

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**NEVŞEHİR İLİNDEKİ KESİM HANELERDEN İZOLE  
EDİLEN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* İZOLATLARININ  
MOLEKÜLER TİPLENDİRİLMESİ VE VANKOMİSİN  
DİRENÇLİLİĞİNİN İNCELENMESİ**

**Hazırlayan  
Ömer Tolga YILMAZ**

**Danışman  
Dr. Öğr. Üyesi Harun HIZLISOY**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Ağustos 2019  
KAYSERİ**

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**NEVŞEHİR İLİNDEKİ KESİM HANELERDEN İZOLE  
EDİLEN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* İZOLATLARININ  
MOLEKÜLER TİPLENDİRİLMESİ VE VANKOMİSİN  
DİRENÇLİLİĞİNİN İNCELENMESİ**

**(Yüksek Lisans Tezi)**

**Hazırlayan  
Ömer Tolga YILMAZ**

**Danışman  
Dr. Öğr. Üyesi Harun HIZLISOY**

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
TYL-2018-7812 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Ağustos 2019  
KAYSERİ**

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Ömer Tolga YILMAZ

İmza:



## YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Nevşehir İlindeki Kesimhanelerden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* İzolatlarının Moleküler Tiplendirilmesi ve Vankomisin Dirençliliğinin İncelenmesi” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan  
Ömer Tolga YILMAZ

Danışman  
Dr. Öğr. Üyesi Harun HIZLISOY

Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD Başkanı  
Prof. Dr. Yeliz YILDIRIM

## KABUL VE ONAY

Dr. Öğr. Üyesi Harun HIZLISOY danışmanlığında Ömer Tolga YILMAZ tarafından hazırlanan “Nevşehir İlindeki Kesimhanelerden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* İzolatlarının Moleküler Tiplendirilmesi ve Vankomisin Dirençliliğinin İncelenmesi” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

02/08 2019

### JÜRİ

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Harun HIZLISOY

(Erciyes Üniversitesi Veteriner Halk Sağlığı Anabilim Dalı)

Üye : Prof. Dr. Zafer GÖNÜLALAN

(Erciyes Üniversitesi Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı)

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Fulden KARADAL

(Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Bor Meslek Yüksekokulu  
Gıda İşleme Süt ve Ürünleri Teknolojisi Anabilim Dalı)

İmza

### ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun .....tarih ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../2019

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

TYL-2018-7812 no'lu projemi destekleyen “Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne”, tezimin her aşamasına rehberlik eden, çalışmalarında bilgi ve desteklerini esirgemeyen, zorlandığım her evrede beni motive eden çok değerli danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Harun HIZLISOY'a, tez dönemim boyunca çalışmalarımı yönlendirmemde bana destek olan Sayın Prof. Dr. Zafer GÖNÜLALAN'a, Sayın Prof. Dr. Yeliz YILDIRIM'a, Sayın Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ ONMAZ'a ve Dr. Öğr. Üyesi Serhat AL'a, çalışmamın laboratuvar aşamalarında katkılarını esirgemeyen anabilim dalı doktora öğrencileri Candan Candemir GÜNGÖR, Adalet DIŞHAN, Hüseyin Burak DİŞLİ ve Mukaddes BAREL'e, eğitim süresi boyunca her türlü kolaylığı sağlayan Avanos İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü'nde çalışan mesai arkadaşlarıma, çalışmam sırasında desteklerini esirgemeyen kıymetli eşim Arş. Gör. Sezen RAVANOĞLU YILMAZ'a, hayatım boyunca her zaman bana destek olan ve bugünlere gelmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan annem, babam ve kardeşlerime, en samimi duygularıyla teşekkür ederim.

Ömer Tolga YILMAZ

Kayseri, Ağustos 2019

**NEVŞEHİR İLİNDEKİ KESİMHANELERDEN İZOLE EDİLEN  
STAPHYLOCOCCUS AUREUS İZOLATLARININ MOLEKÜLER  
TİPLENDİRİLMESİ VE VANKOMİSİN DİRENÇLİLİĞİNİN İNCELENMESİ**

**Ömer Tolga YILMAZ**

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü,  
Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi, Ağustos 2019  
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Harun HIZLISOY**

**KISA ÖZET**

Bu çalışma, kesimhanelerde *Staphylococcus aureus*'un mevcudiyetini, izolatların vankomisin antibiyotiğine duyarlılığını tespit etmeyi ve moleküler tiplendirmesini amaçlamaktadır. Nevşehir İlindeki üç farklı kesimhaneden svap ile alınan; sığır karkası, duvar, bıçak, kesme tahtası yüzeyleri ve kesimhane atık su örnekleri çalışma kapsamında materyal olarak kullanılmıştır. Her bir kesimhaneden; 10 adet sığır karkası yüzeyi, 10 adet duvar yüzeyi, 10 adet bıçak yüzeyi, 10 adet kesme tahtası yüzeyi ve 10 adet atık su olmak üzere, bir kesimhaneden toplamda 50 adet; üç kesimhaneden toplamda 150 adet numune alınarak aseptik şekilde soğuk zincirde laboratuvara ulaştırılmıştır.

Yapılan fenotipik ve moleküler identifikasyon testleri PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile izolatlar *S. aureus* olarak identifiye edilmiştir. Ayrıca izolatlara E test ile yapılan antibiyotik duyarlılık testi uygulanmış ve *S. aureus* izolatlarının vankomisine duyarlılıkları tespit edilmiştir. İzolatların genetik yakınlıklarının ortaya konması amacıyla Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-PCR (ERIC-PCR) yapılmıştır.

Çalışmada 150 örnekten 150 izolat elde edilmiş, bu izolatların 65'i (%43.3) fenotipik olarak koagülaz pozitif stafilokok, 6'sı (%4) ise PCR testleri sonucu *S. aureus* olarak identifiye edilmiştir. Elde edilen *S. aureus* izolatlarına %5 defibrine koyun kanlı Mueller Hinton Agar kullanılarak E test stripleri (Va 256-0.015 µg/ml, Oxoid, MA0102, İngiltere) yerleştirilmiş ve sonuç olarak vankomisine tüm izolatlar (%100) duyarlı bulunmuştur. Yapılan ERIC-PCR analizine göre izolatların genotipik olarak farklı olduğu gösterilmiştir.

Sonuç olarak; çalışmamız için topladığımız örneklerden 6'sı (%4) *S. aureus* yönünden pozitif bulunmuştur. Hem gıda toksikasyonlarının önüne geçmek hem de karkas kalitesini artırmak ve kırmızı etin raf ömrünü uzatmak için, kesimhanede hijyen koşullarına dikkat edilmelidir. Yapılan antibiyotik duyarlılık test sonucu, direnç tespit edilmemesi sevindirici olmakla birlikte, antibiyotiklerin bilinçsiz kullanımından kaçınılmalı ve kullanımları kontrol altında tutulmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** VRSA, kesimhane, vankomisin, E test, halk sağlığı.





**MOLECULAR TYPING AND INVESTIGATION OF VANCOMYCIN  
RESISTANT OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLATED FROM  
SLAUGHTERHOUSES IN NEVSEHİR PROVINCE**

**Ömer Tolga YILMAZ**

**Erciyes University, Institute of Health Sciences  
Department of Veterinary Food Hygiene and Technology  
Master Thesis, August, 2019  
Supervisor: Asst. Prof. Harun HIZLISOY**

**ABSTRACT**

This study aims to detect the presence of *Staphylococcus aureus* in slaughterhouses, its antibiotic susceptibility of *S. aureus* isolates to vancomycin and molecular typing. The samples collected from cattle carcass, wall, knife, waste water and cutting board from three different slaughterhouses in the Province of Nevşehir, in the scope of the study, were used as material. Fifty swab samples of 10 beef carcass surfaces, 10 wall surface, 10 blade surface, 10 cutting board surface and 10 waste water were taken from each slaughterhouse; a total of 150 swab samples, in aseptic conditions under cold chain, were transmitted to the laboratory.

Isolates have been identified through phenotypic and molecular identification tests PCR (Polymerase Chain Reaction). In addition, antibiotic susceptibility testing was performed on isolates with E test; and the susceptibility of *S. aureus* isolates to vancomycin has been detected. Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-PCR (ERIC-PCR) was employed for genetic diversity of *S. aureus* isolates.

In the study, 150 isolates were obtained from 150 samples, 65 of these isolates (43.3%) were phenotypically identified coagulase positive *Staphylococcus*; and 6 of them (4%) were identified as *S. aureus* by PCR tests. Using Mueller Hinton Agar supplemented with 5% defibrinated sheep blood, E test strips (Va 256-0.015 µg/ml, Oxoid, MA0102, UK) were placed on the obtained *S. aureus* isolates; and consequently all isolates (100%) were found to be susceptible to vancomycin. According to the ERIC-PCR analysis, isolates have been shown to be genotypically different.

As a consequence, 6 (4%) of the samples we collected for our study were found to be positive for *S. aureus*. Special attention should be paid to hygiene conditions in

slaughterhouses, both to prevent food poisoning and to improve carcass quality, and to extend the shelf life of red meat. Although it is pleasing that no resistance is detected as a result of our antimicrobial susceptibility test; unconscious use of antibiotics should be avoided, and their use should be kept under control.

