikroorganizmaların ozmotik stabilitesini sağlar ve bakteriye şeklini verir. Ayrıca insanda Gram-negatif bakterilerin endotoksinlerine benzer aktivite gösterir, yani makrofajlardan sitokin salınımını uyarır. Sadece Gram-pozitif bakteri duvarında bulunan teikoik asit mukozalarda bulunan özgül reseptörleri (fibronektin, fibrinojen, laminin, trombospondin, vitronektin, elastin, sialoprotein ve kollajen) ile birleşerek stafilokokların konağa tutunmasını sağlar. *S. aureus* klinik izolatlarının %90'ından fazlasında polisakkarid yapıda mikrokapsül bulunmaktadır. Bu kapsül bakteriyi fagositozdan korur ve konak hücrelerine özellikle kateter gibi yabancı cisimlere tutunmasını sağlar (Öncül, 2006).

Stafilokokların hücre duvarları lizozime dayanıklı, lysostaphine duyarlıdır. *C. perfringens*, *C. botulinum* ve *B. cereus*'tan farklı olarak spor oluşturmazlar (Loir ve ark, 2003). *S. aureus* spor oluşturmadığı halde vücut dışında uzun süre canlılığını koruyabilen tek insan patojenidir (Tükel ve Doğan, 2000).

S. aureus suşları, etkenin konakçı hücrelerinde kolonize olmasına katkıda bulunabilen hemolizinler, nükleazlar, proteazlar, lipazlar, hiyaluronidaz ve kolajenaz'ı da içeren enzimler ve sitotoksinleri üretebilirler. Bu komponentlerin ana görevi, lokal konakçı dokularını mikroorganizmanın üreyebilmesi için uygun hale getirmektir. Bazı suşlar ilave olarak Toksik Şok Sendrom Toksini (TSST) ve enterotoksinleri içeren bir veya daha fazla ekzoprotein üretebilirler (Dinges ve ark, 2000).

Stafilokokal protein-A (SpA), *S. aureus* hücre duvarında bulunan gruba özel

bir antijen olan protein-A 42 kDa ağırlığında olan küçük bir proteindir. Stafilokoklarda, ortama salınan serbest, hücreye bağlı ve hücre dışı olmak üzere üç tip SpA bulunmuştur. Üreme sırasında besi yerine salgılanan protein-A, bakterinin fagositozunu önlemektedir. Protein-A, *S. aureus*'un hücre duvarı komponentlerinden birisi olup, büyük bir kısmı peptidoglikan yapıya kovalent olarak bağlanmıştır. Bir kısmı ise hücre dışı ortama salınmaktadır. SpA kompleman aktive eder, antifagositik, kemotaktik, mitojenik etkileri vardır. SpA'nın koagulaz ve nükleaz aktiviteleri ile büyük oranda korelasyon göstermesi, antifagositik etki yaratması ve antibiyotik duyarlılığını azaltması gibi özellikleri patojenite kriteri olacağına işaret etmektedir (Biçer, 2009).

Alfa (α) hemolizin, *S. aureus* insan suşlarının ana hemolizindir. En güçlü hasar proteini olup, 33 kDa ağırlığındadır. Tavşan alyuvarları için hemolitik aktivitesi en fazla olmasına karşın, insan alyuvarlarına fazla bir etkisi yoktur. İnsan trombosit ve makrofajları ile doku kültürleri üzerine hemolitik etkinliği vardır. Monositler ise bu toksine dirençlidir. Antijeniktir. Anti toksini ile nötralize olur (Biçer, 2009).

Beta (β) hemolizin, koyun eritrositlerini lizi eder ancak tavşan eritrositleri için hemolitik değildir. Hastalıklardaki rolü açık değildir (Dinges ve ark, 2000).

Gama (γ) hemolizin, insan, tavşan ve koyun alyuvarları duyarlı iken, at ve kuş alyuvarları dirençlidir. Gama hemolizini hemen hemen tüm *S. aureus* suşları sentezlemektedir (Dinges ve ark, 2000).

Delta (δ) hemolizinin memelilerin eritrositleri ve diğer hücreleri üzerine lizi edici etkisi vardır ayrıca dermonekrotik etkisi de saptanmıştır. İmmünolojik olarak alfa ve beta toksinden ayrılır. Litik spektrumunu oldukça genişdir. İnsan, tavşan, koyun ve maymun alyuvarlarını lizi eder. Mol ağırlığı 103 kDa olup, eritrosit, lökosit, makrofaj, lenfosit ve trombositleri hasara uğratan bir proteindir. Alfa ve beta toksin koagulaz pozitif ve insanda hastalık yapan stafilokok suşlarında predominant olarak bulunur. Koagulaz pozitif stafilokokların %95'inde bunlardan biri veya diğeri bulunurken, %82'sinde her ikisi de birlikte bulunabilmektedir (Cengiz, 1999; Dinges ve ark, 2000).

Non-hemolitik lökositidin (Panton-Valentine: P-V Lökositidini), insan ve tavşan

lökositleri ile makrofajları etkiler. Toksin elektroforetik olarak birbirinden ayrı **F** (Fast-hızlı) ve **S** (Slow-yavaş) olmak üzere iki protein komponentinden oluşmuştur. Her iki komponent de antijeniktir ve formaldehitte toksoide dönüştürülebilir. Lökosidin lökositleri harap ettiğinden ve fagositozu engellediğinden, virulansda rolü olan bir elemandır (Bozkurt, 2009).

Epidermolitik toksin (Eksfoliyatif Toksin), deri yüzeyinde, genellikle çocuklarda değişik lezyonlara neden olur. İnsanlarda oluşturduğu hastalık SSSS (Staphylococcal Scalded Skin Syndrome) olarak adlandırılmıştır. Epidermisin stratum granulosum tabakasında çeşitli oranlarda çatlaklarla karakterizedir. ETA (Eksfoliyatif Toksin-A) ve ETB (Eksfoliyatif Toksin-B) olarak iki serotipi vardır. ETA kromozomal, ETB plazmid tarafından kodlanır (Aygen, 2008).

Bazı suşlar stafilokokal pirojenik ekzotoksin C ve stafilokokal enterotoksin F olarak da adlandırılan TSST (Toksik Şok Sendromu)'ni salgırlar. Süperantijenik yapıda olup stafilokokal pirojenik toksin super antijenler ailesinde yer alır. Yüksek ateş, döküntü, kusma ishal, artritise ve bazen ani çocuk ölümlerine neden olabilmektedir. ABD'de 1980 yılının Ocak ayında, bu hastalığın sıklıkla kadınlarda, esas olarak menstrüasyon sırasında başladığı fark edilmiştir. Menstrüel toksik şok sendromu 1980 ve 1981'de ABD'de epidemiler yapmış ve o tarihlerde piyasaya yeni çıkmış olan emiciliği yüksek tamponlarla ilişkili olduğu anlaşılmıştır. Piyasadan bu tamponların çekilmesiyle hastalığın insidansı azalmıştır (Madigan ve ark, 1997; Kutlu, 2006; Madigan ve ark, 2009).

Koagulaz, ekstraselüler bir proenzimdir. *Coagulase-Reacting Factor* (CRF) ile birleşerek aktif duruma geçer plazmayı pıhtılaştırır. *S aureus* için standart belirleyici olan koagulazla, patojen olan/olmayan stafilokok ayrımı yapılır. Koagulaz pozitif stafilokokların üzerinde oluşan kalın fibrin tabakasının, mikroorganizmayı fagositoza karşı koruyarak, patojenliğe katkı yaptığı ileri sürülmektedir. Patojen stafilokoklar genellikle, bağlı (clumping factor: CF) kümeleştirici faktör, serbest (stafilokinaz) koagulazlarına sahiptir. Serbest koagulaz ve CF immunolojik olarak birbirinden farklı olduğu gibi, etki mekanizmaları da birbirinden farklıdır. Bu antijenlerin farklı enzimatik mekanizma ile plazmayı pıhtılaştırdıkları belirlenmiştir. Koagulaz filtrelerden geçebilen, sıcaklığa dirençli bir enzimdir. Serbest koagulaz

protein yapısındadır ve proteolitik enzimlerle, kolaylıkla, inaktive edilir. Antijenik olarak farklı dört tipi vardır. Bu enzim fibrinojenin fibrine dönüşmesi ile plazmanın pıhtılaşmasına neden olan ve normal olarak plazmada bulunan koagülazı etkileyen faktörü (CRF) aktive etmektedir. CF ise stafilokokların hücre yüzeyinde meydana gelir ve serbest bırakılmaz. Fibrinojenin fibrine dönüşümü ile hücre yüzeyinde fibrin presipitasyonu meydana gelir ve bunun sonucu olarak stafilokoklar aglütinasyon ve kümeleşmeye uğrar. Bu enzimin patojenitedeki rolü, fagositozu önlemek üzere, bakterinin üzerine fibrin örtmesinden ileri gelmektedir. Her iki koagülaz da insan serumunu pıhtılaştırabilir (Cengiz, 1999).

Stafilokoklar bazı antibiyotiklere direnç geliştirmişlerdir. Alexander Fleming'in 1929 yılında Penisilini bulmasını takiben 1945 yılında bu antibiyotiğin kullanımına başlanması ile birlikte stafilokokal enfeksiyonların tedavisinde önemli başarılar sağlanmıştır. Bununla birlikte, penisilinin çok yaygın kullanımı sonucunda, penisilini parçalayan stafilokok türleri ortaya çıkmıştır. Stafilokoklarda penisilin direnci 1940'lı yılların ortalarından itibaren gittikçe artmıştır, 1950'li yıllarda penisilinin yanı sıra tetrasiklin, eritromisin ve streptomisin gibi antibiyotiklere de direnç gelişimi gözlenmiştir. 1960 yılında stafilokoklar tarafından üretilen penisilini parçalayan enzimlere (penisilinaz) dayanıklı semisentetik bir penisilin olan metisilin geliştirilmiştir. Bu sayede, stafilokok enfeksiyonlarının tedavisinde ikinci büyük başarı kazanılmıştır. Ancak henüz bu başarının üzerinden henüz bir yıl geçmişken (1961), stafilokoklarda metisilin direnci tanımlanmış ve 1970'li yılların sonu ile 1980'li yılların başlarından itibaren de MRSA (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*) suşlarında çoklu antibiyotik direnci ortaya çıkmaya başlamıştır (Damon ve Courvalin, 1999; Gülay, 2002; Namıduru ve Karaoğlan, 2003; Özkütük ve ark, 2003; Specht ve ark, 2006; Sipahi ve ark, 2007; Bozkurt, 2009; Henriques ve ark, 2010).

1.3.2. Stafilokokal Enterotoksinler

S. aureus'lar tarafından üretilen enterotoksinler dünyadaki gıda zehirlenmelerinin en yaygın sebebidir (Rasooly ve Rasooly, 1998; Gilligan ve ark, 2000).

Enterotoksinler Stafilokokların 10^6 kob/g veya daha yüksek sayıya ulaşması sırasında sentezlenen bir ekzotosindir (Cowell ve ark, 2002; Sağun ve Alişarlı, 2003).

Stafilokokal enterotoksinler (SE), emetik toksinlerdir ve insanlardaki stafilokokal gıda zehirlenmeleri olgularının etkenidirler. SE'ler biyolojik aktiviteleri ve yapısal ilişkileri bakımından pirojenik toksin süperantijen ailesinin üyeleri olarak klasifiye edilmiştir. SE'ler antijenite bazında temel olarak beş serotipe ayrılırlar (SEA, SEB, SEC, SED, SEE). Son yıllarda yeni tip SE'lerin mevcudiyeti rapor edilmiştir (SEG, SEH, SEI, SEJ, SEK, SEL, SEM, SEN, SEO) (Omoe ve ark, 2002). Ayrıca yeni tanımlanan gen sekansları ile *sek*, *sel*, *sem*, *sen*, *seo*, *sep*, *seq*, *ser*, *seu* genlerinin yapıları belirlenmiştir (Leterle ve ark, 2003; Omoe ve ark, 2003; Orwin ve ark, 2003). Yeni tespit edilen bu genlerle ilgili yapılardan, tam olarak test edilememekle birlikte bazılarının emetik aktivitesinin olmadığı belirtilmiştir (Omoe ve ark, 2003).

1.3.3. Stafilokokal Enterotoksinlerin Genel Özellikleri

Enterotoksinler, TSST-1 ve Eksfoliyatif toksinler birer süper antijendir. Süperantijen terimi, ilk kez 1989 yılında, normal peptid veya protein antijenlerden bazı farklı özellikleri olan bakteriyel kaynaklı antijenik yapılar için kullanılmıştır. Normal antijenik yapılar, antijen sonucu hücreler üzerindeki doku uygunluk proteinlerine bağlanarak, T lenfosit reseptörleriyle kompleks meydana getirirler. Böylece, göreceli olarak az sayıda T lenfosit aktive olur. Süperantijenlerin normal antijenik yapılardan en önemli farkı, çok daha fazla sayıda T lenfosit aktive edebilmeleridir. Süperantijen özelliği gösteren mikrobik antijenler ile süperantijenlerin normal immün cevaptaki ve çeşitli hastalıklardaki rolü giderek daha iyi anlaşılmaktadır. Süperantijen, normal antijen-doku uygunluk kompleksi (MHC=Major Histocompatibility Complex) tarafından aktive edilen T lenfositlerden 10000 kat fazla sayıda T lenfosit aktive edebilen antijenik yapılarıdır. Süperantijenler her 10 T lenfositten birini aktive edebilme yeteneğine sahiptir (Yücel ve Yücel, 1996).

Stafilokokal enterotoksinler, tek zincirli, düşük moleküler ağırlığa sahip (26-34 kDa), bütün üreme fazları boyunca üretilebilen ancak temel olarak ekspanansiyel fazın ortasında veya sonunda üretilebilen proteinlerdir. Pepsin, Tripsin, Kimotripsin, Rennin ve Papain gibi proteolitik enzimlere dirençli ve relatif olarak sıcaklığa dayanıklıdır (Balaban ve Rasooly, 2000).

Sıcaklığa dayanıklılık SE'lerin en önemli özelliği olup gıdalardaki enterotoksinlerin pişirme, pastörizasyon veya diğer ısı uygulamaları ile tamamen inaktive edilemedikleri bildirilmektedir. SEA ve SEB'nin 100°C'de 90 dakikada, 120°C'de 30 dakikada, SEC'nin 100°C'de 180 dakikada, 120°C'de 60 dakikada tamamen inaktive olduğunu bildirilmiştir (Erol ve İşeri, 2004).