**Keywords:** VRSA, slaughterhouse, vancomycine, E test, public health.



## İÇİNDEKİLER

### NEVŞEHİR İLİNDEKİ KESİMHANELERDEN İZOLE EDİLEN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* İZOLATLARININ MOLEKÜLER TIPLENDİRİLMESİ VE VANKOMİSİN DİRENÇLİLİĞİNİN İNCELENMESİ

<b>BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK</b> .....	<b>i</b>
<b>YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI</b> .....	<b>ii</b>
<b>KABUL VE ONAY</b> .....	<b>iii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iv</b>
<b>KISA ÖZET</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>ix</b>
<b>KISALTMALAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>TABLolar LİSTESİ</b> .....	<b>xiv</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	<b>xv</b>
<b>1.GİRİŞ ve AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>1</b>
2.1. Tarihçe.....	1
2.2. Stafilokoklar.....	1
2.2.1. Stafilokokların Sınıflandırılması.....	2
2.2.2. Stafilokokların Morfolojik ve Kimyasal Özellikleri.....	4
2.2.3. <i>S. aureus</i> 'ların Üreme ve Kültür Özellikleri.....	4
2.2.4. <i>S. aureus</i> 'un İdentifikasyonu.....	5
2.2.5. Mikrorganizma Tiplendirme Yöntemleri.....	7
2.2.5.1. Enterobakteriyel Tekrarlayan İntergenik Etkileşimli Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus PCR, ERIC-PCR).....	9
2.2.6. <i>S. aureus</i> İzolatlarının Virulans ve Patojeniteleri.....	9
2.2.6.1. <i>S. aureus</i> 'un Enzimleri.....	9
2.2.6.2. <i>S. aureus</i> 'un Toksinleri.....	11
2.2.6.3. <i>S. aureus</i> 'un Genomu.....	11
2.2.6.4. <i>S. aureus</i> 'un Patogenezi.....	11
2.2.6.5. <i>S. aureus</i> 'un Hücre Duvar Yapısı.....	13

2.3. <i>S. aureus</i> ve Halk Sağlığı .....	13
2.3.1. <i>S. aureus</i> 'un Gıdalarda Bulunması .....	13
2.3.2. Kesimhanelerde <i>S. aureus</i> Kontaminasyonu .....	14
2.3.3. Halk Sağlığı Açısından <i>S. aureus</i> Kaynaklı Enfeksiyon ve Gıda İntoksikasyonları.....	14
2.4. Antibiyotikler .....	15
2.4.1. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması.....	15
2.4.2. Antibiyotiklere Karşı Direnç Gelişimi.....	17
2.4.3. Vankomisin .....	17
2.4.4. Vankomisine Karşı Direnç Gelişimi.....	18
2.4.5. Antibiyotik Duyarlılık Test Yöntemleri .....	19
2.4.5.1. Dilüsyon Yöntemi .....	19
2.4.5.2. Difüzyon Yöntemleri.....	20
2.4.5.3. E (Epsilometer) Test.....	21
2.4.5.4. Ticari Otomatize Sistemler.....	21
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>23</b>
3.1. Gereç .....	23
3.1.1. Karkas ve Kesimhane Materyal Örnekleri.....	23
3.1.2. Karkas ve Kesimhane Materyallerinden <i>S. aureus</i> İzolasyonu ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri ve Diğer Kimyasallar.....	24
3.1.2.1. Egg Yolk Tellürit Emülsiyonu (Oxoid, İngiltere) .....	24
3.1.2.2. Baird Parker Agar Base (Oxoid, İngiltere).....	24
3.1.2.3. Kanlı Agar (Oxoid, İngiltere).....	25
3.1.2.4. Kanlı Mueller Hinton Agar (Merck, Almanya).....	25
3.1.2.5. Gliserinli Brucella Broth (Oxoid, İngiltere) .....	26
3.1.2.6. Bactident Coagulase (Merck, Almanya) .....	26
3.1.2.7. Bactident Oxidase (Merck, Almanya).....	27
3.1.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) İşleminde Kullanılan Sarf Malzemeler .....	27
3.1.4. Antimikrobiyal Duyarlılık Testinde Kullanılan Malzemeler.....	27
3.2. Yöntem .....	27
3.2.1. Fenotipik İdentifikasyon Testleri.....	27
3.2.2. Moleküler İdentifikasyon Testleri .....	28

3.2.2.1. DNA Ekstraksiyonu .....	28
3.2.2.2. <i>S. aureus</i> 'un Moleküler Yöntemle İdentifikasyonu .....	29
3.2.2.3. <i>S. aureus</i> 'un PCR ile Doğrulanması.....	29
3.2.3. Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus (ERIC) PCR ile Moleküler Tiplendirme .....	30
3.2.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi .....	30
3.2.4.1 Epsilometer Test (E test) .....	30
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>31</b>
4.1. <i>S. aureus</i> İzolasyon Sonuçları .....	31
4.2. <i>S. aureus</i> 'un PCR ile Tespiti .....	31
4.2.1. ERIC-PCR Sonuçları .....	32
4.3. Antibiyotik duyarlılık test sonuçları.....	33
4.3.1. Epsilometer Test (E test).....	33
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>35</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>40</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>52</b>

## KISALTMALAR

<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection (Amerikan Tür Kültür Koleksiyonu)
<b>C</b>	Sitozin
<b>CAESAR</b>	The Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance (Orta Asya ve Doğu Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans)
<b>cAMP</b>	Cyclic Adenosine Monophosphate (Siklik Adenozin Monofosfat)
<b>CLSI</b>	Clinical and Laboratory Standards Institute (Klinik ve Laboratuar Standartları Enstitüsü)
<b>CRF</b>	Coagulase Reacting Faktor (Koagülaz Reaksiyon Faktör)
<b>DNA</b>	Deoksibonükleik Asit
<b>EIA</b>	Enzyme Immunoassay (Enzim İmmun Test)
<b>EKEY</b>	Bakteri Üremesini Durdurduğu En Düşük Yoğunluk
<b>EKÖY</b>	Bakteriyi Öldürdüğü En Düşük Yoğunluk
<b>ERIC-PCR</b>	Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Polymerase Chain Reaction (Enterobakteriyel Tekralayan İntergenik Konsensus Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
<b>G</b>	Guanin
<b>hVISA</b>	Heteroresistant Vancomycin Intermediate <i>Staphylococcus aureus</i> (Heterorezistan Vankomisine Orta Düzeyde Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i> )
<b>kob</b>	Koloni Oluşturan Birim
<b>KPS</b>	Kogülaz Pozitif Stafilokoklar
<b>MBK</b>	Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
<b>MHA</b>	Mueller Hinton Agar
<b>MIK</b>	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
<b>MLST</b>	Multi Locus Sequence Typing (Çoklu Odak Dizilimi ile Tiplendirme)

<b>MRSA</b>	Methicillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i> )
<b>NaCl</b>	Sodyum Klorür
<b>PCR</b>	Polymerase Chain Raection (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
<b>PVL</b>	Panton Valentine Lökosidin
<b>PYR</b>	Pyrolidanly Aminopeptidase
<b>RNA</b>	Ribonikleik Asit
<b>SE</b>	Stafilokokal Enterotoksin
<b>TBE</b>	Tris Borat Tampon Solüsyonu
<b>TSST-1</b>	Toxic Shock Syndrome Toxin-1 (Toksik Şok Sendromu Toksini-1)
<b>VISA</b>	Vancomycin Intermediate <i>Staphylococcus aureus</i> (Vankomisine Orta Düzeyde Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i> )
<b>VRE</b>	Vancomycin Resistant Enterococcus (Vankomisine Dirençli Enterokoklar)
<b>VRSA</b>	Vancomycin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (Vankomisin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i> )
<b>VSSA</b>	Vancomycin Susceptible <i>Staphylococcus aureus</i> (Vankomisine Duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i> )

## TABLOLAR LİSTESİ

### Sayfa No

Tablo 1.1.	Türkiye’de ve Dünyada Kesimhanelerden İzole Edilen KPS’lar, <i>S. aureus</i> ’lar ve Vankomisin Duyarlılık/Dirençlilik Profilleri.....	2
Tablo 2.1.	Stafilokok Tür ve Alt Türleri ile Tanımlandıkları Konaklar .....	3
Tablo 2.2.	Klinik Öneme Sahip Stafilococcus Türlerinin Biyokimyasal Özellikleri...4	
Tablo 2.3.	<i>S. aureus</i> ’un Gelişme ve Toksin Oluşturmasına İlişkin Parametreler .....	5
Tablo 2.4.	Stafilokok Tiplendirmesinde Kullanılan Dokuz Biyokimyasal Test ve Sonuçları .....	7
Tablo 2.5.	Antibiyotiklerin Etki Derecelerine Göre Sınıflandırılması.....	16
Tablo 2.6.	Antibiyotiklerin Etki Mekanizmasına Göre Sınıflandırılması.....	16
Tablo 3.1.	Kesimhanelerden Alınan Numune Türleri ve Sayıları .....	23
Tablo 3.2.	Egg Yolk Tellürit İçeriği.....	24
Tablo 3.3.	Baird Parker Agar Base İçeriği .....	25
Tablo 3.4.	Blood Agar Base No: 2 İçeriği .....	25
Tablo 3.5.	Mueller Hinton Agar İçeriği .....	26
Tablo 3.6.	Gliserinli Brucella Broth İçeriği .....	26
Tablo 3.7.	PCR İşleminde Kullanılan Malzeme Listesi.....	27
Tablo 3.8.	Çalışmada Kullanılan Primerler ve Beklenen Bant Büyüklükleri .....	29
Tablo 4.1.	PCR ile İdentifikasyon Sonuçları .....	32
Tablo 4.2.	Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları (CLSI 2017).....	34