Gıda zehirlenmelerinde en yaygın enterotoksin SEA'dır (Tsai ve Li, 2008). Stafilokokal enterotoksinler gamma radyasyonuna ekstrem olarak direnç gösterirler. Stafilokokal enterotoksin kaynaklı zehirlenmeler 30 dk. ile 8 saat içerisinde ortaya çıkmaktadır. Bulgular; diyare, kusma, mide bulantısı, karın ağrıları, kramplar ve bitkinlik şeklinde kendini göstermektedir (Gomes ve ark, 2007).

1.4. Stafilokokal Enterotoksinlerin Oluşumuna Etki Eden Faktörler

1.4.1. Kontaminasyon Düzeyi

S. aureus'un kontamine gıdada 1.0 µg'dan daha az oluşturduğu toksin miktarı stafilokokal intoksikasyon semptomlarının görülmesine neden olur. Zehirlenmeye neden olan toksin miktarı tartışma konusu olup toksin tipi minimal doz üzerinde etkilidir. Bu toksin düzeyine *S. aureus* sayısı 100.000 kob/g-mL'den fazla olduğunda ulaşır. Bir diğer deyişle *S. aureus* sayısı 5×10^5 kob/g-mL olan gıdalar kesinlikle risklidir. Bununla beraber gıdadaki düşük *S. aureus* sayısı gıdanın kesinlikle güvenli olduğunu göstermez (Tükel ve Doğan, 2000).

1.4.2. pH ve NaCl

Enterotoksinlerin oluşumu için optimum pH 6.0-7.0 arasındadır. SEB oluşumu ile karşılaştırıldığında SEA oluşumu pH değişikliklerine daha toleranslıdır. %5'lik NaCl konsantrasyonları tuzsuz ortamlara oranla *S. aureus* üremesini arttırırken, %7.5 ve %10 düzeylerindeki tuz konsantrasyonu üremeyi kısmen geciktirir (Erol ve İşeri, 2004).

1.4.3. Sıcaklık

S. aureus'un üremesi için gerekli optimum sıcaklık 37°C iken enterotoksin üretimi için optimum sıcaklık 40-45°C arasında değişmektedir (Erol ve İşeri, 2004).

1.4.4. Rekabetçi Özellik

Staphylococcus'lar karışık kültürlerde diğer mikroorganizmalar tarafından kolay baskılanır. *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* önemli baskılayıcı bakteriler olarak bildirilmektedir. Bunun yanında *E. coli*, *Pseudomonas*, *Serratia* ve *Aerobacter*, *S. aureus*'un gelişimi üzerine baskılayıcı etki gösterirler (Ekici ve ark, 2008).

1.5. Stafilokokal Enterotoksinleri Saptama Yöntemleri

Gıdalarda enterotoksinlerin saptanması, insanlarda hastalık oluşumunu gerektirecek enterotoksin miktarı ile orantılıdır. Bu doz 100-200 ng'dır (FDA, 2001).

Stafilokokal enterotoksinlerin saptanması üzerine immunolojik ve serolojik birçok analiz yöntemi geliştirilmiştir. İmmunolojik analiz yöntemleri duyarlı ve spesifik olup enterotoksinlerin spesifik olarak identifiye edilmesi esasına dayanır. Bununla beraber karakterize edilmemiş bazı stafilokokal enterotoksinlerin saptanması sadece maymunlardaki emetik aktivitelerinin oluşturulması temeline

dayanır. Genç Rhesus maymunlarının %50'sinde 5-20 µg miktarındaki toksin emetik reaksiyon oluşturabilir (List Biological, 1999).

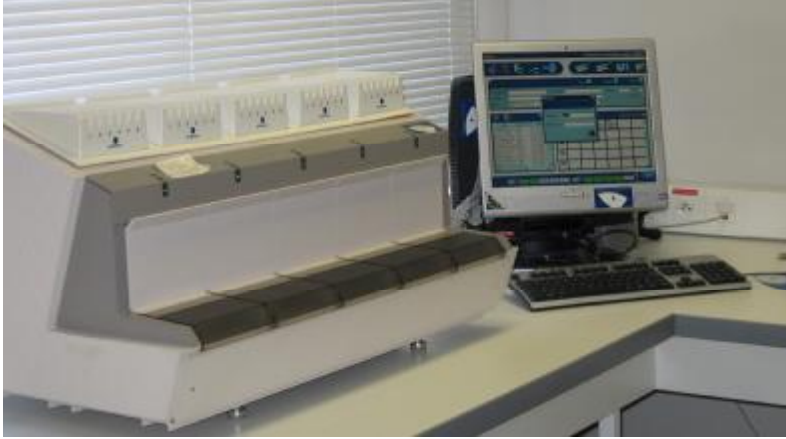
1.6. Immunolojik Yöntemler

RIA (Radioimmunoassay), kültür filtratları ve gıda ekstraktlarında enterotoksinlerin saptanması için geniş oranda kullanılmıştır. Bu metot antikor moleküllerin üzerindeki bağlanma bölümlerine, örneklerde işaretlenmemiş bu toksin ile standart radyoaktif işaretlenmiş toksinin yarışması esasına dayanır. Genel olarak hızlı (3-4 saat) ve 1-10 ng/g düzeyinin altında toksinleri saptayabilen bir yöntemdir. Dezavantajları ise non-spesifik reaksiyonlar, yüksek oranda purifiye enterotoksin gerektirmesi, antijenik epitopların işaretlenmesi esnasında mümkün olabilecek advers etkiler, radyoizotopların kısa yarılanma ömrü, radyonüklidlerin insan sağlığına zararları ve pahalı saptama cihazlarına gereksinim olmasıdır (Brett, 2006).

ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) veya EIA (Enzyme Immuno Assay) uzun zamanlardan beri antijen ve antikorların saptanmasında kullanılmıştır. ELISA, RIA'ya benzer olarak duyarlı ve hızlıdır. Enzim aracılığı ile kromojenik substratların katalizlenmesi ve visuel olarak değerlendirilmesi esasına dayanır. ELISA testi için gerekli ekipman birçok laboratuarda bulunabilir ve enzim-antikor konjugatları aktivitelerini kaybetmeden -20° C'de uzun bir periyotta saklanabilir (Çırak, 1999; Brett, 2006).

Son zamanlarda enterotoksinlerin saptanması için ticari test kitleri üretilmiştir. RIDASCREEN, TEVRA, TRANSIA, VIDAS, SET-EIA ve RPLA gibi ticari kitler çeşitli gıdaların analizlerinde kullanılmaktadır (Brett, 2006).

Vernozy-Rozand ve ark (2004), VIDAS SET, VIDAS SET2 ve TRANSIA kitlerini karşılaştırdıkları bir çalışmada, SEA, SEB, SEC2, SED ve SEE ilave ettikleri gıdaları analiz etmişler ve VIDAS SET2'nin VIDAS ve TRANSIA'ya oranla daha yüksek oranda spesifik ve duyarlı olduğunu saptamışlardır.



Şekil 1.4. VIDAS Bakteri tanılama sistemi

1.7. *Staphylococcus aureus* ve Gıda Zehirlenmesi

Gıda zehirlenmesi WHO tarafından kontamine gıdanın ya da suyun tüketilmesiyle ortaya çıkan hastalık olarak tanımlanmıştır. Dünyadaki en önemli hastalıklar arasında olan gıda zehirlenmelerinde bugüne kadar 250 farklı gıda zehirlenmesi keşfedilmiş ve bunların 2/3'sine bakterilerin neden olduğunu bildirmiştir. Stafilokokal gıda zehirlenmesi gıdadaki stafilokokal enterotoksin varlığıyla ortaya çıkmaktadır (Loir ve ark, 2003; Kumar ve ark, 2009).

Gıda zehirlenmelerinin %60-90'ından fazlasına doğadaki bakteriler neden olmaktadır. Zehirlenmeye intoksikasyon yoluyla sebep olanlar; *C. botulinum*, *S. aureus*, kütleli yoğunlukla sebep olanlar; *C. perfringens*, *B. cereus*, enfeksiyonla sebep olanlar; *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *E. coli* ve henüz etiyojisi açıklanamamış sebeplerle de; *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp. neden olmaktadır (Belitz ve ark, 2009).

1.8. Stafilokokal İntoksikasyonların İnsanlarda Oluşturduğu Semptomlar

Stafilokokal gıda zehirlenmesi olgularında semptomlar genellikle çabuk gelişir. 1-6 saatlik bir zaman dilimi söz konusudur. Ortalama olarak semptomlar 3 saat içinde gelişir. Predominant ve ciddi semptom kusmadır ve mide bulantısı hissini takiben oluşur. Diğer semptomlar ise abdominal kramplar ve diyaredir. Semptomlar

1-2 gün içerisinde kaybolur, ölüm ekstrem olarak düşük seviyededir ancak ölümlerle sonuçlanmış vakalar bildirilmiştir (Ellis ve ark, 2003; Hamad ve ark, 1997; İşeri ve Erol, 2009.).

Stafilokokal toksin içeren gıdaların alınması ile zehirlenme tablosunun oluşabilmesi için genellikle 100 g gıdada 1µg toksinin bulunması gerektiği, okul çocuklarında çikolatalı süttten ileri gelen bir stafilokokal gıda zehirlenmesi olayında 0.2 µg düzeyindeki SEA'nın zehirlenme tablosunun oluşturduğu bildirilmiştir (Loir ve ark, 2003).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Donnelly ve ark (1968), yaptıkları çalışmada *S. aureus*'un mikroorganizma yükü az olan pastörize sütlerde, mikroorganizma yükü fazla olan çiğ süte göre daha iyi üreyebildiklerini ve toksin oluşturduklarını saptamışlardır. Çiğ sütte *S. aureus* sayısının 10^6 kob/mL'yi bulduktan sonra enterotoksin ürettiği gözlenirken, pastörize sütlerde *S. aureus* sayısı 10^4 kob/mL olduktan 12 saat sonra enterotoksin ürediğini bildirmişlerdir.

Özalp ve ark (1978), 26 Erzincan tulum peyniriyle yaptıkları çalışmada örneklerin hiçbirinde stafilokoka rastlamamalarına rağmen, stafilokokal enterotoksin bulduklarını bildirmişlerdir.

Özalp ve ark (1978), 36 yerli 34 yabancı orijinli süt tozu numunesi incelemiştir. Yerli süt tozlarından birinde *S. aureus* saptamışlar aynı zamanda iki numunede enterotoksin tespit etmişlerdir. Yabancı orijinli süt tozlarında herhangi bir mikroorganizmaya rastlamamışlardır.

Castro ve ark (1986), Şili'de ev yapımı peynirlerle yaptıkları çalışmada örneklerden 103 *S. aureus* izole etmişlerdir. Bütün örneklerin koagulaz ve termonükleaz aktivitesinin pozitif olduğunu fakat örneklerin hiçbirinin enterotoksin üretmediğini bildirmişlerdir.

Ewald (1987), Danimarka'da çeşitli gıdaların *S. aureus* ile kontaminasyonu üzerine yaptığı çalışmada, izolatlardan 20 tanesi koagulaz negatif olduğu, bunlardan *S. haemolyticus* olarak tanımlanan bir tanesinin C ve D tipi enterotoksinleri beraber oluşturabildiğini belirtmiştir. *S. aureus* olarak tanımlanan 150 izolatın 38 tanesinin enterotoksijenik olduğu ve A, B, C, D, E tipi birini ve/veya birkaçını oluşturabildiği ve C tipi toksinin en çok oluşturulan toksin olduğu bildirilmiştir.

Bone ve ark (1989), İngiltere'de koyun sütünden yapılmış peynirlerle yaptıkları çalışmada örneklerin hiçbirinde canlı patojen bakterilere rastlamadıkları halde SEA'ya rastlamışlardır.

Wieneke ve ark (1993), Londra'da 1969-1990 yılları arasında *S. aureus* enterotoksinlerinin neden olduğu 359 adet gıda zehirlenme vakası saptamışlardır. Yapılan analizler sonucu gıdalardaki ortalama *S. aureus* sayısının 3.0×10^7 kob/g

olduğu belirlenmiştir. Ayrıca peynir yiyen iki kişi besin zehirlenmesi şikayetiyle hastaneye başvurmuş ve peynir örneklerinde canlı *S. aureus* bakterisine rastlanılmamasına karşın stafilokokal enterotoksinin izole edildiği bildirilmiştir.

Mutluer ve ark (1993), enterotoksijenik *S. aureus* suşlarının beyaz peynirde üreme ve toksin oluşturma yeteneklerini incelemişlerdir. A, B, C, D tipi toksin oluşturan *S. aureus* suşları ile 10^5 kob/mL düzeyde kontamine olan çiğ süt ve pastörize sütlerden yapılan beyaz peynirlerde, *S. aureus* sayılarının çiğ süttten yapılan peynirlerde üretim ve olgunlaşma sürecinin her aşamasında pastörize süttten yapılan peynirlerdekenden daha fazla olduğunu saptamışlardır. Çiğ sütle yapılan peynirlerde olgunlaşmanın daha 1. gününde enterotoksin A oluştuğu gözlemlenmiştir.

Kısa ve ark (1996), Ankara'da yaptıkları çalışmada koagulaz (+) stafilokoklar sade kremalı pasta örneklerinin %73.3'ünde ortalama 6.3×10^2 kob/g, kakaolu ve meyveli kremalı pasta örneklerinin tamamında ortalama 1.7×10^3 kob/g düzeyinde saptamışlardır. Ayrıca incelenen örneklerin %5'inde koagulaz (+) stafilokokların sayısı enterotoksin riski oluşturabilecek 10^5 kob/g düzeyinde bulunmuştur. Sade kremalı örneklerin 4'ünde (%36.4), kakaolu kremalı örneklerin 12'sinde (%22.6) ve meyveli kremalı örneklerin 9'unda (%28.1) olmak üzere toplam 25 (%26.0) pastadan izole edilen koagulaz (+) stafilokokların enterotoksin oluşturma yeteneğinde olduğu saptanmıştır.

Erol ve Usca (1996), Ankara'da yaptıkları çalışmada 50 piliç karkas örneğinin 33'ünde (%66) ortalama 1.3×10^3 kob/g düzeyinde koagulaz pozitif stafilokok saptamışlardır. 33 örneğin 7'sinde de (%21.2) enterotoksin izole etmişlerdir.

Rosec ve ark (1997), Fransa'da yaptıkları 121 gıda örneğinden 213 *S. aureus* suşu izole etmişlerdir. Çiğ süttten üretilen peynir örneklerinden izole edilen *S. aureus* suşlarının %15.9'unun enterotoksin ürettiği, diğer gıdalardan izole edilen *S. aureus* suşlarının ise %43'ünün enterotoksijenik özellikte olduğu belirlenmiştir.

Özcan ve Kurdal (1997), Bursa il merkezinde dondurmalarla yaptıkları çalışmada limonlu dondurmalarda ortalama $10,11 \times 10^3$ kob/g, vişneli dondurmalarda ortalama $8,01 \times 10^3$ kob/g, çilekli dondurmalarda ortalama $11,46 \times 10^3$ kob/g düzeyinde *Staphylococcus aureus*'a rastladıklarını belirtmişleridir.

Erol ve ark (1998), Ankara’da 100 adet dondurmayı mikrobiyolojik yönden incelemişlerdir. Örneklerin %20-30,8’inde 10^2 - 10^4 kob/g düzeyinde koagulaz pozitif stafilkokların varlığına rastlarken örneklerin %2’sinde *E. coli* ve *Salmonella* izole etmişlerdir.

Evrensel ve Güneş (1998), Bursa’da sade dondurmalar üzerine yaptıkları çalışmada, koagulaz pozitif *S. aureus*’u 1.0×10^2 - 6.3×10^5 kob/g oranında saptamışlardır.

Rasooly ve Rasooly (1998), Amerika’da yaptıkları çeşitli gıdalar (mantar, süt, patates salatası, dondurma ve et ürünleri) kullanarak yaptıkları çalışmada SEA tespit etmişler ve SEA düzeyinin en az 100 pg/mL düzeyinde saptamışlardır.

Usca ve Erol (1998), KKTC’de üretilerek tüketime sunulan hellim peynirleriyle yaptıkları çalışmada örneklerin (50 örnek) %96’sında 10^4 kob/g düzeyinde aerob mezofil canlı, %64’ünde 10^4 kob/g enterobakter ve 26’sında 10^3 kob/g koliform, %52’sinde 10^3 kob/g enterokok, %66’sında 10^3 kob/g maya/küf tespit etmişlerdir. Yine örneklerin %26’sında 10^3 kob/g koagulaz (+) stafilkok, %12’sinde 10^3 kob/g *E.coli*’ye rastlamışlardır.

Toklu ve Yaygın (2000), Antalya ilinde 69 adet dondurma örneği kullanarak yaptıkları çalışmada örneklerin %88.40’ında koliform, %69.5’inde *E. coli* ve %49.27’sinde *S. aureus* bakterilerinin bulunduğunu saptamışlardır.

Gilligan ve ark (2000), Amerika Birleşik Devletleri Ordu Araştırma merkezinde yaptıkları çalışmada 27 numunede *S. aureus* saptamışlar, 26’sında SEA, 27 örneğin tamamında SEB’ye rastladıklarını belirtmişlerdir.

Yücel ve Çıtak (2000), Ankara’da tüketime sunulan dondurmalarla yaptıkları çalışmada 30 adet dondurma kullanmışlar ve örneklerdeki en düşük ve en yüksek *S. aureus* sayısını 1.0×10^2 - 3.0×10^3 kob/mL olarak bulmuşlardır.

Akineden ve ark (2001), Almanya’da 103 süt örneğiyle bir çalışma yapmışlar ve örneklerin hepsinde *S. aureus* tanımlamışlardır. 17 örnekte SEI, 21 örnekte SEG ve SI, 21 örnekte SED ve SEJ, 15 örnekte SEC+SEG+SEI ve TSST-1, 1 örnekte SEA+SEC ve TSST-1 olduğunu bildirmişlerdir.

Bostan ve Akın (2002), İstanbul'da yaptıkları çalışmada 300 paketlenmiş dondurma ürününü test etmişler ve örneklerin hiçbirinde *Salmonella* spp., *S. aureus* ve *E. coli*'ye rastlamadıklarını bildirmişlerdir.

Cowel ve ark (2002), Avustralya'da 1997 yılında Queensland'da 42 kişinin ishal ve kusma ile birlikte hastaneye başvurmaları ile yapılan testler sonucu Stafilokokal Enterotoksinlere rastlamışlardır. Bu insanların yedikleri tavuk, pasta ve salataların analizleri sonucunda *S. aureus* düzeyinin $>2.5 \times 10^6$ kob/g olduğunu bildirmişlerdir.

Mukan ve Evliya (2002), Adana'da tüketime sunulan dondurmalarda yaptıkları incelemede örneklerin hiçbirinde *S. aureus* izole edememişlerdir. Bununla birlikte örneklerin tümünde koagülaz negatif stafilokok izole etmişler, bunların *S. epidermidis* olduğunu saptamışlar ve sayılarının ortalama 2.4×10^5 kob/g olduğunu bildirmişlerdir.

Alişarlı ve ark (2002), Enterotoksijenik *S. aureus* suşlarının kremalı pastalarda gelişme ve toksin oluşturma yeteneklerini incelemişler, Enterotoksin-A oluşturan *S. aureus* suşlarının düşük sıcaklıklarda da toksin oluşturabileceğini saptamışlardır.

Küplülü ve ark (2002), Ankara'da tüketime sunulan pastörize sütlerde Stafilokokal Enterotoksin varlığı ile ilgili yaptıkları çalışmada 250 süt örneği kullanmışlar ve örneklerin ikisinde >0.1 ng/mL düzeyinde SEA olduğunu saptamışlardır.

Alişarlı ve ark (2003), puding ve kremalı pastalarda yaptıkları çalışmada, 100 puding türünün %10'unda, kremalı pastaların %27'sinde *S. aureus* bulmuşlardır. A tipi enterotoksin toplam 7 örnekte, C tipi enterotoksin 2 örnekte, A/B miks enterotoksini 2 örnekte tespit edilmiştir. Enterotoksin üreten *S. aureus*'ların tamamı termonükleaz aktivitesi de göstermiştir.

Sağun ve Alişarlı (2003), farklı sıcaklıklarda muhafazanın çiğ köftede *S. aureus* gelişimi ve Enterotoksin üretimi üzerine yaptığı çalışmada çiğ köfteye başlangıçta 10^5 kob/g düzeyinde *S. aureus* bulaşması halinde, oda sıcaklığında (21-23°C) 24 saat muhafaza edilen örnekte SEA ilk olarak 24 saat sonra saptanmıştır. SEA'nın saptandığı saatteki *S. aureus* sayısı 3.1×10^6 kob/g'dır. 30°C'de muhafaza

edilen örneklerde ise Enterotoksin-A 12 saat sonra bulunmuştur. Enterotoksinin saptandığı saatteki *S. aureus* sayısı 2.8×10^7 kob/g olduğu belirtilmiştir.

Becker ve ark (2003), Almanya'nın Münster Üniversitesi Hastanesinde yaptıkları çalışmada 429 *S. aureus* taşıyıcısı hastadan izole ettikleri *S. aureus*'ların %50.8 Eksfoliyatif toksin, %73'ünün Stafilokokal Enterotoksin içerdiği belirtilmiştir.

Günşen ve Büyükyörük (2003), Bursa'da 125 adet vakumla paketlenmiş taze kaşar peynirini incelemişler ve örneklerin 4'ünde *S. aureus*'a rastlamışlar, *S. aureus* düzeyini en yüksek 1.8×10^3 en düşük 1.0×10^2 kob/g olarak bildirmişlerdir.

Evrensel ve ark (2003), Bursa'da yaptıkları çalışmada çiğ süt örneklerindeki koagülaz (+) stafilokok düzeyini 1.9×10^4 kob/mL, pastörize edilip soğutulan süt örneklerinde stafilokok/mikrokok düzeyinin 10^3 - 10^4 kob/mL, salamurada koagülaz (+) stafilokok düzeyini de 5.0×10^4 kob/g olarak bildirmişlerdir.

Ağaoğlu ve Alemdar (2004), Van'da tüketime sunulan 75 dondurma örneğinde mikrobiyolojik analiz yapmışlar ve örneklerin %13.3'ünde koagülaz (+) *S. aureus* saptamışlardır.

Normanno ve ark (2005), İtalya'daki bir markette çeşitli gıdalarla (et, UHT süt, pastörize süt, peynir, dondurma, pasta, yumurta, balık) yaptıkları çalışmada 541 koagülaz pozitif stafilokoktan 537'sinin *S. aureus* olduğunu belirlemişlerdir. Toplam 298 *S. aureus*'un %55.5'i bir ya da daha fazla Enterotoksin içerdiğini ve Enterotoksinlerin tiplerine göre dağılım yüzdelerinin; %33.9 SEC, %26.5 SEA, %20.5 SEA+SED, %13.4 SED, %2.7 SEB, %1.7 SEA+SEB, %7 SEC+SED, %0.3 SEA+SEC VE SEB+SEC olduğunu belirtmişlerdir.

Fueyo ve ark (2005), İspanya bölgesinde yaptıkları çalışmada el yapımı gıdalardan (peynir, krema, dondurma) 269 *S. aureus* izolatu saflaştırmışlar ve 57 izolatu 4 Enterotoksinden (SEA, SEB, SEC, SED) en az birini içerdiğini belirtmişlerdir.

Korel ve ark (2005), Manisa'da yaptıkları çalışmada 15 adet ambalajlı, 70 adet ambalajsız dondurma örneğinin hiçbirinde *S. aureus*'a rastlamamışlardır.

Tomi ve ark (2005), Atopik dermatit (AD), Psoriasis (PS), eritrodermi, deri enfeksiyonları, sepsisli hastalar ve sağlıklı kontrol bireylerinin deri ve burun

kanatlarında *S. aureus* saptamak amacıyla yaptıkları çalışmada, AD'li 25 hastanın 22'sinin ve PS'li 25 hastanın 15'inin lezyonlu derisinde *S. aureus* izole etmişlerdir.

Fujikawa ve Morozumi (2006), sütteki toksin miktarının *S. aureus*'un $10^{6.5}$ kob/mL'ye ulaşması ile birlikte doğrusal olarak arttığını, toksin üretiminin ise 14-32°C arasında arttığını belirtmişlerdir.

Cremonesi ve ark (2006), İtalya'da büyükbaş ve küçükbaş hayvanların sütleri ile yaptıkları çalışmada; 111 örneğin hepsinde koagulaz pozitif *S. aureus* saptamışlardır.. Örneklerin 95 tanesi (%86) Enterotoksinlerden en az birini içermektedir. 73 büyükbaş sütünden 58 adedi (%79), 38 küçükbaş sütünden 37'si (%97) Enterotoksin içermektedir.

Erdoğrul ve ark (2006), Kahramanmaraş'ta yaptıkları çalışmada mayonez, kolza, yağsız yoğurt ve kısır örneklerinin hiçbirinde *S. aureus*'a rastlamamışlardır.

Şimşek ve Sağdıç (2006), Isparta yöresinde inek, koyun ve keçi beyaz peynirlerinin peynir altı sularından yapılan dolaz (Tort) peynirleriyle yaptıkları çalışmada hiçbir örnekte *S. aureus*'a rastlamamışlardır.

Soejima ve ark (2007), yağsız süte *S. aureus* bulaştırarak çalkalama yaparak 35°C'de inkübe etmişler ve bu koşulların *S. aureus* gelişimini ve SEA üretimini hızlandırdığını bildirmişleridir.

Keskin ve ark (2007), İstanbul'da yaptıkları çalışmada 55 ayrı satış noktasından alınan sade dondurma örneklerinin %12.7'sinin *S. aureus* yönünden mikrobiyolojik kriterler tebliğine uygun olmadığını saptamışlardır. Örneklerin hiçbirinde toksin saptanmadığını bildirilmiştir.

Kılıç (2007), Ankara'da yaptığı çalışmada 52 hindi eti örneğinin 5'inde ortalama 9.3×10^2 kob/g düzeyinde koagulaz pozitif stafilokoka, 52 örneğin 3'ünde de enterotoksine rastlamıştır.

Gülbandılar (2009), Mayıs 2006-Haziran 2007 tarihlerinde Kütahya Halk Sağlığı Laboratuvarına muayene için başvuran gıda elleyicilerinden (aşçı, fırıncı, pastacı vb.) ve halkla direkt temas eden esnaf gruplarından (berber, kuaför gibi) olmak üzere toplam 3048 kişiden burun kültürü alınmış ve 217 örnekte *S. aureus* bakterisi izole edilmiştir. Bu izolatların 37'sini kadın çalışan (%17.05), 180'ini erkek çalışan (%82.9) oluşturduğunu bildirmiştir.

Kumar ve ark (2009), Hindistan'da yaptıkları çalışmada 10 süt örneğinin 1'inde *S. aureus*'a rastlamışlar ve *S.auresu*'un 4.5×10^1 kob/g düzeyinde olduğunu bildirmişlerdir.

Monecke ve ark (2009), Almanya Saxony Hastanesinde yaptıkları çalışmada 155 *S. aureus* örneğinin %45.8'inde Enterotoksin bulmuşlar ve bu Enterotoksinlerin %17.42'sininde SEA olduğunu bildirmişlerdir.

Varshney ve ark (2009), Amerika Bronx'ta 3 farklı Hastanede 207 örnekle yaptıkları çalışmada 19 farklı Stafilokokal Enterotoksini (SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEG, SEH, SEI, SEJ, SEK, SEL, SEM, SEN, SEO, SEP, SEQ, SER, SEV, ve TSST) tiplendirmişlerdir.

Garcia ve ark (2009), İspanya'da çeşitli mandıralardan aldıkları 75 süt örneğinin hepsinde *S. aureus*'a rastladıklarını bildirmişlerdir.

Önganer ve Kırbağ (2009), Diyarbakır'da yaptıkları çalışmada 30 adet çökelek peynirinde *S. aureus* düzeyinin en az 6×10^6 kob/g en çok 10.28×10^6 kob/g düzeyinde olduğunu bildirmişlerdir.

Yılmaz ve Gönülalan (2010), Kayseri ilinde yaptıkları çalışmada toplam 60 adet çiğ süt örneğinin 30'unda *S. aureus*, 37'sinde Stafilokokal Enterotoksin bulmuşlardır.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

Bu çalışma kapsamında değişik firmalar tarafından Adana'da tüketime sunulan 78 dondurma örneği materyal olarak kullanılmıştır.

3.1.1. Bakteri İzolasyonunda ve Tanılanmasında Kullanılan Besiyerleri ve Test Kitleri

3.1.1.1. Peptonlu Su (Oxoid CM0009)

Staphylococcus izolasyon aşamasında seyreltme amacı (örnek minimum 250g olduğunda) ile kullanılmıştır (Halkman, 2005).