## ŞEKİLLER LİSTESİ

### Sayfa No

- Şekil 4.1. *S. aureus*'un %1.5'lik agoroz jeldeki görüntüsü için pozitif örnekler. .... 32
- Şekil 4.2. *S. aureus* izolatlarının %2'lik agoroz jeldeki ERIC-PCR band paternleri. .... 33
- Şekil 4.3. *S. aureus* izolatına E test uygulaması. .... 33



## 1.GİRİŞ ve AMAÇ

Stafilokoklar, toplum sağlığı açısından önemli patojenlerdir. *Staphylococcus aureus* insanlarda normal biotada bulunmakla birlikte, sağlığı olumsuz yönde etkileyen; endokardit, bakteriyemi ve gıda kaynaklı intoksikasyonların önde gelen nedenlerindedir (Hızlısoy ve ark., 2018). Aynı zamanda *S. aureus* birçok ölkede resmi kayıtlara göre gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyonların üçüncüsü olarak belirtilmektedir (Veras ve ark., 2008). Stafilocokal gıda zehirlenmesi, enterotoksijenik stafilocokların besinlerde  $10^6$  kob/g seviyesinin üzerinde olması ve ürettikleri enteretoksinleri sindirim yoluyla alınmasını takiben oluşmaktadır. Bunun yanı sıra, stafilocokal enteretoksinler (SE); artrit, alerjik reaksiyonlar, toksik şok benzeri sendrom ve bağışıklık sistemini hedef alan hastalıklara neden olmaktadır (Cha ve ark., 2006).

*S. aureus* günlük hayatta vücudun çeşitli bölgelerinde hastalık oluşturmaksızın bulunabilmekte, özellikle burun bölgesinin en önemli bulaş yeri olduğu düşünölmektedir. Burundaki stafilocoklar sıklıkla ellere, parmaklara, yüze ve cildin diğer kısımlarına taşınabilmekte, bu şekilde de gıdalara kontaminasyonu gerçekleşmektedir (Wertheim ve ark., 2005). Bu yüzden, birincil etken insan olmakla birlikte, gıda sektöründe hijyene dikkat etmeyen personel, *S. aureus*'un gıda ile kontaminasyonunda önemli bir rol oynamaktadır (Acco ve ark., 2003). *S. aureus*, insanların %30'unun mukozalarında bulunurken, bu oranın gıda sektöründe çalışanlarda %26-39.9'a ulaştığı ve bunların da %8-17.4'ünün enterotoksijenik *S. aureus* suşları olduğu belirtilmiştir (Tong ve ark., 2015). Ayrıca, personel hijyeninin değerlendirilmesinde gıdalardaki *S. aureus* kontaminasyonu, indikatör olarak değerlendirilmektedir (Yıldırım ve ark., 2017). Türkiye'de ve dünyada yapılan birçok araştırmada kesimhanelerden izole edilen koagölaz pozitif stafilocoklar (KPS), *S. aureus*'lar ve tespit edilen vankomisin antibiyotiğine direnç profilleri Tablo 1.1.'de verilmiştir.

**Tablo 1.1.** Türkiye’de ve Dünyada Kesimhanelerden İzole Edilen KPS’lar, *S. aureus*’lar ve Vankomisin Duyarlılık/Dirençlilik Profilleri

Araştırmacılar	Koagülaz Pozitif Stafilkokklar	<i>S. aureus</i>	Vankomisin Duyarlılık/Dirençlilik
Keyvan ve Özdemir (2016)	%26.6 (karkas)	% 12.5 (karkas)	% 100 VSSA
Al Tarazi ve ark. (2009)	%34.1 (karkas)	---	---
Kumar ve ark. (2014).	%22 (karkas)	---	---
Hansson ve ark. (2001)	%34 (karkas)	---	---
Vanderlinde ve ark. (1998)	%29 (karkas)	---	---
Philips ve ark. (2001)	%24.3 (karkas)	---	---
Özdemir ve ark. (2010)	%38.3 (karkas)	---	---
Beyene ve ark. (2017)	%43.47 (bıçak, ekipmanlar ve karkas)	%13.9 (bıçak, ekipmanlar ve karkas)	%65.1 VRSA
Desmarchelier ve ark. (1999)	%62,%85,%89 (karkas 3 kesimhane)	---	---
Yılmaz ve Gümüş (2004)	---	%30 (karkas)	---
Tanir ve ark. (2015)	---	%26.7 (karkas)	% 100 VSSA
Pekana ve Green (2018)	---	%20.4 (karkas)	---
Adugna ve ark. (2018)	---	% 15 (tahta), % 22.5 ( bıçak)	%45.5 VRSA
Bersisa ve ark. (2019)	---	%25 (karkas) %43.75 (tahta) %31.25 (bıçak)	---
Schlegelova ve ark. (2004)	---	%7.5 (karkas)	% 100 VSSA
Ayalev ve ark. (2015)	---	%33.33 (zemin), %26.67 (bıçak)	---
Gowda Tanuja ve ark. (2017)	---	%59.86 (karkas), % 51.37 (bıçak), %50 (tahta)	%78 VSSA, %14 VISA, %8 VRSA
Birhanu ve ark. (2017)	---	%9.43 (tahta), %3.77 (bıçak)	---

Eteri için yetiştirilen çiftlik hayvanlarında yoğun olarak antibiyotik kullanımı, karkas ve sakatatlarda kalıntıya ve mikroorganizmaların kullanılan antibiyotiklere direnç geliştirmesine neden olmaktadır (Gomez-Gil ve ark., 2000). Antibiyotiklere karşı direnç kazanmış mikroorganizmalar gıdalarda da bulunmakta ve bu gıdaların tüketimi sırasında vücuda alınabilmektedir. Bunun sonucu olarak, vücuda giren bu dirençli

mikroorganizmalar insanlarda sağaltımı zor enfeksiyonlara neden olmakta ve toplum sağlığını tehdit etmektedir (Terzi ve ark., 2015). Son yıllarda, stafilokokların antibiyotiklere karşı direnç gelişiminin hızla arttığı belirlenmiş ve yapılan güncel çalışmalarda da gıdalarda bulunan *S. aureus*'un antibiyotik direnç yönünden analizleri önem kazanmıştır (Fijałkowski ve ark., 2016).

Bu sebeple bu çalışmada, Nevşehir'de bulunan üç adet kesimhaneden örnekler alınarak, *S. aureus* mevcudiyetinin belirlenmesi, elde edilen izolatlarda vankomisin direncinin saptanması ve bu izolatların moleküler tiplendirmesi amaçlanmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tarihçe

Robert Koch tarafından 1878 yılında tanımlanan Stafilokoklar, 1880'de Pasteur'un çalışmaları sonucu sıvı besiyerinde çoğaltılmıştır. Alexander Ogston tarafından 1881'de, etimolojik olarak Yunanca "staphyle" (üzüm salkımı), Rosenbach tarafından da agarda verdiği renkten dolayı "aureus" (altın sarısı) tabirinden türetilerek isimlendirilmiştir (Waldvogel, 2000). *S. aureus*'un hastalardan izolasyonu Rosenbach tarafından 1884 yılında yapılmıştır (Yıldırım, 2017). İnsanlarda *S. aureus* enfeksiyonları, antibiyotiklerin keşfinden önce yüksek mortaliteye sahip iken, penisilinin kullanıma girmesinden sonra kayıplar azaltılmıştır. *S. aureus*'un penisiline karşı gösterdiği direnç, 1950'lerde şekillenmiştir. Buna karşın, yarı sentetik penisilin türevleri kullanılmaya başlanmış, fakat bu mikroorganizmalar yarı sentetik penisilin türevlerinde de direnç geliştirmiştir (Hazımoğlu, 2011). Penisilin dirençli *S. aureus*'un tedavisi için, 1959 yılında metisilin geliştirilmiş olmasına karşılık; kısa süre içerisinde *S. aureus* metisiline karşı da direnç geliştirmiş ve 1961 yılına gelindiğinde laboratuvar suşunda direnç kaydedilmiştir (Barber, 1961). Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) enfeksiyonlarının tedavisinde başarı, trisiklik bir glikopeptid antibiyotik olan vankomisin ile sağlanmış ve vankomisin bu tür enfeksiyonların tedavisinde tercih sebebi olmuştur (Sorrell ve ark., 1982). Önemli bir patojen etken olan, vankomisine dirençli enterokoklar (VRE), ilk kez 1989 yılında Birleşik Devletler'de bildirilmiştir. İlerleyen zamanlarda ise sırasıyla 1996 yılında Japonya'da, 1997 yılında ise Birleşik Devletler'de vankomisine orta düzeyde dirençli *S. aureus* (VISA) suşları kayda geçmiştir (Sancak, 2011).