<u>Bileşimi</u>	<u>g/L</u>
Pepton	10.0
Sodyum klorid	5
<u>Distile su</u>	<u>1000</u>
<i>pH</i>	7.2 ± 0.2

Besiyerinin hazır kombinasyonundan 15 g tartılarak 1000 mL distile su içerisinde çözüldürüldükten sonra pH 7.2 ± 0.2 ' ye ayarlanmıştır.

Hazırlanan besiyeri 9'ar mL tüplere (ikinci seyreltme) ve 225'er mL şişelere (birinci seyreltme) dağıtılarak 121°C' de 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra soğutulmuştur.

3.1.1.2. Maximum Recovery Diluent (Oxoid CM0733)

Staphylococcus izolasyon aşamasında seyreltme amacı (örnek 100 g olduğunda) ile kullanılmıştır (Halkman, 2005).

<u>Bileşimi</u>	<u>g/L</u>
Pepton	1.0
Sodyum klorid	8.5
<u>Distile su</u>	<u>1000</u>
<i>pH</i>	7.2 ± 0.2

Hazırlanışı

Besiyerinin hazır kombinasyonundan 9.5 g tartılarak 1000 mL distile su içerisinde çözüldükten sonra pH'sı 7.2 ± 0.2 'ye ayarlanmıştır. Bir kısmı dilüsyon tüplerine 9'ar mL olacak şekilde, bir kısmı şişelere 90'ar mL olacak şekilde dağıtılarak 121°C ' de 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra soğutulmuştur.

3.1.1.3. Baird- Parker (BPA) Agar Base (Oxoid CM0275)

Staphylococcus aureus tanılanması amacıyla kullanılmış selektif bir besiyeridir (FDA/BAM, 2001).

<u>Bileşimi</u>	<u>g/L</u>
Tripton	10.0
Lab-Lemco'powder	5.0
Maya özeti	1.0
Sodyum privat	10.0
Glisin	12.0
Lityum klorür	5.0
<u>Agar</u>	<u>20.0</u>
<i>pH</i>	6.8 ± 0.2

Hazırlanışı

Besiyerinin hazır kombinasyonundan 63 g alınarak 1000 mL distile suda çözüldükten sonra pH'sı 6.8 ± 0.2 'ye ayarlanmış ve sıcak su banyosunda tamamen eritilmiştir. 121°C 'de 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra 50°C 'ye kadar soğutulmuş ve üzerine 50 mL Egg-Yolk Tellürit Emülsiyon (*Oxoid SR 0054, Yumurta sarısı emülsiyonu Potasyum tellürit içermektedir. Kullanıma hazır sıvı şekilde 100 mL'lik formdadır*) ilave edilerek karıştırılmıştır. Steril petrilere 12-15 mL dökülerek Laminar Flow kabinde 30 dakika süreyle kurutularak hazırlanmıştır.

3.1.1.4. Brain Heart Infusion (BHI) Broth (Oxoid CM0225)

Koagülaz testi için *Staphylococ*'ların üretilmesi amacıyla kullanılmıştır (FDA/BAM, 2001).

<u>Bileşimi</u>	<u>g/L</u>
Calf brain infusion solids	12.5
Beef heart infusion solids	5.0
Pepton	10.0
Glikoz	2.0
Sodyum klorür	5.0
<u>Di-sodium fosfat</u>	<u>2.5</u>
<i>pH</i>	7.4 ± 0.2

Hazırlanışı

Besiyerinin hazır kombinasyonundan 37 g alınarak 1000 mL distile suda çözülmüş ve pH 7.4 ± 0.2 'ye ayarlanmıştır. 16x150 mm'lik tüplere dağıtılarak 121°C 'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

3.1.1.5. TEMPO STA Besi Yeri ve Test Kitleri

Bu amaçla TEMPO STA (bioMérieux Ref. 80002) ticari test kitleri (48 test); TEMPO STA besi yeri (2x24 şişe, her şişe tek dozluk dehidrate besi yeri içermektedir) ve TEMPO STA kartları (2x24, kullanıma hazır, tek kullanımlık transfer tüplü kartlar içermektedir) kullanılmıştır.

Bileşimi	g/L
Hayvan (sığır ve domuz) ve bitkisel peptonlar	12.5
Şekerler ve büyüme ilaveleri	11
Tampon sistemi	10
Seçici ajanlar	10.25
Floresan pH indikatörü	0.06
Köpük önleyici ajan	0.4

3.1.1.6. VIDAS SET2 Test Kitleri

Stafilokokal enterotoksinlerinin saptanması için kullanılmıştır. Bu amaçla VIDAS SET2 (bioMérieux Ref. 30705) ticari test kitleri kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. VIDAS SET2 Reaktif Stribinin Tanımı

Kuyucuklar	Reaktifler
1	Numune kuyucuğu: 500 µL gıda ekstresi kuyucuğa, standart ya da kontrol pipetlenir.
2	Ön yıkama solüsyonu (400 µL): TRIS-NaCl (150 mmol/L)-Tween pH: 7.6 - protein stabilizörü + koruyucu
3-4-5-7-8-9	Yıkama tamponu (600 µL): TRIS-NaCl (150 mmol/L)-Tween pH: 7.6 + koruyucu
6	Konjugat (400 µL): alkalin fosfat-ışaretleli anti-stafilokokal enterotoksin antikorları + koruyucu
10	Substrat ile birlikte okuma küveti (300 µL): 4-Metil-umbelliferil fosfat (0.6 mmol/L) + dietanolamin (DEA) (0.62 mol/L veya %6.6, pH: 9.2) + koruyucu.

Çizelge 3.2. VIDAS SET2 Kit İçeriği (30 Test)

30 SET2 Reaktif Stribi	STR*	Kullanıma hazır
30 SET2 SPR	SPR**	Kullanıma hazır. SPR'lerin iç kısmı anti-stafilokokal enterotoksin antikorları ile kaplanmıştır.
SET2 Standart	S1	Kullanıma hazır. Saflaştırılmış enterotoksin-A (<1.0 ng/mL) + koruyucu ve protein stabilizörleri. Güven aralığı, MLE kartında yer alan "Standart (S1) RFV Range"den sonra belirtilmiştir.
SET2 Pozitif Kontrol	C1	Kullanıma hazır. Saflaştırılmış enterotoksin-A (<1.0 ng/mL) + koruyucu ve protein stabilizörleri. Güven aralığı, MLE kartında yer alan "Control C1 (+) Test Value Range"den sonra belirtilmiştir.
Negatif Kontrol	C2	Kullanıma hazır. TRIS-tamponlanmış tuzlu su (TSB) (150 mmol/L)-Tween pH 7.6 + koruyucu. Bu test için kabul edilebilir maksimum değer, MLE kartında yer alan "Control C2(-) Test Value Range"den sonra belirtilmiştir.
SET2 Konsantre Ekstraksiyon Tamponu 1 MLE Kartı (Lot kart girişi)	R1	2.5 mol/l TRIS- 10 g/L MIT pH: 8.0. Testi kalibretmek için gerekli fabrika ana kalibrasyon verilerini İçeren spesifikasyon kağıdı.

STR*: Strip, etiketli bir folyo ile kaplanmış 10 kuyucuktan oluşmaktadır. Etiket, esasen test kodunu, kit lot numarasını ve son kullanma tarihini gösteren bir barkod içermektedir.

SPR:** SPR'nin iç kısmı üretim sırasında Stafilokokal anti-enterotoksin antikorları ile kaplanmıştır.

3.1.1.7. Test Suşu (Kontrol suşu)

BPA agarda ve sıvı besi yerinde (Brain-Hearth Infusion) koagülasyonun saptanması amacıyla, belirleyici (Standart suş) mikroorganizma olarak *S. aureus* ATCC 25923 kontrol suşu kullanılmıştır.

3.1.1.8. 1N Sodyum hidroksit ve 5N Hidroklorik asit

Tampon çözeltilerinin pH ayarlamalarında kullanılmıştır.

3.1.2. Kullanılan Ekipmanlar

Otoklav, Sterilizatör ($160 \pm 5^\circ\text{C}$), İnkübatörler ($35 \pm 1^\circ\text{C}$, $38 \pm 2^\circ\text{C}$), Analitik teraziler (0.01 g hassasiyette), Su banyosu ($45-100^\circ\text{C}$), Stomacher, pH metre, Tüp karıştırıcı (Vortex), standart laboratuvar malzemeleri, Koloni sayıcı, Mikrodalga fırını,

TEMPO torbaları-lateral filtreli torbalar (bioMérieux Ref. 80015), Blender, Santrifüj (3000-5000 x g).

3.2. Metod

Adana’da çeşitli yerlerde satışa sunulan dondurmalarından 3’er paralelli olarak aseptik koşullarda alınan örnekler soğuk zincir altında laboratuara getirilmiştir. Bir örnekte klasik yöntemle, bir örnekte TEMPO Test Prosedürüne göre koagülaz pozitif Stafilokok aranmış, bir örnekten de stafilokokal enterotoksin varlığı araştırılmıştır.

3.2.1. Katı Besiyerine Ekim ve Kolonilerin Değerlendirilmesi (Klasik yöntem)

Koagülaz pozitif stafilokokların klasik yöntemle belirlenmesi FDA/BAM (2001)’e göre yapılmıştır.

Dondurma örneklerinin bütününi temsil edecek şekilde alınan 25 g örnek steril stomacher poşetlerine alınarak üzerine 225 mL pepton water ya da MRD ilave edilmiş ve 60 saniye stomacher’de homojenize edilmiştir. Bu homojenat ve steril tüplerde bulunan 9 mL’lik peptonlu su kullanılarak 10^{-6} ya kadar dilüsyonlar hazırlanmıştır. Her dilüsyondan yayma plak tekniği kullanılarak 0.4-0.3-0.3 mL miktarlarda BPA besi yerine ekim yapılmış, petriyerler $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ’de 24-48 saat aerob ortamda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonu takiben mat, yuvarlak, konveks, pürüzsüz, dar, parlak zonlu bölge ile çevrili, 2-3 mm çapındaki siyah-gri parlak koloniler muhtemel *S. aureus* kolonileri olarak değerlendirilip koloniler sayılmıştır.

Şüpheli koloniler Brain Heart Infusion Broth’lara alınarak 24 saat $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ’de inkübasyona bırakılmıştır. Steril koagülasyon tüplerine Liyofilize EDTA’lı tavşan plazması konulmuş, üzerine Brain Heart Infusion Broth’da üremiş olan kültür süspansiyonundan ilave edilmiştir. Tüpler $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ’de 4-6 saat inkübasyona bırakılmış ve test sonucu pozitif ise hesaplama aşağıdaki şekilde yapılmıştır:

Tipik koloni sayısı : a

Koagülaz testi uygulanan tipik koloni sayısı : b

Koagülaz (+) sonuç veren koloni sayısı : c olarak tanımlanmış ve

$\frac{a \times c}{b} \times \text{sulandırma oranı} = \text{Koagülaz pozitif Stafilocok sayısı g/mL}$
şeklinde formüle edilmiştir.

3.2.2. Tempo Test Prosedürü İle Koagülaz Pozitif Stafilocokların Saptanması

Dondurma örneklerinin bütününi temsil edecek şekilde alınan 10 g örnek steril stomacher poşetlerine alınmış üzerine 90 mL pepton water ya da MRD ilave edildikten sonra 60 saniye stomacher'de homojenize edilmiştir.

- 1- Gerekli besiyeri şişesinin oda sıcaklığına gelmesi beklenmiş,
- 2- Besiyeri içine 3 mL steril su eklenmiş,
- 3- TEMPO hazırlık ünitesine giriş yapılarak.
- 4- Hazırlama ünitesi barkod okuyucusu kullanılarak test şişesi tanımlanmıştır.
- 5- Steril pipet kullanılarak TEMPO torbasının filtreli kısmından 1 mL alınmış ve sulandırılmış besiyerine eklenmiştir. Vorteksle yaklaşık 3 saniye homojenize edildikten sonra elde edilen 4 mL ekilmiş ortam, numunenin ¼ dilüsyonuna tekabül etmektedir.
- 7- Her ekilmiş şişe için transfer tüplerinin uçlarına dokunmadan bir kart çıkarılarak kart barkod okuyucuyla cihaza tanıtılmıştır.
- 8- Ekilmiş ortamı içeren şişe doldurma tablasına yerleştirilmiş, kart transfer tüpün şişenin içine girecek şekilde kart şişenin karşısındaki bölmeye yerleştirilmiştir. Tabla aynı anda 6 adet kartın doldurulmasını sağlamaktadır.
- 10-Tabla TEMPO doldurucusuna yerleştirilerek doldurma işlemi tamamlanmıştır. Ekilmiş ortam tamamı ile karta çekilmiş ve kartlar dolduktan sonra, TEMPO doldurucusu transfer tüplerini keserek mühürlemiştir. Tüm bu işlemler otomatik olarak 3 dakikada gerçekleşmektedir. Doldurma işlemi tüm parametreler için aynıdır ve farklı parametrelerin aynı anda doldurulmasına olanak sağlamaktadır.
- 11-Doldurma tablası TEMPO doldurucusundan alınarak inkübasyon tablasına yerleştirilmiş ve 24 saat $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de inkübasyona bırakılmıştır.

12-İnkübasyonu takiben kartlar inkübatörden alınarak TEMPO okuyucusuna yerleştirilmiş ve okuma yapılmıştır.

3.2.3. Stafilokokal Enterotoksinlerin Belirlenmesi

- 25 g gıdaya daha önceden $38 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edilmiş 40 mL demineralize su ilave edilmiş ve homojenizasyon için 3 dakika yüksek hızda blender ile karıştırılmıştır.
- 18-25°C de 30 dakika bekletilmiş,
- pH kontrol edilerek 5N HCl ile pH: 3.5 ile 4.0 arasında ayarlanmıştır.
- Bu süspansiyon 18-25°C'de, 3000-5000 x g'de 15 dakika santrifüjlenmiş,
- Üst faz alınarak, 1N NaOH ile pH: 7.5 ile 8.0 arasında ayarlanmış ve tekrar
- 18-25°C de, 3000-5000 x g'de 15 dakika santrifüjlenmiştir (*bu aşamada ihtiyaç duyulursa süzme yapılır*).
- Filtratın 500 µL'si geri alınarak teste başlamadan önce bir VIDAS SET2 Reaktif stribinin numune kuyucuğuna pipetlenmiştir.
- Test tamamlandığında sonuçlar cihaz tarafından otomatik olarak analiz edilmiştir.