### 2.2. Stafilokoklar

Stafilokoklar, daha önceleri *Micrococcaceae* familyası içinde yer alır iken, 2009 yılında *Staphylococcaceae* familyası üyesi olarak tanımlanmıştır (De Vos ve ark., 2009).

*Eubacteria* âlemi, *Firmicutes* şubesi, *Bacilli* sınıfı, *Bacillales* takımı, *Staphylococcaceae* ailesi içerisinde yer alan *Staphylococcus* cinsi bakteriler, önemli patojenlerdir. Patojen türlerin yanı sıra, starter kültür olarak da; *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus simulans* ve *Staphylococcus saprophyticus*, kullanıldığı belirtilmiştir (Gönülalan ve ark., 2004). *Staphylococcus* cinsi, *Micrococcus spp.*, *Stomatococcus spp.* ve *Planococcus spp.*'lerle birlikte aynı ailesi içerisinde sınıflandırılmıştır (Varol, 2015).

Stafilokok genusunda 30'dan fazla tür bulunmaktadır. Bu familya özellikleri bakımından; yuvarlak, düzgün veya düzensiz kümeler oluşturan, genellikle hareketsiz, nadiren hareketli, Gram pozitif, aerop veya fakültatif anaerop, kemoorganotrof koklardır. Bu dört cinsin bir ailede toplanması, DNA'daki guanin sitozin (G+S) oranlarında (%30-75 mol), hücre duvar yapılarının farklı olmasına rağmen nükleik asit hibridizasyon testlerinin yanı sıra, 16s rRNA dizilimlerinin analiz edilmesinin bir sonucudur (Wenzel ve ark., 1998; De Vos ark., 2009). Ayrıca yapılan kemotaksonomik çalışmalarda *Staphylococcus* ve *Micrococcus* türlerinin yakın ilişkide olmadığı; buna karşılık *Staphylococcus* ve *Macroccoccus* türlerinin daha yakın ilişkide olduğu belirtilmiştir (Peacock, 2005).

### 2.2.1. Stafilocokların Sınıflandırılması

Mikroorganizmaların taksonomisi fenotipik analizlerle belirlenmektedir. Bu yöntemde; organizmanın morfolojisi, hareketi, fizyolojisi, beslenme özellikleri, pigmentasyonu, patojenitesi ve antibiyotik duyarlılıkları gibi yapısal ve biyokimyasal özellikler kullanılmaktadır. Moleküler taksonomide ise hücre yapıtaşlarının moleküler analizi yer almaktadır. Kemotaksonomi olarak adlandırılan bu taksonomide bakteriyel grupların filogenetik ilişkileri daha net ortaya konmaktadır. Sıklıkla kullanılan kemotaksonomi yöntemleri; DNA hibridizasyonu, ribotipleme, çoklu odak dizilimi ile tiplendirme (MLST) ve yağ asitleri analizleri olarak sıralanabilir (Yıldırım, 2017). Düünden bugüne, *Staphylococcus* cinsinde 33 tür ve 17 alt tür bulunmuştur. Stafilocok türleri, fenotipik özellikleri ve DNA ilişkileri göz önüne alındığında en az dört grupta toplanabilir (Uçan, 2014; Aktaş, 2014 Varol, 2015;). Bu gruplar Tablo 2.1.'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.1.** Stafilocok Tür ve Alt Türleri ile İzole Edildikleri Konaklar (Uçan 2014; Aktaş 2014; Varol 2015).

Gruplar	Türler ve Alt Türler	Konaklar
1. Grup	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	insan, evcil hayvanlar
	<i>Staphylococcus capitis</i> <i>S.capitis</i> subsp.	insan, maymun türleri
	<i>capitis</i> <i>S.capitis</i> subsp. <i>ureolyticus</i>	
	<i>Staphylococcus warneri</i>	insan, evcil hayvanlar, maymun türleri
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	insan, evcil hayvanlar, maymun türleri
	<i>Staphylococcus hominis</i>	insan
	<i>Staphylococcus saccharulyticus</i>	insan
2. Grup	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	insan, memeli türleri
	<i>Staphylococcus cohnii</i> <i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>	insan
	<i>S. cohnii</i> subsp. <i>ureolyticum</i>	insan, maymun türleri
	<i>Staphylococcus xylosus</i>	insan, memeli türleri, kuş
3. Grup	<i>Staphylococcus simulans</i>	insan, memeli türleri
	<i>Staphylococcus carnosus</i>	et ve balık ürünleri
4. Grup	<i>Staphylococcus sciuri</i>	memeli türleri, kuş
	<i>Staphylococcus lentus</i>	evcil hayvanlar, yunus
Gruplandırılmayan Stafilocoklar	<i>Staphylococcus aureus</i>	insan, memeli türleri, kuş
	<i>Staphylococcus auricularis</i>	insan, maymun türleri
	<i>Staphylococcus intermedius</i>	memeli türleri, kuş
	<i>Staphylococcus hyicus</i>	domuz, keçi sığır
	<i>Staphylococcus caseolyticus</i>	süt ve süt ürünleri, balina, sığır
	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	insan
	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	İnsan
	<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i>	
	<i>S.schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i>	köpek
	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	insan, memeli türleri
	<i>Staphylococcus caprae</i>	insan, keçi
	<i>Staphylococcus pulvereri</i>	insan, tavuk
	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	sığır, at, keçi
	<i>Staphylococcus gallinarum</i>	kümes hayvanları, kuş
	<i>Staphylococcus felis</i>	kedi
	<i>Staphylococcus muscae</i>	evcil hayvanlar
	<i>Staphylococcus piscifermentus</i>	balıklar
	<i>Staphylococcus vitilis</i>	memeli türleri, balina, et ürünleri
	<i>Staphylococcus equorum</i>	at
	<i>Staphylococcus dephini</i>	balık
<i>Staphylococcus kloosii</i>	memeli türleri	
<i>Staphylococcus arlettae</i>	memeli türleri, kuş	

### 2.2.2. Stafilokokların Morfolojik ve Kimyasal Özellikleri

Stafilokok soyunda bulunan mikroorganizmalar, Gram pozitif kok şeklinde, üç ya da dört hücreden oluşan kısa zincirler yapabilen veya tekli, ikili ve dörtlü hücreler halinde bulunabilmektedir. Üzüm salkımı görünümünde, düzensiz şekiller meydana getirmektedir. Stafilokoklar; sporsuz, hareketsiz, genellikle katalaz pozitif, oksidaz negatif, kapsülsüzdürler ve karbonhidratlardan gaz oluşturmazlar. Sıvı besi yerinde yapılan mikroskopik incelemelerde üzüm salkımı formunda görünüm veren, 0.5-1.5µm (ortalama 1µm) çapında bakterilerdir (Erol, 2007). Klinik öneme sahip *Staphylococcus* türlerinin biyokimyasal özellikleri Tablo 2.2.'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.2.** Klinik Öneme Sahip Stafilokokkus Türlerinin Biyokimyasal Özellikleri (Peacock, 2005).

Reaksiyon	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S.saprophyticus</i>	<i>S. intermedius</i>
Katalaz	+	+	+	+
Koagülaz	+	-	-	+
Clumping faktör	+	-	-	d
Hemoliz	+	d	?	d
Mannitole etki (aerobik)	+	-	d	+
Mannitole etki (anarobik)	+	-	-	-
Termonükleaz	+	-	-	+
Hyaluronidaz	+	-	?	-
Protein A	+	-	?	d
Pigment oluşumu	+	-	-	-
DNaz	+	-	-	?

+: pozitif, -:negatif, d:değişken, ?:açıklanmamış

### 2.2.3. *S. aureus*'ların Üreme ve Kültür Özellikleri

Stafilokoklar, 6.5-45.0 °C sıcaklık aralığında, en iyi 37 °C'de, pH:7-7.5 aralığında, 18-24 saat içinde rahatlıkla üreme yeteneğine sahiptirler (Murray ve ark., 2009). Stafilokokların katı ortamlarda meydana gelen kolonileri düzgün, yuvarlak, kabarık ve parlaktır. *S. aureus*'lar genellikle hemoliz yaparlar ve beyazdan altın sarısına kadar değişen renklerde koloniler meydana getirirler. Bununla beraber, anaerobik özelliğe sahip koklardan olan *Peptostreptococcus* türleri yapısal bakımdan stafilokoklarla karıştırılabilmektedir (Hazımoğlu, 2011). *S. aureus*; nutrient agar, kanlı agar ve triptik soy agar gibi besiyerlerinde iyi üreme yeteneği gösterir. *S. aureus*, 18-24 saatte "S"



tipi, yuvarlak, konveks, krem rengi karakteristik koloniler oluşturur (Peacock, 2005). *S. aureus*'un gelişme ve toksin oluşturmaya ilişkin değerler Tablo 2.3.'te gösterilmiştir.