3.2.4. Tüpte (BHI) Koagülaz Testi (*Liyofilize Bactident Coagulase Rabbit Plasma with EDTA, ref no: MERCK 1.13306.0001*)

Tavşan plazması koagülaz testi için kullanılmıştır. Test içerisinde 6 vial bulunmaktadır ve her vial 3 mL steril distile su içerisinde çözülmüş ve hazırlanan plazmalar ile kültür süspansiyonları karıştırılarak sonuçlar değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, Adana'da farklı üretim birimlerinden tüketime sunulan (pastane, küçük işletmeler, sokak satıcıları ve zehirlenme nedeniyle laboratuara getirilen dondurma örnekleri) 78 dondurma örneği koagülaz pozitif stafilokok varlığının saptanması ve enterotoksin oluşturabilme yeteneklerinin belirlenmesi amacıyla toplanmıştır.

Bu amaçla klasik metodla BPA'da kolonizasyon ve BPA'da üreyen kolonilerin koagülaz testine tabii tutulması (*BPA agar ve BHI sıvı besiyerinde*), TEMPO cihazında *Staphylococcus aureus* sayımı ve VIDAS ile stafilakokal enterotoksin varlığının araştırılması için 3 paralelde çalışma yapılmıştır.

Yapılan analizler sonucunda, incelenen 78 dondurma örneğinde;

Klasik yöntemle 13 örnekte (%16.7) *S. aureus* tespit edilmişken, TEMPO cihazıyla 19 örnekte (%24.4) *S. aureus* gözlenmiştir. Toplam iki örnekte (%2.57, *gıda zehirlenmesi nedeniyle laboratuvara getirilen dondurma örnekleri*) stafilakokal enterotoksini saptanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. 78 Dondurma Örneğinde Klasik Metod, TEMPO ve VIDAS sonuçları

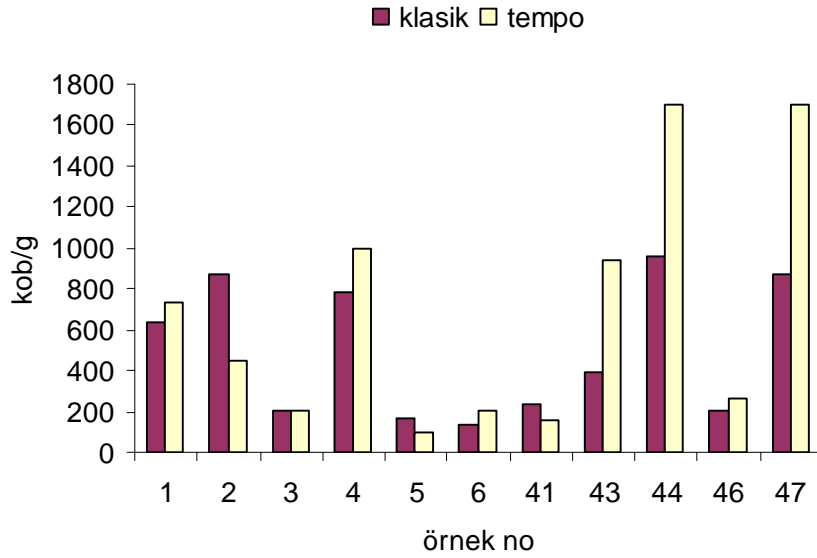
Örnek No	ENTERO.	KLASİK kob/g	TEMPO kob/g
1	Negatif	6.4×10^2	7.3×10^2
2	Negatif	8.7×10^2	4.5×10^2
3	Negatif	2.1×10^2	2.1×10^2
4	Negatif	7.8×10^2	1.0×10^3
5	Negatif	1.7×10^2	1.0×10^2
6	Negatif	1.4×10^2	2.1×10^2
7	Negatif	<10	5.2×10^1
8	Negatif	<10	<10
9	Negatif	<10	<10
10	Negatif	<10	<10
11	Negatif	<10	<10
12	Negatif	<10	<10
13	Negatif	<10	<10
14	Negatif	<10	<10
15	Negatif	<10	<10
16	Negatif	<10	<10
17	Negatif	<10	<10
18	Negatif	<10	5.5×10^1
19	Negatif	<10	<10
20	Negatif	<10	<10
21	Negatif	<10	<10
22	Negatif	<10	<10
23	Negatif	<10	<10
24	Negatif	<10	<10
25	Negatif	<10	<10
26	Negatif	<10	<10
27	Pozitif	<10	<10
28	Pozitif	<10	<10
29	Negatif	<10	<10
30	Negatif	<10	2.1×10^1
31	Negatif	<10	<10
32	Negatif	<10	<10
33	Negatif	<10	1.0×10^1
34	Negatif	<10	<10
35	Negatif	<10	<10
36	Negatif	<10	<10
37	Negatif	<10	<10
38	Negatif	<10	2.0×10^1
39	Negatif	<10	<10
40	Negatif	<10	<10
41	Negatif	2.3×10^2	1.6×10^2
42	Negatif	<10	<10
43	Negatif	3.9×10^2	9.4×10^2

Çizelge 4.1. 78 Dondurma Örneğinde Klasik Metod, TEMPO ve VIDAS sonuçları

Örnek No	ENTERO.	KLASİK kob/g	TEMPO kob/g
44	Negatif	9.6 x 10 ²	1.7 x 10 ³
45	Negatif	<10	3.3 x 10 ¹
46	Negatif	2.1 x 10 ²	2.6 x 10 ²
47	Negatif	8.7 x 10 ²	1.7 x 10 ³
48	Negatif	7.4 x 10 ⁴	5.6 x 10 ⁴
49	Negatif	<10	<10
50	Negatif	<10	<10
51	Negatif	<10	<10
52	Negatif	<10	<10
53	Negatif	<10	<10
54	Negatif	<10	<10
55	Negatif	<10	<10
56	Negatif	<10	<10
57	Negatif	<10	<10
58	Negatif	<10	<10
59	Negatif	4.4 x10 ³	1.6 x 10 ⁴
60	Negatif	<10	<10
61	Negatif	<10	<10
62	Negatif	<10	<10
63	Negatif	<10	<10
64	Negatif	<10	<10
65	Negatif	<10	<10
66	Negatif	<10	<10
67	Negatif	<10	<10
68	Negatif	<10	<10
69	Negatif	<10	<10
70	Negatif	<10	<10
71	Negatif	<10	<10
72	Negatif	<10	<10
73	Negatif	<10	<10
74	Negatif	<10	<10
75	Negatif	<10	<10
76	Negatif	<10	<10
77	Negatif	<10	<10
78	Negatif	<10	<10

Enteroto: Enterotoksin, kob/g: 1 gram örnekte koloni oluşturan birim

Hem klasik metod hem de TEMPO analizlerinde toplam 13 örnekte 140-1700 kob/g *Staphylococcus aureus* bulunmuş örneklere ait sonuçlar grafikte (Şekil 4.1.) gösterilmiştir. İki örnekte; en yüksek *Staphylococcus aureus* sayılmıştır. Söz konusu bu iki örnek hem klasik metod, hemde TEMPO analiz sisteminde yüksek düzeyde bakteri taşımakta ancak enterotoksin varlığı gösterilememiştir. Bu iki örnek, değerler çok yüksek olduğu için diğer örneklerle aynı grafikte verilmemiştir.



Şekil 4.1. Klasik metod ve TEMPO ile *Staphylococcus aureus* sayısı

Klasik yöntemle analiz edilen 13 örnekte; minimum 1.4×10^2 kob/g, maksimum 7.4×10^4 kob/g ve ortalama 6.5×10^3 kob/g düzeyinde *S. aureus* saptanmıştır.

TEMPO sistemi ile yapılan analizlerde; 78 örneğin 19 (%24.4)'unda *S. aureus* saptanmıştır. Minimum 1.0×10^1 kob/g, maksimum 5.6×10^4 kob/g ve ortalama 4.2×10^3 kob/g düzeyinde *S. aureus* sayılmıştır.

Klasik yöntemle TEMPO cihazı arasında ciddi bir fark görülmesi dahi muhtemel fark şu olabilir. TEMPO cihazı oldukça hassas bir cihaz olabilir, Klasik

yöntemle 3 petrideki koloni sayısı 20 ve üzeri olduğu takdirde sayım yapılabilir, oysa TEMPO cihazı petrideki en az 1 bakteriye göre hesap yapmaktadır.

VIDAS sistemi ile 78 örnekte enterotoksin taraması yapılmış ve sadece 2 örnekte enterotoksin bulunmuştur. Enterotoksin saptanan dondurmalar da koagülaz pozitif stafilokoka rastlanmamıştır. Bu önemli bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Çünkü genelde klinik veya laboratuarlara gıda intoksikasyonu şikayeti ile başvurulduğunda öncelikle *S. aureus* aranmakta, enterotoksin analizine yönelim *S. aureus* pozitif çıktıktan sonra başlamaktadır. Oysa yapılan birçok mikrobiyolojik çalışma; gıda örneğinde *S. aureus* bulunmadığı halde enterotoksin bulunabileceğini göstermektedir (Özalp ve ark, 1978; Wieneke ve ark, 1993; Küplülü ve ark, 2002).

Stafilokoklar ısıtma maruz bırakıldıklarında 60°C'de yarım saatte ölmektedirler. Enterotoksinler ise ısıtma işlemlerden etkilenmeden kalabilmektedirler. Bu nedenle örneklerde *S. aureus* bulunmadığı halde stafilokokal enterotoksine rastlanılmaktadır. Çünkü gıdanın prosese girip, tüketiciye ulaşmaya kadar geçirdiği aşamaların her birinde kontaminasyon riski mevcuttur. Burada mikroorganizmanın/gıdanın türü, saklama koşulları, uygulanan ısıtma/soğutma sıcaklıkları, v.b pek çok parametre etkilidir. Gıda son derece hijyenik koşullarda üretilmiş olabilir ve başka bir prosese girerken, veya servis/paket aşamasında kontamine olabilir. Örneğin süt pastörize olsa bile, dondurma üretimi sırasında çalışanlar önemli kontaminasyon faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle, gıdanın üretiminden tüketimine her noktada çalışanların hijyen koşullarına uyması büyük önem arz etmektedir.

Çeşitli çalışmalarda hem *S. aureus* hem de enterotoksin varlığı saptanmıştır. Cowell ve ark (2002), Stafilokokların 10⁶ kob/g düzeyini bulduktan sonra enterotoksin üretebildiklerini bildirmişlerdir.

Bu durumun tam tersi; *S. aureus* izole edildiği halde hiç enterotoksine rastlanılmayan çalışmalarda mevcuttur. Castro ve ark (1986), dondurma örneklerinde *S. aureus* bulunduğu ve bütün örneklerde termonükleaz aktivitesi saptanmasına rağmen hiçbir örnekte enterotoksin saptanmadığını bildirmişlerdir.

Bir gıdada düşük seviyede *Staphylococcus aureus* bulunması veya hiç bulunmaması o gıdanın stafilokokal gıda zehirlenmelerine neden olmayacağına dair

güvence vermez. Çünkü *Staphylococcus aureus* gıdalarda uygulanan ısı ileme ortadan kaldırılrsa bile oluşturdıkları toksinler tahrip edilememektedir. Bu nedenle *Staphylococcus aureus* kontaminasyonlarından önemle kaçınılması gerekmektedir (Milci ve Yaygın, 2006).

Dondurma örneklerinden; 1., 2., 3. nolu örneklerde klasik metotla sırasıyla 6.4×10^2 , 8.7×10^2 ve 2.1×10^2 kob/g, aynı örneklerde TEMPO ile 7.3×10^2 , 4.5×10^2 ve 2.1×10^2 kob/g olarak *Staphylococcus aureus* identifikasyonu yapılmıştır. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine göre (2009/6) *S. aureus* sayısı 10^2 - 10^3 (100-1000) kob/g düzeyinde olmalıdır. Klasik metotla ortalama 5.73×10^2 kob/g, TEMPO test prosedürüne göre ortalama 4.63×10^2 kob/g düzeyinde sonuçlar elde edildiğinden söz konusu dondurmalar Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine uygundur.

Mukan ve Evliya (2002)'nin Adana'da dondurmalarla yaptıkları çalışmada örneklerin hiçbirisinde koagülaz (+) stafilokok bulunamamışken, örneklerin tümünde *S. epidermidis* (koagülaz negatif) saptanmışlardır. *S. epidermidis* varlığı gıdaların mikrobiyolojik kalitesi için olumsuz bir bakteri değildir (Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği, 2009/6).

4. örnekte klasik metotla 7.8×10^2 kob/g, TEMPO Test Prosedürüne göre 1.0×10^3 kob/g düzeyinde *S. aureus* saptanmıştır. Bu örneğinde Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine uygun olduğu görülmektedir. Özalp ve ark (1978), 70 süt tozu numunesiyle yaptıkları çalışmada sadece bir örnekte *S. aureus* izole edebilmişlerdir.

5. ve 6. numunede klasik metotla 1.7×10^2 ve 1.4×10^2 kob/g (ortalama: 1.55×10^2 kob/g), Tempo Test Prosedürüyle 1.0×10^2 ve 2.1×10^2 kob/g düzeyinde *S. aureus* saptanmıştır ve her iki örnek Türk Gıda Kodeksine uygundur. Erol ve ark (1998), Ankara'da yaptıkları çalışmada 100 dondurma örneğinin %20-30.8'inde ortalama 10^2 - 10^4 (100-10000) kob/g *S. aureus* tanılanmışlardır.

7. numunede klasik metotla <10 kob/g, TEMPO Test Prosedürüne göre 5.2×10^1 kob/g düzeyinde *S. aureus* saptanmıştır. Klasik metotla hesaplama yapılırken, BPA'da, 3 petrideki şüpheli koloni sayısı 20 ve üzeri olduğu zaman değerlendirmeye alınabilir (FDA/BAM, 2001). Dolayısıyla 3 petride şüpheli *S. aureus* sayısı minimum 20 olursa, 10 dilüsyon katsayısıyla çarpıldığında belli bir

sayının altındaki *S. aureus* miktarını tespit edemediğimiz ortaya çıkmaktadır. TEMPO test prosedürünün klasik yöntemle göre daha hassas olduğu görülmektedir.

18., 30., 33., 38. ve 45. örneklerde de aynı durum gözlenmiş olup, söz konusu numuneler uygundur.

8-40, 42 nolu örneklerde klasik ve TEMPO yöntemiyle mikroorganizmaya rastlanmamış olması, bu örneklerin Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine uygun olduğunu göstermektedir. Bunun sebebi söz konusu örneklerin anti-mikrobiyal özellikli katkı maddeleri ihtiva etmesi olabilir.

Bostan ve Akın (2002), çalışmalarında 300 paketlenmiş dondurma örneği kullanmışlar ve örneklerin hiçbirinde *S. aureus*'a rastlamamışlardır.

Korel ve ark (2005), 85 dondurma, Erdoğan ve ark (2006), çeşitli gıdalarla (mayonez, kolza, yağsız yoğurt, kısır), Şimşek ve Sağdıç (2006), dolaz (tort) peynirleriyle yaptıkları çalışmalarda hiçbir örnekte *S. aureus* izole edememişlerdir.

41. örnekte klasik metotla 2.3×10^2 kob/g, TEMPO ile 1.6×10^2 kob/g düzeyinde *S. aureus* saptanmış ve örnekte Türk Gıda Kodeksine uygun olduğu görülmüştür.

Kısa ve ark (1996), Ankara'da kremalı pastalarda ortalama 6.3×10^2 kob/g, kakaolu ve meyveli pastalarda ortalama 1.7×10^3 kob/g, Erol ve Usca (1996), 50 adet piliç karkas örneğinde ortalama 1.3×10^3 kob/g düzeyinde *S. aureus* saptamışlardır.

Özcan ve Kurdal (1997), Bursa'da limonlu dondurmelerde ortalama 10.11×10^2 kob/g, vişneli dondurmelerde 80.10×10^2 kob/g, çilekli dondurmelerde ortalama 11.46×10^3 kob/g, Erol ve ark (1998), sade dondurmelerde 1.0×10^2 - 6.3×10^5 kob/g, Usca ve Erol (1998), KKTC'de 50 adet hellim peynir örneğinin, %26'sında 1.0×10^3 kob/g, Toklu ve Yaygın (2000), Antalya'da 69 adet dondurma örneğinin %49.27'sinde koagülaz (+) *S. aureus* saptamışlardır.

43. örnekte klasik metotla 3.9×10^2 kob/g, TEMPO yöntemiyle 9.4×10^2 kob/g düzeyinde *S. aureus* bulunmuştur ve Tebliğe uygundur.

44. örnekte klasik yöntemle 9.6×10^2 kob/g, TEMPO ile 1.7×10^3 kob/g, 47. örnekte klasik yöntemle 8.7×10^2 kob/g, TEMPO yöntemiyle 1.7×10^3 kob/g düzeyinde *S. aureus* saptanmıştır. Türk Gıda Kodeksine göre; her iki örnekte de klasik yöntemle elde edilen sonuçlar kriterlere uygun, TEMPO ile elde edilen

verilere göre kriterlere uygun değildir. Daha önce belirtildiği gibi, TEMPO test sisteminin hassasiyeti söz konusudur.

Yücel ve Çıtak (2000), Ankara'da 30 dondurma örneğinde en yüksek 3.0×10^3 kob/g, en düşük 1.0×10^2 kob/g, Günşen ve Büyükyörük (2003), Bursa'da 125 adet vakumla paketlenmiş kaşar peynirinde en yüksek 1.8×10^3 kob/g, en düşük 1.0×10^2 kob/g, Keskin ve ark (2007), İstanbul'da 55 sade dondurma örneğinin %12.7'sinde (Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine uygun olmadığını belirtmişlerdir), Kumar ve ark (2009), Hindistan'da 10 süt örneğinin 1'inde 4.5×10^1 kob/g *S. aureus* saptamışlardır.

46. örnekte klasik yöntemle 2.1×10^2 kob/g, TEMPO yöntemiyle 2.6×10^2 kob/g *S. aureus*'a rastlanmıştır. Numune Türk Gıda Kodeksine uygundur.

48. örnekte klasik yöntemle 7.4×10^4 (74.000) kob/g, TEMPO ile 5.6×10^4 (56.000) kob/g *S. aureus* saptanmış, çalışılan 78 numune içerisinde mikroorganizma yükü bakımından en yüksek değer bulunduğ ve Kodekse uygun olmadığı görülmüştür.

Evrensel ve Anar (2003), Bursa'da çiğ sütlerle yaptıkları çalışmada koagülaz (+) *S. aureus* düzeyini 1.9×10^4 kob/mL, pastörize edilip soğutulan süt örneklerinde 10^3 - 10^4 kob/mL, salamurada koagülaz (+) *S. aureus* düzeyini 5.0×10^4 kob/g olarak bildirmişlerdir.

Ağaoğlu ve Alemdar (2004), Van'da 75 dondurma örneğinin %13.3'ünde, Önager ve Kırbağ (2009), 30 adet çökelek peynirinde en çok 10.28×10^6 kob/g, en az 6.0×10^6 kob/g, Garcia ve ark (2009), İspanya'da 75 süt örneğinin hepsinde *S. aureus* saptamışlardır.

49-58 ve 60-78 nolu örneklerde hem klasik hem de TEMPO yöntemiyle mikroorganizma izole edilememiştir. Bu durum; söz konusu örneklerin üretim aşamalarında çalışan personelin gereken titizliği/dikkati gösterdiği ve HACCP kurallarına uyduğunu göstermektedir.

59 nolu örnekte klasik yöntemle 4.4×10^3 kob/g, TEMPO yöntemiyle 1.6×10^4 kob/g düzeyinde *S. aureus* izole edilmiştir. Bu numune Türk Gıda Kodeksine uygun değildir.

Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri hakkındaki Tebliğe göre (2008/26) muhtemel riskli gıdalarda *stafilokokal enterotoksin* bulunmamalıdır.

Bu çalışmaya dahil edilen dondurma örneklerinde, koagülaz (+) *Staphylococcus aureus* aranmasına paralel olarak stafilokokal enterotoksin varlığı açısından da VIDAS yöntemiyle test edilmiş ve 27. ve 28. örnekte (%2.56) enterotoksin varlığı gösterilmiştir. Bu iki örnekte klasik ve TEMPO yöntemiyle hiç *S. aureus* saptanamamıştır. Bu sonuçlar araştırma açısından ilginçtir. Çünkü her iki örnekte de canlı bakteriye rastlanmazken enterotoksin varlığı, dondurma üretiminde kullanılan sütlerde en azından 1.0×10^5 kob/g *S. aureus* bulunduğunu ve pastörizasyon aşamasında bakterilerin tamamen elimine olduğunu göstermektedir. Buradan hareketle bir gıdada canlı bakteriye rastlanmıyor olması o gıdayı gıda zehirlenmeleri (gıda intoksikasyonu) açısından güvenli kılmaz. *S. aureus* sıcaklık uygulamalarına oldukça duyarlı bir mikroorganizmadır ve uygulanan sterilizasyon ve/veya pastörizasyon işlemiyle ortamdan kolayca elimine olmaktadır. SE-A (stafilokokalenterotoksin-A) ve SE-B'nin (stafilokokalenterotoksin-B) 100°C'de 90 dakikada, SE-C'nin (stafilokokalenterotoksin-C) 100 °C'de 180 dakikada tamamen inaktive oldukları bilinmektedir (Erol ve İşeri, 2004). Dondurma üretiminde pastörize süt kullanılmakta ve enterotoksinlerin elimine olacağı sıcaklık dereceleri ve sürelerinde ısı işlem uygulanmamaktadır. Bu yüzden mikroorganizma yükü yüksek sütler enterotoksine bağlı gıda zehirlenmelerinde primer sorumludur. Bone ve ark (1989), İngiltere'de koyun sütlerinde canlı *S. aureus* ve enterotoksin taraması yapmışlar ve hiçbir örnekte canlı bakteriye rastlamazken %18 örnekte SE-A saptamışlardır.

Özalp ve ark (1978), tulum peynirlerinde canlı bakteriye rastlamazken stafilokokal enterotoksin saptadıklarını bildirmişlerdir.

Wieneke ve ark (1993), Londra'da peynir yiyen ve zehirlenerek hastaneye başvuran kişilerin yedikleri peynir örneklerinde *S. aureus* bulunmamasına karşın enterotoksin saptadıklarını rapor etmişlerdir.

Castro ve ark (1986), Şili'de ev yapımı peynirlerin hepsinde koagülaz (+) stafilokoka rastlarken, örneklerin hiçbirinde enterotoksin saptayamamışlardır.

Rosec ve ark (1997), Fransa’da çiğ sütlerden üretilen peynir örneklerinden izole edilen *S. aureus* suşlarının %15.9’unun enterotoksin ürettiğini, diğer gıdalardan izole edilen *S. aureus* suşlarının %43’ünün enterotoksijenik özellikte olduğunu belirtmişlerdir.

Akineden ve ark (2001), Almanya’da 103 süt örneğinin hepsinde *S. aureus* izole ederken, 75 örnekte stafilokokal enterotoksine rastlamışlardır.

Küplülü ve ark (2002), pastörize sütlerle yaptıkları çalışmalarında örneklerin ikisinde SE-A saptamışlardır.

Normanno ve ark (2005), İtalya’da çeşitli gıda ürünlerinde, toplam 298 *S. aureus* izole etmişler ve bu izolatların %55.5’inin bir ya da daha fazla enterotoksin içerdiğini bildirmişlerdir.

Yılmaz ve Gönülalan (2010), 60 adet süt örneğinin 30’unda *S. aureus*, 37’sinde stafilokokal enterotoksin saptamışlardır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Adana'da farklı satış noktalarından alınan 78 dondurma örneğinde koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus* ve enterotoksin varlığının saptanması amaçlanmıştır.

Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri hakkındaki Tebliğe göre (2008/26); muhtemel riskli gıdalarda stafilkokal enterotoksinler tespit edilmemelidir.

Bu çalışmada 2 örnekte (27. ve 28. örnekler) VIDAS yöntemiyle stafilkokal enterotoksin (%2.56) varlığı gösterilmiştir. Fakat her iki örnekte klasik ve TEMPO yöntemiyle *S. aureus* saptanamamıştır. Küplülü ve ark (2002)'nin Ankara'da pastörize sütlerle yaptıkları çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Sütlerde *S. aureus*'a rastlamadıkları halde stafilkokal enterotoksin saptamışlardır.

Wieneke ve ark (1993), peynir yiyen iki kişinin besin zehirlenmesi şikayetiyle hastaneye başvurduklarını, peynir örneklerinde canlı *S. aureus* bakterisine rastlamadıkları halde stafilkokal enterotoksin izole ettiklerini bildirmişlerdir ve sonuçlar bu çalışmada elde edilen araştırma bulguları ile uyumludur.

Stafilkoklar, insanların üst solunum yolları ve derileri üzerinde doğal florayı oluşturan mikroorganizmadır. Bu nedenle gıdaların stafilkoklarla kontaminasyonunda en önemli vektör gıda üretiminde çalışan personel olarak tanımlanmaktadır. Pastörize sütlerin *S. aureus* ile kontaminasyonunda uygun olmayan pastörizasyon koşulları ile pastörizasyon sonrası kontaminasyon da önemli bir yer tutmaktadır.

Stafilkoklar sıcaklık uygulamalarına oldukça duyarlıdır. 60°C'de 30 dakikada tamamen elimine olmaktadır. Oysa stafilkokal enterotoksinler sıcaklık uygulamalarına dayanıklıdır (Erol ve İşeri, 2004) . Bu nedenle gıdada ısıl işleme maruz kalmadan önce *S. aureus* kolonizasyonu gerçekleşmiş ve enterotoksin üretmişse, UHT ve Pastörizasyon işleminden sonra *S. aureus* bulunmazken stafilkokal enterotoksine rastlanılmaktadır.

Gıda endüstrisinde kullanılan sıcaklık işlem uygulamaları stafilkokal enterotoksinleri yeterli seviyede inaktive etme performansı sağlayamamaktadır.

Primer kontaminasyonlar ve re-kontaminasyonlar bu yönden önem arz etmektedir. Örneğin çiğ sütlerde mastitis gibi nedenlerden dolayı bulunabilecek enterotoksijenik stafilocoklar, süt pastörize edilse dahi toksinlerin termostabil olması nedeniyle risk oluşturabilirler. Bu açıdan stafilocokal intoksikasyonun engellenmesi, enterotoksijenik stafilocokların gıdalarda üreme ve enterotoksin oluşturmalarının önlenmesi ile mümkün olabilir (Kılıç, 2007).

Özalp ve ark (1978), 26 adet tulum peynirinde hiç stafilocoka rastlamadıkları halde stafilocokal enterotoksin bulduklarını, Bone ve ark (1989), koyun sütünden yapılmış peynirlerde hiçbir canlı patojene rastlamadıkları halde stafilocokal enterotoksine saptadıklarını bildirmişlerdir.

Cremonesi ve ark (2006), çalışmalarında 111 süt örneğinin tamamında *S. aureus* ve 95 örnekte enterotoksin tespit etmişlerdir.

Klinik ve subklinik mastitis etkeni olan *S. aureus*, çiğ süttten sıklıkla izole edilebilmiştir. Stafilocokal enterotoksinlerin termostabil olduğu ve pastörizasyon sıcaklıklarında bozulmadıkları göz önüne alındığında *S. aureus* ile kontamine çiğ sütlerin pastörize edilse bile potansiyel sağlık riski taşıyabileceği açıktır (Küplülü ve ark, 2002).

Dondurma; Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO) ile Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO)'nın belirlediği kriterlere göre, kuru madde miktarı %31-41, %8-15 süt yağı, %9-11 yağsız süt, %15-17 şeker ve %0.2-1.0 stabilizatör ve emülgatörden oluşması gerekmektedir. Dondurma, üretimi ve muhafazası sırasında mikrobiyolojik kontaminasyona çok açıktır. Gerekli hijyen kurallarına uyulmadan yapılan üründe, her türlü mikroorganizmanın gelişip çoğalabilmesi mümkün olabilmektedir (Korel ve ark, 2005). Çünkü dondurma zenginleştirilmiş bir besiyeri içeriğindedir.

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine göre 2009/6 dondurmada *S. aureus*'un kabul edilebilir sayısı 10^2 - 10^3 kob/g arasında olmalıdır.