**Tablo 2.3.** *S. aureus*'un Gelişme ve Toksin Oluşturmasına İlişkin Değerler (Adams ve Moss, 2008).

Faktör	Gelişme		Enterotoksin Üretimi	
	Optimum	Min-Max	Optimum	Min-Max
Sıcaklık (°C)	35-37	7-48	35-40	10-45
pH	6.0-7.0	4.0-9.8	Ent.A 5.3-6.8 Diğerleri 6-7	4.0-9.8
NaCl	%0.5-4	%0-20	%0.5	%0-20
Su aktivitesi ( $a_w$ )	0.98>0.99	0.83>0.99	>0.99	0.86>0.99
Atmosfer	Aerobik	Aerobik/anaerobik	%5-20 DO <sub>2</sub>	Aerobik/ anaerobik
Eh	>+200mV	<-200>+200mV	>+200mV	-

#### 2.2.4. *S. aureus*'un İdentifikasyonu

*S. aureus*'u ayırt etmede kullanılan en yaygın identifikasyon yöntemi, plazmayı pıhtılaştırma yeteneğini gösteren koagülaz deneyidir. *S. aureus* koagülaz testine pozitif sonuç vermektedir. Koagülaz testi iki şekilde yapılmaktadır. Bunlardan birincisi; stafilokokların besiyerine salgıladıkları serbest koagülazın incelendiği tüp testi, ikincisi ise kümeleştirme faktörü (clumping factor) olarak da tanımlanan, bağlı koagülazın incelendiği lam deneyidir. Lam deneyi kısa zamanda netice verir fakat %10-15 oranında hatalı sonuç alınabilmektedir. Bu nedenle, lam koagülaz testinde negatif sonuç veren izolatlar için akabinde tüp koagülaz testi yapılmalıdır. Koagülaz pozitif stafilokokların belirlenmesinde pyrrolidany aminopeptidase (PYR) ve voges-proskauer testleri de kullanılmaktadır (Patricia, 2014).

Günümüzde *S. aureus*'un identifikasyonunda; lateks aglutinasyon, pasif hemaglutinasyon ve ayrıca florojenik koagülaz analizleri geliştirilmiş durumdadır. *S. aureus*'lar deoksiribonükleaz ve termostabil endonükleaz enzimleri üretebildiği için, bu biyokimyasal özelliklerinden yola çıkılarak identifikasyon testleri geliştirilmiştir

(Hazımoğlu, 2011). Bu yöntemler haricinde, *S. aureus*'un dışkı, burun, toprakta aranması amacıyla koagülaz negatif stafilokoklardan farklı olarak mannitolü fermente etme özelliği de belirleyicidir. (Procop, 2017).

*S. aureus*'un identifikasyonu için diğer yöntemler ise; *S. aureus*'un üremesini yavaşlatan Alfazurin A boyar maddesinin faydalanılarak hazırlanan disk difüzyon, anti protein A antikorları ile kaplı lateks parçacıkları ihtiva eden lateks aglütinasyon, *S. aureus* sekresyonu bir enzim olan asetilglikozaminidaz antikorlarından yararlanılan enzim immunassay (EIA) ve *S. aureus*'un termostabil endonükleazlarını kodlayan *nuc* geni için özel problardan faydalanılan deoksiribonükleik asit (DNA) prob ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) analizleridir (Hazımoğlu, 2011; Tünger, 2014).

*S. aureus* için, mannitol salt agarda üreme ve mannitolü fermente ederek koloniler çevresinde sarı renkte hale oluşturabilme yeteneği ayırt edicidir. Ancak *S. saprophyticus* da benzer üreme morfolojisi gösterip koloniler oluşturabilir. Mannitol salt agar ve ayırt edici besiyerlerinde üremenin tespiti için 72 saate varan bekleme sürelerine ihtiyaç duyulabilir. Koagülaz testinden sonra mannitol deneyi, *S. aureus*'u diğer stafilokoklardan ayırt etmek için kullanılan önemli testlerden birisidir (Waldvogel, 2000).

*S. aureus*; trehaloz, mannoz, maltoz, sükroz ve laktozu parçalarlar; ksiloz, sellobioz, arabinoz ve rafinozu ise parçalayamaz. Bu mikroorganizmalar nitratı nitrite indirgerler ve oksidaz negatif reaksiyon verirler (Cengiz, 1999). Stafilokok tiplendirmesinde kullanılan testler Tablo 2.4.'te verilmiştir (Iorio ve ark., 2007).

**Tablo 2.4.** Stafilokok Tiplendirmesinde Kullanılan Testler (Iorio ve ark., 2007)

Türler	Biyokimyasal Testler ve Sonuçları						
	CF	PYR	URE	FOS	MAN	TRE	XYL
<i>S. aureus</i>	+	-	v	+	+	+	-
<i>S. epidermidis</i>	-	-	+	+	+	-	-
<i>S. haemolyticus</i>	-	+	-	-	-	+	-
<i>S. lugdunensis</i>	+	+	v	-	+	+	-
<i>S. schleiferi</i>	+	+	-	+	+	v	-
subsp. <i>schleiferi</i>							
<i>S. warneri</i>	-	-	+	-	-	+	-
<i>S. capitis</i> subsp.	-	-	-	-	+	-	-
<i>capitis</i>							
<i>S. capitis</i> subsp.	-	v	+	-	+	-	-
<i>urealyticus</i>							
<i>S. hominis</i>	-	-	+	-	-	v	-
subsp. <i>hominis</i>							
<i>S. hominis</i>	-	-	+	-	-	+	-
subsp.							
<i>novobiosepticus</i>							
<i>S. saprophyticus</i>	-	-	+	-	-	+	-
subsp.							
<i>saprophyticus</i>							
<i>S. cohnii</i> subsp.	-	-	-	-	v	+	v
<i>cohnii</i>							
<i>S. cohnii</i> subsp.	-	v	+	+	+	+	-
<i>urealyticus</i>							
<i>S. sciuri</i>	-	-	-	+	v	+	v
<i>S. xylosum</i>	-	v	+	v	+	+	+

CF: clumping faktör, PYR: pyrolidonyl aminopeptidase, URE: üreaz, FOS: alkalen fosfataz, MAN:  $\alpha$ -mannoz, TRE:  $\alpha$ -trehaloz, XYL:  $\alpha$ -xyloz, v: variable, (+): pozitif, (-): negatif.

### 2.2.5. Mikroorganizma Tiplendirme Yöntemleri

Halk sağlığı üzerinde ciddi etkileri olan gıda kaynaklı hastalıkların önlenmesi ve prevalans tespiti için, hastalığa sebep olan patojen mikroorganizmaların belirlenmesi önem arz etmektedir. Bu bağlamda, klasik kültürel metotlar, immünolojik teknikler ve

moleküler yöntemler gibi pek çok uygulama, izolasyon ve identifikasyon amaçlı kullanılmaktadır (Aydın ve Sudağıdan, 2016).

Geleneksel tanısal mikrobiyolojik analizler; mikroskopik ve kültürel teknikleri, serolojik testleri ve antijen arayan metodları içermektedir. Bu tekniklerin kullanılması, özgünlük düzeyinin düşük olması, mikroorganizmanın üreme aşamasının yavaş olması, hassas ortamlara gereksinim duyulması, apatojen ya da saprofitik mikroorganizmalar tarafından üremenin baskılanması ve spesifik olmayan kros reaksiyonlar gibi dezavantajları da beraberinde getirmektedir (Kahya ve ark., 2013).

Kültürel yöntemler, patojen tayininde en sık başvurulan metodlar olarak bilinirler. Fakat kültürel metodlarla, sonuç almanın 5-7 gün gibi uzun sürelerde mümkün olması ve karakterizasyonda bir takım serolojik ve biyokimyasal testlere bağımlı olunması bu metodların dezavantajlarından. Ayrıca, kullanılan besiyerlerinin ihtiyaç duyduğu belirli laboratuvar şartları (sıcaklık ve nem gibi) ile kısıtlanan ortam koşullarında bazı mikroorganizmanın tespit edilmesi mümkün değildir. Diğer yandan, hasarlı hücreler ve düşük sayıda mikroorganizma gibi faktörlerle birlikte, geleneksel yöntemler kullanılarak izolasyon ve identifikasyon oldukça güçleşmektedir (Aydın ve Sudağıdan, 2016).

Moleküler tanımlama yöntemleri, mikroorganizmaların izolasyon ve identifikasyonunda, duyarlı ve hızlı sonuç vermelerinden ötürü son derece önemli tekniklerdir. Mikroorganizmaların tanımlanmasında kullanılan fenotipik yöntemlerin, genotipik yöntemlere nazaran verisel ve metodolojik hata yönü daha ağır basmaktadır (Moter ve Gobel, 2000). Bu nedenle, klasik yöntemler yerine PCR öncülüğünde moleküler tetkiklerin kullanımı tercih edilmektedir (Durmaz, 2005). Mikroorganizmalarda tiplendirme, tür altı seviyesinde ileri identifikasyon işlemidir. Tiplendirmede DNA ve RNA özelliklerine dayanan genotipik yöntemler, fenotipik yöntemlere göre daha yaygın olarak kullanılmaktadır (Schlichting ve ark., 1993). Genotipik tiplendirmede; plasmid profil analizleri, kromozomal DNA restriksiyon endonükleaz analizi ve pulsed field gel electrophoresis (PFGE) seçenekleri öne çıkmaktadır (Tenover ve ark., 1994). PCR tabanlı tiplendirmelerde ise; restriction fragment length polymorphism (RFLP), repetitive element palindromic (REP), enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC), random amplified polymorphic DNA (RAPD), arbitrarily primed (AP), DNA amplification fingerprinting (DAF), single

strand confirmation polymorphism (SSCP) ve amplified fragment length polymorphism (AFLP) kullanılan başlıca metotlardır (Rademaker ve ark., 2004). Multilocus Sequence Typing (MLST) yönteminde nükleotid dizi analizi ile temel metabolik fonksiyonu kodlayan genlerin allelleri incelenmektedir. Bu yöntemde genellikle yedi adet lokusun arasında kalan gen parçalarının PCR ile çoğaltılması ve analizlerinin çıkarılması işlemleri takip edilmektedir (Çetinkaya ve Ayhan, 2012).

#### **2.2.5.1. Enterobakteriyel Tekrarlayan İntergenik Etkileşimli Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus PCR, ERIC-PCR)**

Standart ERIC-PCR tekniği, ilgili protokoller kullanılarak çok çeşitli filumlardan karmaşık DNA parmak izlerinin üretilebileceği bir yöntemdir (Leung ve ark., 2004). Örnekler uygun besi yerlerinde inkübe edilir ve ardından özel izolasyon kitleri kullanılarak örnekler için DNA izolasyonu yapılır. ERIC primerleri kullanılarak amplifikasyon gerçekleştirilir. Elde edilen ampliconlar etidyum bromür ve TBE (Tris Borat Tampon Solüsyonu) ile %1 agaroz jelde yürütülerek görüntülenir. PCR bazlı araçlar arasında yer alan ERIC-PCR, farklı türlerde suşların ayırt edilmesinde uygulanan hızlı ve etkili bir tekniktir (Ranjbar ve ark., 2017).

#### **2.2.6. *S. aureus* İzolatlarının Virulans ve Patojeniteleri**

*S. aureus*, hücre dışı sekresyonu ile çeşitli hastalıklara yol açar. Bu sekresyonlar enzimler ve toksinlerdir. Salgılanan enzim ve toksinler bakterinin virulansını belirler. Ayrıca, bakterinin konak doku ve organlarda gelişmesini, immun sistemden kaçışını ve hayatta kalmasını tesis eder (Sibbald ve ark., 2006).

##### **2.2.6.1. *S. aureus*'un Enzimleri**

*S. aureus*'un yakın dokulara invazyonunu kolaylaştıran enzimler; lipaz, hiyaluronidaz, penisilinaz, katalaz, koagülaz, deoksiribonükleaz ve fibrinolizin gibi enzimlerdir (Uçan, 2014).

**Katalaz:** Toksik hidrojen peroksiti yıkımlayarak su ve oksijene katalize eden enzimdir. Stafilokoklar fagositoza maruz kaldıklarında hidrojen peroksiti yıkımlayarak öldürülmeye karşı direnç kazanır. Katalaz enzimi bütün stafilokoklar tarafından üretilir (Becker ve ark., 2015).

**Koagülaz:** Coagulase reacting factor (CRF) ile reaksiyonu sonucu aktif hale gelir ve plazmayı pıhtılaştırır. Üretilen iki tip koagülaz vardır. Birincisi; fibrinojeni fibrine

direkt dönüştüren bağlı koagülazdır. İkincisi ise; serumdaki CRF ile fibrinojeni fibrine dönüştüren serbest koagülazdır. Ayrıca, bağlı koagülaz, stafilokokların kümeleşmesini sağlayarak fagositoza karşı fibrin kalkanı görevi de görmektedir. *S. aureus* identifikasyonunda, koagülaz testi en önemli belirleyicilerden birisidir (Ryan, 2004).

**Hiyalüronidaz:** İnterselüler matrikste bulunan hiyalüronik asiti parçalayarak *S. aureus*'un dokuya invazyonunu kolaylaştırır. *S. aureus*'ların çoğu bu enzimi üretir (Sibbald ve ark., 2006).

**Lipaz:** *S. aureus*'un tüm suşlarında mevcuttur. Bu enzim lipidleri hidrolize ederek yağdan zengin deri bölgelerinde bulunan stafilokokların canlılığını devam ettirir. *S. aureus*, doku yüzeylerini invaze ederek, fronkül ve karbonkül gibi enfeksiyonları meydana getirir (Murray ve ark., 2005).

**Nükleaz:** Deoksiribonükleik asit (DNA) ve ribonükleik asit (RNA)'i nükleotidlere parçalayan fosfodiesterazlardır. Termostabil olan Dnase enzimleri, *S. aureus* suşlarının tanımlanmasında kullanılan endo ve ekzo nükleaz aktivitesine sahip ekstraselüler enzimlerdir (Tünger, 2004).

**B-laktamazlar (Penisilinaz):** Stafilokokların salgıladıkları bu enzim, beta-laktam halkasındaki hidroksili parçalayarak antibiyotiği işlevsiz kılar. Bunun sonucu olarak stafilokoklar, hücre duvarı sentezini inhibe ederek etki gösteren penisilin ve sefalosporinlere karşı dirençli duruma geçerler. Bu enzimin kodlanması plazmidler vasıtası ile olur ve konjugasyon yoluyla mikroorganizmalar arasında direnç yayılımı meydana gelir (Lowy, 2003).

**Fibrolizin (Stafilokinaz):** Stafilokoklar'ın salgıladığı kinazlar, plazmada bulunan plazminojeni, aktif hale getirerek fibrini eriten proteolitik bir madde olan plazmin (fibrinolizin) oluştururlar. Plazmin, proteolitik özelliğinden dolayı bakterinin dokular arasında yayılımını sağlar (Bokarewa ve ark., 2006).

**Proteaz:** *S. aureus*, serin proteaz, sistein proteaz, metalloproteaz ve stafopain olmak üzere ön enzim özelliğinde başlıca dört ekstraselüler proteaz üretir. Bu proteazların rolleri tam olarak bilinmemekle birlikte konak savunma sistemini bozduğu ve doku yayılımında etkisi olduğu düşünülmektedir (Harrison, 2007).

### 2.2.6.2. *S. aureus*'un Toksinleri

*S. aureus*, konak hücre yapısını ve işlevini bozan fazlaca hücre dışı toksin üretebilir. Bu üretilen toksinlerden bir kısmı, etkilerini enzimatik aktivite ile gösterirken, diğer kısmı süper antijen özellikleri sayesinde sitotoksin salınımını sağlar. Bununla birlikte, bu toksinlerin salınımı sonucu stafilocoklar, yoğun inflamatuvar yanıt olan dokularda bile çoğalmaya devam edebilirler (Dalkılıç, 2016). Bunlar; alfa toksin, beta toksin (sfingomiyelinaz C), gama toksin, delta toksin, Panton-Valentine Lökositin (PVL), eksfoliyatif toksinler, enterotoksinler ve Toksik Şok Sendrom Toksini-1 olarak belirtilmiştir (Can, 2011).

### 2.2.6.3. *S. aureus*'un Genomu

Stafilokoklar yaklaşık olarak 2800 baz çiftli kromozom ile, plazmidler profajlar ve transpozonlardan oluşur. Stafilocok türlerinin DNA'sının guanin sitozin (G+C) oranı %30-40 arasındadır. *S. aureus* genomunun G+C içeriği yaklaşık olarak %32'dir (Hazımoğlu, 2011).

### 2.2.6.4. *S. aureus*'un Patogenezi

Stafilokok enfeksiyonları, önceden kolonize olmuş hastalarda enfeksiyon oluşması şeklinde veya geçici el kolonizasyonu olan sağlık personelinin hastalarla olan teması ile meydana gelmektedir. Patogenez, mikroorganizmanın konağa yapışması, anatomik bariyerden girişi, fagositik hücrelerin inaktivasyonu, konağın humoral savunmasının inhibe edilmesi ve toksinlerin salınması olarak ortaya çıkar. Enfeksiyonu etkileyen faktörler arasında; mikroorganizmanın sayısı ve virulansı, deri ve mukoza bütünlüğündeki bozukluk ve konak bağışıklık sisteminin durumu sıralanabilir. Aynı zamanda yanıklar, travmatik yaralar ve dekübitus hazırlayıcı faktörler olabildiği gibi, kateter ve damar içi protez uygulamaları da enfeksiyonu hazırlayıcı sebepler arasındadır (Cohen, 1986). Bununla birlikte burun mukozası, stafilocok barındıran önemli bir kontaminasyon kaynağıdır. Stafilocoklar, temas ve respiratorik yollarla da bulaşabilir (Becker ve ark., 2015).