Bu araştırmada; klasik yöntemle *S. aureus* aranması ve sayımı gerçekleştirilmiş 78 dondurma örneğinin 13'ünde (%16.7) minimum 1.4×10^2 kob/g, maksimum 7.4×10^4 kob/g ve ortalama 6.5×10^3 kob/g düzeyinde *S. aureus* saptanmıştır. TEMPO test sistemi ile yapılan sayımlarda 78 örneğin 19'unda

(%24.4), minimum 1.0×10^1 kob/g, maksimum 5.6×10^4 kob/g ve ortalama 4.2×10^3 kob/g düzeyinde *S. aureus* saptanmıştır.

Toklu ve Yaygın (2000), 69 dondurma örneği incelemiş ve örneklerin %49'unda, Akineden ve ark (2001), Almanya'da 103 süt örneğinin hepsinde *S. aureus* saptamışlardır.

Mukan ve Evliya (2002), Adana'da dondurmalarla yaptıkları çalışmada hiçbir örnekte *S. aureus* saptamamışlar fakat *S. epidermidis* izole etmişlerdir.

Bu çalışmada klasik yöntemle örneklerin %13'ünde, TEMPO test sistemiyle %24.4'ünde *S. aureus* saptanmasının en önemli sebebini bazı örneklerin küçük işletmelerden alınmış olması ile izah edebiliriz. Çünkü küçük işletmeler tam teşekküllü gıda üretim teknolojileri kullanmadıklarından, üretim aşamasında stafillakokal kontaminasyon her zaman muhtemeldir.

Türk Gıda Kodeksine göre bu çalışmada 5 örnek *S. aureus* düzeyi, 2 örnekte stafillokokal enterotoksin varlığı nedeniyle riskli bulunmuştur.

Dondurmanın üretimi sırasında kullanılan hammadde, koruyucular, katkılar, karışıma uygulanan sıcaklık ve saklama koşulları, servis ve tüketim sırasında kullanılan kapların temizliği, çalışan personelin hijyen ve sanitasyon kurallarına uygun davranıp davranmadığı gibi pek çok parametre dondurmanın mikrobiyolojik kalitesini etkilemektedir.

Yüksek kalitede çiğ materyal kullanılması ve üretim prosesinin titizlikle uygulanması dondurmanın mikrobiyolojik açıdan güvenilirliği için tek başına yeterli olmamaktadır. Dondurma üretimi sırasında havadan, alet ve gereçlerden, personelden ve diğer kaynaklardan mikrobiyal bulaşmalar mümkün olabilmektedir. Pastörizasyon işleminden sonraki safhalarda gerçekleşen bulaşmalar ise dondurma kalitesi ve tüketici sağlığı açısından özellikle önemlidir (Bostan ve Akın, 2002).

Tüketime sunulan dondurmaların bakteriyolojik kalitelerinin halk sağlığı açısından tehlike oluşturmaması için, üretimin modern tesislerde yapılması, çalışan personelin sağlık kontrollerinin düzenli yapılması ve personele düzenli aralıklarla özellikle mikrobiyal kontaminasyon risklerinin anlatılması, gıda laboratuvarlarının üretim yerlerinde mikrobiyal üreme için önemli bir faktör olan sıcaklığın yüksek

olduğu yaz aylarında ciddi bir şekilde kontrollerini yapmaları, uygunsuzluk durumunda gerekli yasal prosedürün işletilmesi büyük önem arz etmektedir.

Dondurma; sevilen tadı ve aroması, ferahlatıcı özelliği, besin değerinin yüksekliği nedeniyle, tüm ülkelerde her yaştaki kişiler, özellikle çocuklar ve gençler tarafından çok tüketilen bir gıdadır. Dondurma birçok ülkede kış aylarında da tüketilen bir gıda özelliğinde olup ve ABD ve Avustralya'da kişi başına yıllık tüketim 24 kg'ı geçmektedir. Ülkemizde ise kişi başına yıllık tüketim 0.4 kg'dır (Toklu ve Yaygın, 2000).

Dondurma işletmelerinde kritik kontrol noktaları (HACCP, Hazard Analysis Critical Control Point) belirlenerek sürekli denetim altında tutulmasının, personel hijyenine ve eğitimine gereken önemin verilmesinin dondurmalarda stafilocokal enterotoksin oluşma riskini en aza indireceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak bu araştırmada 2 örnekte stafilocokal enterotoksin saptanması oransal olarak düşük olmakla birlikte halk sağlığı için basit bir gıda intoksikasyonundan, ölüme kadar gidebilecek risk taşıyor olması hijyen ve sanitasyon konularının ihmal edildiğini bir kez daha kanıtlamıştır.

KAYNAKLAR

- AĞAOĞLU, S., ve ALEMDAR, S., 2004. Van'da tüketime sunulan dondurmalarda bazı patojenlerin varlığının araştırılması. YYÜ Vet. Fak. Derg., 15(1-2): 59-64.
- AKINEDEN, Ö., ANNEMÜLLER, C., HASSAN, A.A., LAMMLER, C., WOLTER, W., and ZSCHÖCK, M., 2001. Toxin genes and other characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from milk of cows with mastitis. American society for microbiology, 8(5): 959-964.
- AKTAŞ, F., 2006. Stafilokokal enfeksiyonlar. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ders Notları.
- ALİŞARLI, M., EMRULLAH, S., ALEMDAR, S., ve AKKAYA, L., 2002. Kremalı pastalarda *Staphylococcus aureus* suşlarının gelişme ve enterotoksin oluşturma özellikleri üzerine etki yapan faktörler. Türk J. Vet. Anim. Sci., 26: 535-542.
- ALİŞARLI, M., SANCAK, Y.C., AKKAYA, L., ve ELİBOL, C., 2003. Bazı sütli gıdalarda *Staphylococcus aureus*'un izolasyonu, termonükleaz aktivitesi ve enterotoksijenik özelliklerin araştırılması. Türk J. Vet. Anim. Sci., 27: 1457-1462.
- AYGEN, B., 2008. Metisiline dirençli stafilokok ve vankomisine dirençli enterokok enfeksiyonları epidemiyoloji patogenez ve tanısı. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı-Kayseri, 96s.
- BALABAN, N., and RASOOLY, A., 2000. Staphylococcal enterotoxins. Int. J. Food. Microbiol, 61:1-10.
- BECKER, K., FRIEDRICH, A.W., LUBRITZ,G., WEILERT, M., PETERS, G., and EIFF, C.V., 2003. Prevalance of genes encoding pyrogenic toxin superantigens and exfoliative toxins among strains of *Staphylococcus aureus* isolated from blood and nasal specimens. J. Clin. Microbiol, 41(4): 1434-1439.

- BELITZ, H. D., GROSCH, W., and SCHEIEBERLE, P., 2009. Food contamination. Food chemistry, 9(11): 467-497.
- BİÇER, A.T., 2009. Hastane izolatu *Staphylococcus aureus* ve koagulaz negatif *Staphylococcus* suşlarında metisilin direncinin farklı yöntemlerle araştırılması. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı-Uzmanlık Tezi 80s.
- BONE, F.J., BOGIE, D., and MORGAN-JONES, S.C., 1989. Staphylococcal food poisoning from sheep milk cheese. Epidemiol Infection, 103: 449-458.
- BOSTAN, K., ve AKIN, B., 2002. Endüstriyel dondurmaların mikrobiyolojik kalitesi üzerine bir araştırma. Türk J. Vet. Anim. Sci., 26: 623-629.
- BOZKURT, T., 2009. Hastane kökenli MDR-MRSA suşlarında protein-A geni (spa) dizi analizinin klonal ilişkinin tespitindeki rolü. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı-Yüksek Lisans Tezi 95s.
- BRET, M.M., 2006. Kits for detection of food poisoning toxins produced by *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*. Methods in Biotechnology, 21(1): 91-98.
- BRETT, M. M., 2006. Kits for detection of food poisoning toxins produced by *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*. Methods in Bioechnology, 21(1): 91-98.
- CAREY, R. B., BASELSKI, V., GILLIGAN, P. H., GRAY, L., HUMES, R., KRISHER, K., LOVCHIK, J., MANGAL, J., MANGAL, C. N., SHAPRO, D. S., SHARP, S., SNYDER, J.W., WEISSFELD, A., WELC, D., and YORK, M. K., 2004. Staphylococcal enterotoksin B. Sentinel laboratory guideines for suspected agents of bioterrorism. American society for Microbiology, 1-10.
- CASTRO, R., SCHOEBITZ, R., MONTES, R., and BERGDOLL,M.S., 1986. Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from cheese from unpasteurized milk. Lebensm. Wiss. Technol. , 19(5): 401-402.

- CASTRO, R., SCHOEBITZ, R., MONTES, L., and BERGDOLL, M.S., 1986. Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* isolated from cheese made from unpasteurized milk. *Leben. Wiss. Technol.*, 19(5): 401-402.
- CENGİZ, A.T., 1999. *Staphylococcus*. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji Kitabından. Ankara Güneş Kitabevi, 339-346.
- COWELL, N.A., HANSEN, M.T., LANGLEY, A.J., GRAHAM, T.M., and BATES, J.R., 2002. Outbreak of Staphylococcal enterotoxin food poisoning. *Communicable Diseases Intelligence*, 26: 4.
- CREMONESI, P., VIMERCATI, C., PISONI, G., CASTIGLIONI, B., LUZZANA, M., and RUFFO, G., 2006. Identification of enterotoxin genes *Staphylococcus aureus* isolates from bovine and caprine milk. *Veterinary Research Communications*, 30: 41-243.
- ÇIRAK, M. Y., 1999. Enzyme linke Immunoorbent assay sistemleri. *T. Klin. Tıp Bilim.*, 19: 242-248.
- DAMON, H.A., and COURVALIN, P., 1999. Bacterial resistance to antimicrobiol agents selected problems in France (1996-1998). *Emerging Infectious Diseases*, 5(3): 1-180.
- DEMİR, M., KALELİ, İ., CEVAHİR, N., ve METE, E., 2003. Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan *Staphylococcus aureus* suşlarında antibiyotik direnci. *Ankem Derg.*, 17(1): 56-59.
- DINGES, M. M., ORWIN, M. P., and SCHLIEVERT, P. M., 2000. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol, Rev.* Jan: 16-34
- DONELLY, C.B., LESLIE, J.E., and BLACK, L.A., 1968. Production of enterotoxin A in milk. *American Society for Microbiology*, 16(6): 917-924.
- EKİCİ, L., TELLİ, R., ve YETİM, H., 2008. Gıda kaynaklı enfeksiyon ve İntoksikasyon bakterileri-1. *Gıda teknolojileri elektronik dergisi*, 2: 29-42.
- ELLIS, M., SERRELI, A., COLQUE-NAVARRO, P., HEDSTROM, U., CHACKO, A., SIEMKOWICZ, E., and MÖLLBY, R., 2003. Role of staphylococcal enterotoxin A in fatal case of endocarditis. *J. Med. Microbiol*, 52: 109-112.

- ERDOĞRUL, Ö., ERBİLİR, F., ve TOROĞLU, S., 2006. Survival of acid-adapted and non-adapted *Staphylococcus aureus* in various food samples. *Annals of Microbiology*, 56(1): 25-27.
- EROL, İ., KÜPLÜLÜ, Ö., SIRIKEN, B., ve ÇELİK, T.H., 1998. Ankara'daki çeşitli pastanelere ait dondurmaların mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. *Tr, J. of Veterinary and Animal Sciences*, 22: 345-352.
- EROL, İ., ve İŞERİ, Ö., 2004. Stafilocokal enterotoksinler. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 51: 239-245.
- EROL, İ., ve USCA, A., 1996. Donmuş piliç karkaslarından izole edilen koagülaz pozitif stafilocokların enterotoksin oluşturma yeteneklerinin SET-RPLA testi ile belirlenmesi. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 43: 443-448.
- ERTAŞ, N., ve GÖNÜLALAN, Z., 2010. Kayseri ilinde satılan çiğ sütlerde *Staphylococcus aureus* ve enterotoksinlerinin varlığı üzerine araştırmalar, 24(1): 11-15.
- EVRENSEL, S.S., TEMELLİ, S., ve ANAR, Ş., 2003. Mandıra düzeyindeki işletmelerde beyaz peynir üretiminde kritik kontrol noktalarının belirlenmesi. *Türk J. Vet. Anim. Sci.*, 27: 29-35.
- EVRENSEL, S.S., ve GÜNEŞ, E., 1998. Bursa'da tüketilen dondurmaların kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi, 23(4): 261-265.
- EWALD, S., 1987. Enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* strains isolated from Danish foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 4(3): 207-214.
- FARKAS, J., ANDRASSY, E., and FEHER, K. P., 2005. Improvement of the microbiological safety of two chilled semi-prepared meals by Gamma irradiation. *Food. Technol. Biotechnol.*, 43(3): 263-69.
- FOOD&DRUG (U.S.) ADMINISTRATION, Center for food safety & Applied nutrition, Chapter 13A: 1-26.
- FUEYO, J.M., MENDOZA, M.C., and MARTIN, M.C., 2005. Enterotoxins and toxic shock syndrome toxin *Staphylococcus aureus* recovered from human nasal carriers and manually handled foods: epidemiological and genetic findings. *Microbes and Infection*, 7: 187-194.

- FUJIKAWA, H., ve MOROZUMI, S., 2006. Modeling *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin production in milk. Food Microbiology, 23: 260-267.
- GARCIA, P., MADERA, C., MARTINEZ, B., RODRIGUEZ, A., and SUAREZ, J.E., 2009. Prevalance of bacteriophages infecting *Staphylococcus aureus* in dairy samples and their potential as biocontrol agents. J. Dairy Sci., 92(7): 3019-3026.
- GILLIGAN, K., SHIPLEY, M., STILES, B., HADFIELD, T.L., and IBRAHIM, S., 2000. Identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxins A and B genes by PCR-ELISA. Molekuler and Cellular Probes, 14: 71-78.
- GOMES, A.M.P., PINTADO, M.E., and MALCATA, F.X., 2007. Pathogenic, commensal and benficial microorganisms in foods. 177-201.
- GULBANDILAR, A., 2009. Kütahya yöresinde burun mukozasındaki *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığının ve antibiyotik duyarlılığının araştırılması. Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 18: 1-5.
- GÜLAY, Z., 2002. Antibiyotik duyarlılık testlerinin yorumu. Türk Toraks Dergisi, 3(1): 75-88.
- GÜNŞEN, U., ve BÜYÜKYÖRÜK, İ., 2003. Piyasadan temin edilen taze kaşar peynirlerinin bakteriyolojik kaliteleri ile Aflatoksin M₁ düzeylerinin belirlenmesi. Türk J. Vet. Anim. Sci., 27:821-825.
- HALKMAN, A.K., 2005. MERCK gıda mikrobiyolojisi uygulamaları, Başak Matbaacılık, Ankara, 358 s.
- HAMAD, A.R., MARRACK, P., and KAPPLER, J.W., 1997. Transcytosis of staphylococcal superantigen toxins. J. Exp. Med., 185(8): 1447-1454.
- HENRIQUES, A.F., JENKINS, R.E., BURTON, N.F., and COOPER, R.A., 2010. The intracellular effects of manuka honey on *Staphylococcus aureus*. Eur. J. Clin. Microbiol Infect. Dis., 29: 45-50.
- <http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/920020075.pdf> (Erişim tarihi: 20 Aralık 2010).
- İŞERİ, Ö., ve EROL, İ., 2009. Hindi etinden kaynaklanan başlıca bakteriyel infeksiyon ve intoksikasyonlar. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 56: 47-54.