*S. aureus*, hızlı şekilde kolonize olan bir mikroorganizmadır. Bununla beraber derideki küçük portlardan girişine olanak sağlayan ve konak savunma sistemlerinin çoğundan kendini koruyan biyokimyasal mekanizmalara sahiptir. Bu sebeple, dolaşım sistemine girip çoğaldığında, yaygın metastatik apse ve bakteriyel endokarditlere sebep

olmaktadır (Sheagren, 1984). *S. aureus* dışında kalan, deri ve mukozaların normal biota bakterileri olarak kabul edilen *Stapylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus saprophyticus* fırsatçı bakteriler olarak tanımlanmıştır. Bu fırsatçı bakteriler konak savunma sistemlerindeki zaafiyetten yararlanarak enfeksiyon oluşturabilirler. *Staphylococcus epidermidis*'in oluşturduğu enfeksiyonlar genellikle yabancı cisimlerle yaralanmayla ilişkili olarak, yabancı cisime yapışmış şekilde ve bu yüzeylerde biyofilm oluşturma kabiliyeti ile açıklanmıştır (Murray ve ark., 2009).

Stafilokokların deride oluşturduğu enfeksiyonlar; kıl folikülü yangısı (follikülit), deri altına yayılmış haliyle fronkül, karbonkül ve impetigo, bebeklerde kavlanmış deri sendromu ve generalize eksfoliyatif dermatit (Ritter's hastalığı) ve yeni doğum yapmış kişilerde stafilokokal mastit olarak sıralanabilir (Otto, 2010). *S. aureus*, sağlıklı insanlarda pnomoni etkeni olarak %10'dan daha az saptanmaktadır. Ancak viral pulmoner enfeksiyonlarla birlikte sekonder olarak şiddetli enfeksiyon oluşturabilmektedir. Toplum kaynaklı pnomonilerin aksine, hastane yoğun bakımlarında ventile edilen hastalarda *S. aureus* sıklıkla izole edilen bir bakteridir. Entübe edilmiş hastaların yaklaşık %30'unda üst solunum yolunun *S. aureus* ile enfekte olduğu belirtilmiştir. Bu tür hastalarda mortalite %25-50 arasındadır (Moran ve ark., 2006).

Dünya genelinde endokarditlerin önde gelen etkeni olarak tanımlanan streptokokların yerini *S. aureus* almıştır. *S. aureus*'un sebep olduğu endokarditler, iki gruba ayrılmıştır. Birinci grup; geriatric ve kronik hastalarda gelişen sol kalp endokarditi olarak tanımlanırken, ikinci grup ise; genç ve sağlıklı bireylerde şekillenen intravenöz ilaç kullanımına bağlı triküspital kapaktaki endokarditlerdir (Tong ve ark., 2015). Hastane orijinli bakteriyemilerde, koagülaz negatif stafilokoklar ikinci sırada yer almaktadır. Bu tip bakteriyemilerin nedeni intravenöz kateter uygulamasıdır. Hastane kaynaklı bakteriyemilerde çeşitli organlarda metastatik apseleri gelişmesi ile sepsis sonucu ölüm meydana gelir (Odell, 2010).

*S. aureus*'ların sorumlu tutulduğu diğer enfeksiyonlar; septik artrit, mastit, hidradenitis süppürativa, piyoderma, osteomyelit, piyomyozit, santral sinir sistemi enfeksiyonları, enterokolit, nekroziten pnomoni, nekroziten fasit ve Waterhouse-Fredrickson sendromu ve genitoüriner enfeksiyonlar olarak sıralanabilir (Miller ve ark., 2005).



### 2.2.6.5. *S. aureus*'un Hücre Duvar Yapısı

*S. aureus*'un hücre duvarı, kalın bir peptidoglikan tabaka, teikoik asit ve yüzey proteinlerinden oluşur. Bu bileşenler bakteriye antijenik özellikler kazandırır. Peptidoglikan yapı, Gram negatif bakterilerdeki endotoksine benzer biçimde makrofajlardan sitokin salınımını uyarır. Böylece komplementin aktivasyonu gerçekleşir ve trombosit agregasyonu şekillenir. Bununla birlikte, peptidoglikan yapı monositlerden interlökin-1 sekresyonunu harekete geçirerek polimorfonükleer lökositlerin enfeksiyon alanında yığılmalarına ve apse şekillenmesine neden olur (Lowy, 1998). Teikoik asit yalnızca Gram pozitif bakterilerin hücre duvarında bulunur ve mukozal yüzeylerde spesifik reseptörler ile birleşerek stafilokokların adhezyonuna aracılık eder. Teikoik asit ve peptidoglikanlar; komplementin aktive edilmesi, yangı hücrelerinin kemotaksisinin inhibisyonu ve antikor üretiminin başlatılması gibi birçok biyolojik aktivite ile virülansa katkı sağlamaktadır (Costa ve ark., 2013).

## 2.3. *S. aureus* ve Halk Sağlığı

### 2.3.1. *S. aureus*'un Gıdalarda Bulunması

*S. aureus*, patojen bir mikroorganizma olup, insan ve hayvanlarda ciddi enfeksiyon ve bakteriyemilere sebebiyet vermektedir. Bununla birlikte *S. aureus*, dünya çapında yaygın olarak görülen, gıda kaynaklı intoksikasyonlara neden olan bakteriyel ajanlardan birisidir ve kayıtlara geçen gıda kaynaklı hastalıklar arasında üçüncü sıradadır (Lowy, 1998) *S. aureus*, insanların respiratorik mukozalarında ve derilerinde doğal olarak bulunmaktadır. *S. aureus*'un gıdaya kontaminasyonundaki en belirgin etkenin insan olduğu ve bunun neticesi olarak gıda zehirlenmelerine sebep olduğu saptanmıştır (Bogdanovičová ve ark., 2016). Yapılan çalışmalar sonucunda insanların %30'unun mukozal membranlarında *S. aureus* tespit edilmiştir. Gıda üretiminde çalışanların %26.0-36.9'unun *S. aureus*, %8.0-17.4'ünün ise enterotoksijenik *S. aureus* suşlarını taşıdığı belirtilmiştir (Tong ve ark., 2015). *S. aureus* suşlarının %50 ile 70'i kadarı uygun koşullar altında termofilik enterotoksin üretebilir. Gıdalarda  $10^6$  kob/g' dan fazla sayıda *S. aureus*'un zehirlenmeye sebep olacak miktarda toksin ürettiği belirtilmiştir (Bogdanovičová ve ark., 2016). Stafilokokal toksikasyonlara çoğunlukla karbohidrat ve protein ağırlıklı ve işleme tabi tutulmuş gıdalar sebep olmaktadır (Sırıken ve ark., 2013). Başlıklar halinde ele alacak olursak gıdalara *S. aureus*'un kontaminasyonunda; hammaddenin mikrobiyal kalitesi, saklama koşulları, dondurma ve çözdürme işlemleri,

uygulanan ısıtma işleminin etkinliği, personel ve ekipmanların mikrobiyal yükleri etkili olmaktadır (Tiryaki, 2018).

### **2.3.2. Kesimhanelerde *S. aureus* Kontaminasyonu**

Kesime getirilen hayvanların ayak ve derileriyle birlikte çok sayıda mikroorganizma da kesimhanelere taşınmaktadır. Kesimin ilk aşaması olan kan akıtma işlemiyle birlikte, mikroorganizmaların çoğalmaları için gerekli olan koşullar ortaya çıkmaktadır. İç organların karkastan çıkarılması sırasında, sindirim sistemi organlarının kesilmesi ya da delinmesini takiben karkasın kontamine olma riski de mevcuttur. Kesim işlemi sırasında birçok nedenle karkasa kontamine olan bakteriler, daha çok sindirim sistemi organ içerikleri, deri ve gıda ile temas halinde bulunan çalışan kaynaklı şekillenmektedir (Collins ve ark., 2014). *S. aureus* kontaminasyonu temelde personel kaynaklı meydana gelmektedir. Kesimhane şartlarında karkasla temasta bulunan her bir ekipman, ortam havası, duvarlar, tavan ve taban, karkasları yıkamada kullanılan şebeke suları ile personelin kıyafetleri önemli kontaminasyon kaynaklarıdır (Kallem 2015)

### **2.3.3. Halk Sağlığı Açısından *S. aureus* Kaynaklı Enfeksiyon ve Gıda İntoksikasyonları**

Stafilokoklar, birçok sistem üzerine enfeksiyon oluşturma kabiliyetine sahip mikroorganizmalardır. Bu mikroorganizmalar, deri ve yumuşak dokuda; folikülit, fronkül, impetigo, mastitis, karbonkül başta olmak üzere, post-operatif yara bölgelerinde enfeksiyon oluşturabilmektedir (Topçu ve ark., 1996). Kas ve iskelet sisteminde; osteomyelit, septik artrit ve piyomyozitisin başlıca sorumlusu stafilokoklardır (Gülcü, 2015). Dünya genelinde, gıda kaynaklı patojenler arasında üçüncü sırada yer alan *S. aureus*, gıda intoksikasyonlarında ciddi rol oynamaktadır (Osman ve ark., 2017). *S. aureus*'un gıda ile bulaşı, gıdanın işlenmesi esnasında hijyen kurallarının göz ardı edilmesi ve/veya kontamine olmuş hayvansal gıdaların işlenmesi sırasında meydana gelir. Gıda üretimi yapan yerlerin uygun şartlarda olmaması veya soğuk zincire dikkat edilmeden hayvansal ürünlerin haddinden fazla bekletilmesi, insanların, uygun olmayan şekilde muhafazası yapılmış et ve et ürünlerini tüketmesi sonucu patojenler ve enterotoksinler halk sağlığı açısından risk oluşturmaktadır (Ös ve Karaboz, 2005). Stafilkokal toksikasyonlar genellikle sindirim sistemi ile ilgili semptomlara sebebiyet vermektedir. Bu tip zehirlenmeler diyare, karın ağrısı, kusma, mide bulantısı ve kramp benzeri belirtiler meydana getirir (Ertaş Onmaz ve ark., 2015).