- KESKİN, Y., BAŞKAYA, R., ÖZYARAL, O., ve KIYAN, P., 2007. Sade dondurmaların mikrobiyolojik incelenmesi. *Türk Mikrobiyol Cem. Derg.*, 37(1): 51-58.
- KILIÇ, S., 2007. Hindi etlerinden izole edilen koagulaz pozitif Stafilokokların enterotoksin oluşturma yeteneklerinin EIA (Enzyme Immuno Assay) yöntemiyle belirlenmesi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü-Yükek lisans tezi 64s.
- KISA, Ö., ALBAY, A., EROL, İ., SIRIKEN, B., ESİN, N., GÜN, H., ve YURTYERİ, A., 1996. Kremalı pastalardan izole edilen koagulaz (+) stafilokokların enterotoksin oluşturma özelliklerinin VIDAS yöntemiyle belirlenmesi. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 43: 405-411.
- KOREL, F., ÖMEROĞLU, S., ve TAN, G., 2005. Manisa piyasasında satılan ambalajlı ve ambalajsız dondurmaların kalitelerinin değerlendirilmesi. *Harran Üniv. Zir. Fak. Dergisi*, 9(2): 11-18.
- KUMAR, T.D.K., MURALI, H.S., and BATRA, H.V., 2009. Simultaneous detection of pathogenic *B. cereus*, *S. aureus* and *L. Monocytogenes* by multiplex PCR. *Indian J. Microbiol*, 49: 283-289.
- KUTLU, S.B., 2006. Çeşitli klinik materyallerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında metisilin direnci ve e-test ile vankmisin mic değerlerinin araştırılması. Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği-Uzmanlık Tezi 61s.
- KÜPLÜLÜ, Ö., SARİMEHMETOĞLU, B., ve KAYMAZ, Ş., 2002. Pastörize sütlerde Elisa tekniği ile Stafilokokal Enterotoksin varlığının belirlenmesi. *Türk J Vet Anim Sci.*, 26: 631-637.
- LETERLE, C., PERELLE, S., DILASER, F., and FACH, P., 2003. Identification of a new putative enterotoxin SEU encoded by the egc cluster of *Staphylococcus aureus*. *J. Appl. Microbiol*, 95(1): 38-43.
- LIST BIOLOGICAL LABORATORIES, INC., 1999. Enterotoxin type B from *Staphylococcus aureus*. Product Number 122.
- LOIR, Y.L., BARON, F., and GAUTIER, M., 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet. Mol. Res.*, 2(1): 63-76.

- MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., and PARKER, J., 1997. Brock Biology of Microorganisms, Eighth Edition, Prentice Hall International, Inc, Printed in USA.
- MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., DUNLAP, P.V., and CLARK, D.P., 2009. Biology of Microorganisms, Twelfth Edition, Pearson Education, Inc., publishing, Pearson Benjamin Cummings, San Francisco.
- MİLCİ , S., ve YAYGIN, H., 2006. Peynirlerden kaynaklanan *Staphylococcus aureus* zehirlenmesi. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 297-298.
- MONECKE, S., LÜDICKE, C., SLICKERS, P., and EHRICHT, R., 2009. Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* in asymptomatic carriers. Eur. J. Clin. Microbiol Infect Dis., 28: 1159-1165.
- MUKAN, M., ve EVLİYA, B., 2002. Adana piyasasında tüketime sunulan sade-kaymaklı dondurmalarının mikrobiyolojik kalitelerinin tüketici sağlığı açısından değerlendirilmesi, 27(6): 48-496.
- MUTLUER, B., EROL, İ., KAYMAZ, Ş., ve AKGÜN, S., 1993. Enterotoksijenik *Staphylococcus aureus* suşlarının beyaz peynirde üretim ve olgunlaşma sırasındaki üreme ve enterotoksin oluşturma yetenekleri. A. Ü. Vet. Fak. Derg., 40(3): 413-426.
- NAMIDURU, M., ve KARAOĞLAN, İ., 2003. Cerrahi yoğun bakım ünitesinde hastane infeksiyonu etkeni olan *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotik dirençleri. Van Tıp Dergisi, 10(3): 72-75.
- NISKANEN, A., KOIRANEN, L., and ROINE, K., 1978. Staphylococcal enterotoxin and thermonuclease production during induced bovine mastitis and the clinical reaction of enterotoxin in udders. Infection and Immunity, 493-498.
- NORMANNO, G., FIRINU, A., VIRGILIO, S., MULA, G., DAMBROSIO, A., POGGIU, A., DECASTELLI, L., MIONI, R., SCUOTA, S., BOLZONİ, G., GIANNATALE, E.D., SALINETTI, A.P., SALANDRA, G.L., BARTOLI, M., ZUCCON, F., PIRINO, T., SIAS, S., PARISI, A., QUAGLIA, N.C., and CELANO, G.V., 2005. Coagulase-positive *Staphylococci* and *Staphylococcus*

- aureus* in food products marketed in Italy. International Journal of Food Microbiology, 98: 73-79.
- OLIVER, S.P., JAYARAO, B.M., and ALMEIDA, R.A., 2005. Foodborne pathogen mastitis milk quality and dairy food safety. NMC Annual Meeting Proceedings, 1-26.
- OMOE, K., HU, D. L., TAKAHASHI, O., NAKANE, A., and SHINAGAWA, K., 2003. Identification and characterization of a new staphylococcal enterotoxin-related putative toxin encoded by two kinds of plasmids. Infect. Immun, 71: 6088-6094.
- OMOE, K., ISHIKAWA, M., SHIMODA, Y., HU, D. L., UEDA, S., and SHINGAWA, K., 2002. Detection of *seg*, *seh* and *sei* genes in *Staphylococcus aureus* isolated and determination of the enterotoxin productivities of *S. aureus* isolates harboring *seg*, *seh* or *sei* genes. J. Clin. Microbiol, 40: 857-862.
- ORWIN, O. T., FITZGERALD, J. R., LEUNG, D. Y. M., GUITEMEZ, J. A., BOHACH, G. A., and SCHLIEVERT, P. M., 2003. Characterization of *Staphylococcus aureus* enterotoxin L. Infect. Immun, 71: 6088-6094.
- ÖKSÜZTEPE, G., PATIR, B., DİKİCİ, A., ve İLHAK, O.İ., 2009. Elazığ'da tüketime sunulan vakum paketli taze kaşar peynirlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi. Fırat Üniversitesi sağlık bilimleri veteriner dergisi, 23(2): 89-94.
- ÖNCÜL, A.B., 2006. Toplumda ve hastanede edinilmiş nazal stafilokok taşıyıcılığında risk faktörleri ve direnç durumlarının karşılaştırılması. Şişli Etfal Eğitim ve Araştırması Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği-Uzmanlık Tezi 68s.
- ÖNGANER, A.N., ve KIRBAĞ, S., 2009. Diyarbakır'da taze olarak tüketilen çökelek peynirlerinin mikrobiyolojik kalitesi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 25(1-2): 24-33.
- ÖZALP, E., KAYMAZ, Ş., ve AKŞEHİRLİ, E., 1978. Erzincan tulum peynirlerinde enterotoksijenik *stafilokoklar* ve *salmonella*'lar yönünden araştırma. A. Ü. Veterinerlik Fakültesi Besin Kontrolü ve Teknolojisi Kürsüsü.

- ÖZALP, E., KAYMAZ, Ş., ve İNAN, T., 1978. Süt tozlarında enterotoksijenik stafilkoklar ve enterotoksin varlığı üzerinde araştırmalar. A.Ü. Veterinerlik Fakültesi Besin Kontrolü ve Teknolojisi Kürsüsü.
- ÖZCAN, T., ve KURDAL, E., 1997. Bursa ili merkezinde satılan meyveli dondurmaların kimyasal ve mikrobiyolojik nitelikleri üzerine araştırma, 22(3): 217-225.
- ÖZKÜTÜK, A., ÖZDEMİR, S., ERGON, C., ve YULUĞ, N., 2003. Askeri personelde metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* burun taşıyıcılığı prevalansı. İnfeksiyon Dergisi, 17(3): 285-287.
- RASOOLY, A., and RASOOLY, R., 1998. Detection and analysis of Staphylococcal enterotoxin A in food by Western İmmunoblotting. International Journal of Food Microbiology, 41: 205-212.
- ROSEC, J.P., GUIRAUD, J.P., DALET, C., and RICHARD, N., 1997. Enterotoxin production by staphylococci isolated from foods in France. International Journal of Food Microbiology, 35(3): 213-221.
- SAĞUN, E., ALIŞARLI, M., ve DURMAZ, H., 2003. Farklı sıcaklıklarda muhafazanın çiğ öftede *Staphylococcus aureus*'un gelişimi ve enterotoksin üretimi üzerine etkisi. Türk J. Vet. Anim. Sci., 27: 839-845.
- SİPAHİ, O.R., PULLUKÇU, H., AYDEMİR, Ş., TAŞBAKAN, M., TUNGER, A., ARDA, B., YAMAZHAN, T., ve ULUSOY, S., 2007. Mikrobiyolojik kanıtlı hastane kökenli *Staphylococcus aureus* bakteremilerinde direnç paternleri: 2001-2005 yıllarının değerlendirilmesi. Aknem derg, 21(1): 1-4.
- SOEJIMA, T., NAGAO, E., YANO, Y., YAMAGATA, H., KAG, H., and SHINAGAWA, K., 2007. Risk evaluation for staphylococcal food poisoning in processed milk produced with skim milk powder. International Journal of Food Microbiology, 115: 29-34.
- SPECHT, M.V., GARDELLA, ., TAGLIAFERRI, P., GUTKIND, G., and MOLLERACH, M., 2006. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in community-acquired meningitis. Eur. J. Clin. Microbiol Infect Dis., 25: 267-269.

- ŞARDAN, Y.Ç., 2000. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* infeksiyonlarının epidemiyolojisi ve kontrolü. Hastane İnfek. Derg., 4: 205-207.
- ŞİMŞEK, B., ve SAĞDIÇ, O., 2006. Isparta ve yöresinde üretilen dolaz (tort) peynirinin bazı kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 10-3: 346-351.
- TOKLU, G.Ş., ve YAYGIN, H., 2000. Antalya piyasasında satılan dondurmaların hijyenik kalitesi. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri, VI. Süt ve süt ürünleri sempozyumu. Tekirdağ, 532-539.
- TOKLU, G.Ş., ve YAYGIN, H., 2000. Antalya piyasasında satılan dondurmaların hijyenik kalitesi. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri, VI. Süt ve süt ürünleri sempozyumu. Tekirdağ, 532-539.
- TOMI, N.S., KRANKE, B. and GRAZ, E.A., 2005. Psoriasis, atopik dermatit, eritrodermi hastalarında ve sağlıklı kontrol bireylerinde Stafilokokal toksinler. Jaad Türkçe Baskısı, 2(4): 254-259.
- TSAI, W.C. and LI, I.C., 2008. SPR-based immunosensor for determining Staphylococcal enterotoxin A. Sensor and Actuators B., 136: 8-12.
- TUNAİL, N., 2000. *Staphylococcus aureus*. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara, 3(2): 522.
- TÜKEL, Ç., ve DOĞAN, H., 2000. Gıda mikrobiyolojisi ve uygulamaları, genişletilmiş 2.2 baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Sim Matbaası. Ankara, 14: 522.
- USCA, A., ve EROL, İ., 1998. Hellim peynirinin mikrobiyolojik kalitesi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 45: 97-103.
- UZUNLU, S., YILDIRIM, İ., ve DEMİR, M., 2004. Survival characteristics of some pathogenic bacteria in vanilla ice cream at different storage periods. Türk Mikrobiyol Cem. Derg., 34: 195-199.
- VARSHNEY, A.K., MEDIAYILLA, J.R., ROBIOU, N., GUH, A., WANG, X., GIALANELLA, P., LEVI, M.H., KREISWIRTH, .N., and FRIES, B.C., 2009. Diverse enterotoxin gene profiles among clonal complexes of

- Staphylococcus aureus* isolated from the Bronx, New York. American Society for Microbiology, 75(21): 6839-6849.
- VERNOZY-ROZAND, C., MAUZY-CRUCHAUDET, C., BAVAI, C., and RICHARD, Y., 2004. Comparision of three immunological methods for detecting staphylococcal enterotoxins from foods. Lett. Appl. Microbiol, 39(6): 490-494.
- WIENEKE, A. A., ROBERTS, D., and GILBERT, R. J., 1993. Staphylococcal food poisoning in the United Kingdom. Epidemiol Infect, 110: 519-531.
- YILMAZ, S., ve GÖNÜLALAN, Z., 2010. Kayseri bölgesinde tüketime sunulan çiğ sütlerde *Staphylococcus aureus* ve enterotoksin varlığının araştırılması. Sağlık bilimleri dergisi, 19(1): 26-33.
- YÜCEL, A.E., ve YÜCEL, A., 1996. Süperantijenler. Türkiye Klinikleri J. Med. Sci., 16: 1-7.
- YÜCEL, N., ve ÇITAK, S., 2000. Dondurma örneklerinde bazı mikroorganizmaların varlığı üzerine bir araştırma. Türk Hij. Den. Biyol. Derg., 57(3): 165-170.

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Adana'da doğdu. İlk ve Orta öğrenimini Adana'da tamamladı. 1998-2003 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde lisans eğitimi aldı. 2006 KPSS sınavında 15000 Biyolog arasında 23. oldu ve bu sonuca göre Tarım Köyişleri Bakanlığı Adana İl Kontrol Laboratuvarına Biyolog olarak atandı. Halen aynı yerde Mikrobiyoloji ve Biyogüvenlik laboratuvarında görevine devam etmekte.