Enfeksiyon ve intoksikasyonun oluşmasında alınan toksin miktarı önemli olmakla beraber, kişinin immun sistemi ve tüketilen diğer gıdalar da önemli rol oynamaktadır (Genigeorgis, 1989). Yüksek risk grupları olarak hamileler, pediatrikler, geriatrikler ve bağışıklık sistemi baskılanmış olan kişilerde, bu tip enfeksiyon ve toksikasyonların çok daha fazla ve şiddetli hissedildiği belirtilmiştir (Halkman ve Doğan, 2000).

## **2.4. Antibiyotikler**

Antibiyotikler, birçok mikroorganizma yoluyla sentez edilen ve diğer mikroorganizmaların gelişimini önleyen veya onları yok eden çeşitli kimyasallardır (Evaggelopoulou ve Samanidou, 2013). Günümüzde birçok antibiyotik sentetik ve yarı sentetik olarak üretilmektedir. Çeşitli hastalıkların antibiyotikler yolu ile tedavilerine 17. yüzyılda başlamış olup, bilimsel temele oturtulması ise 19. yüzyılda Paul Ehrlich'in "seçici toksik etki" kavramını ortaya atması sonucu oluşmuştur. Antimikrobiyel sağaltım 1935 yılında Domagk'un sülfonamidleri kullanması ile gelişme sürecine girmiştir. Alexander Fleming'in 1929 yılında bulduğu ve 1940 yılında Chain ve Flarey'in çalışmaları sonucu, *Penicillium notatum*'dan elde ettiği bir maddenin biyosidal etkili olduğunun anlaşılması üzerine penisilinler ile tedavi devri başlamıştır. Bu buluş 1945 yılında Alexander Fleming, Chain ve Flarey'e Nobel Ödülü'nü kazandırmıştır (Saraç, 2015). Antibiyotikler, mikroorganizmayı öldüren (bakterisidal) ve mikroorganizmaların gelişimini durduran (bakteriyostatik) etkinlik gösterirler. Bakterisidal antibiyotikler, MİK'da (minimum inhibitör konsantrasyon) bakteri üremesini durdurduğu en düşük yoğunluk (EKEY) ve MBK'da (minimum bakterisit konsantrasyon) bakteriyi öldürdüğü en düşük yoğunluk (EKÖY) değerlerine sahipken; bakteriyostatik antibiyotiklerin ise, öngörülen tedavi dozunda MİK değerleri vardır. MBK değeri MİK değerinden daha yüksektir ve bu değerlerin birbirine yakınlığı antibiyotiğin etkinliğinin çok iyi olduğunu gösterir. Bakteriyostatik etki mikroorganizmaların çoğalmasını ve gelişimini yavaşlatır ve/veya durdurur ve bu mikroorganizmalar vücudun immun sistemi tarafından bertaraf edilir (Traş ve ark., 2007).

### **2.4.1. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması**

Antibiyotikler, mikroorganizmalar üzerindeki etki derecelerine göre bakteriyostatik ve bakterisidal olarak iki gruba ayrılır (Akkan, 1997; Bayar, 2014).

**Tablo 2.5.** Antibiyotiklerin Etki Derecelerine Göre Sınıflandırılması (Akkan, 1997; Bayar, 2014).

Etki Derecesi	Antibiyotik
Bakteriyostatik	Tetrasiklinler Makrolidler Sülfonamidler Amfenikoller Linkozamidler Metronidazol Mikonazol
Baktarisidal	Beta-Laktamlar (Penisilinler, Sefalosporinler, Polipeptidler Monobaktamlar, Karbapenemler) Florokinolonlar Beta-Laktamaz İnhibitörleri (Sulbaktam, Tazobaktam, Klavulanik Asid) Vankomisin Rifamisin Aminoglikozidler Teikoplanin Nitromidazoller İmipenem

Antibiyotikler bakteri hücresinde şekillendirdikleri etki mekanizmalarına göre beş gruba ayrılır. Tablo 2.8. 'de bu sınıflandırma gösterilmektedir.

**Tablo 2.6.** Antibiyotiklerin Etki Mekanizmasına Göre Sınıflandırılması (Akkan, 1997; Bayar, 2014).

Etki Mekanizması	Antibiyotik
Bakteri hücre duvarı sentezinin bozulması	Penisilinler, Sefalosporinler, Aztreonam, İmipenem, Basitrasin, Vankomisin, Teikoplanin
Sitoplazma membranının geçirgenliğinin bozulması	Polimiksinler, Gramisidin, Ketokonazol, Nistatin, Amfoterisin B ve diğer antifungal imidazoller, Flukonazol ve diğer antifungal triazoller
Protein sentezinin inhibe edilmesi	Kloramfenikol, Eritromisin ve diğer makrolidler, Tetrasiklinler, Kuinupristin-Dalfopristin, Linezolid, Aminoglikozidler
Nükleik asit sentezinin bozulması	Rifampisin ve diğer rifamisinler, Nalidiksik asid, Florokinolonlar, Metronidazol (kısmen)
İntermediyer metabolizmayı bozanlar (Bakteriyel antimetabolitler)	Sülfonamidler, Trimetoprim, Sülfonlar, İzoniazid, Etambutol, PAS

### 2.4.2. Antibiyotiklere Karşı Direnç Gelişimi

Mikrobiyel direnç, bakterinin antimikrobiyel ilaçlara karşı gösterdiği bakterisidal veya bakteriyostatik etkisini ortadan kaldırmasıdır. Antimikrobiyal direnç gelişimi ve yayılımı, amacına uygun olmayan biçimlerde kullanılan antibiyotikler neticesinde hız kazanmıştır (Bayar, 2014). Antibiyotik kalıntısının en önemli sorunlarından birisi dirençli suşların gelişmesi ve hastalık durumunda antimikrobiyal tedavinin sonuç vermemesidir. Antibiyotik kalıntısı içeren gıdaları sürekli olarak tüketen bireylerde patojen mikroorganizmaların direnç kazanmaları kaçınılmazdır (Elizabeta ve ark., 2011). Antimikrobiyal direnç kazanmış mikroorganizmalar halk sağlığı açısından tehdit oluşturmaktadır. Hayvancılık, beşerî ve veteriner hekimlik, su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan antibiyotikler, direnç gelişiminde önemli rol oynamaktadır (Al, 2016).

Sürekli antibiyotik uygulanan hayvanlardan elde edilen gıdalar tüketime sunulduğunda, zehirlenmelere sık rastlanılmaktadır. Buna sebep olarak, dirençli mikroorganizmaların gıdalardaki mevcudiyeti ve immun sistemin bu dirençli mikroorganizmaları bertaraf edememesi gösterilmektedir (Yarsan, 2012). Mikroorganizmalarda direnç; doğal ve kazanılmış olarak meydana gelmektedir. Doğal direnç; kalıtsal özellikte olmayan, mikroorganizmanın yapısından kaynaklı direnç şeklidir. Antimikrobiyel maddenin bakteride bağlanacağı hedef molekül olmadığından bakteri doğal olarak dirençlidir (Traş ve ark., 2007). Örneğin birçok Gram negatif bakteri vankomisin ve metisiline, Enterokoklar da sefalosporine duvar yapılarından dolayı doğal direnç gösterirler (Rise ve Bonomo, 1996). Kazanılmış direnç ise sonradan kazanılan direnç tipidir. Kazanılmış dirençte bakteriler, antimikrobiyal madde ile ilk temaslarında etkilenmektedirler. Bu durum süreklilik arz ederse kazanılmış antimikrobiyal direnç şekillenir (Burns, 1995). Antimikrobiyallere direncin esas kaynağını kazanılmış direnç oluşturmaktadır. Genetik direnç; kromozom, plazmid ve transpozon kontrolünde olmakla beraber, mikroorganizmalar bunların birini ya da birkaçını kullanarak dirençli hale gelebilmektedir (Öztürk, 2002).

### 2.4.3. Vankomisin

Vankomisin, etimolojik olarak “yenen, fetheden” anlamına gelen “vanquish” kelimesinden türetilen ve klinikte en sık kullanılan glikopeptit antibiyotiktir. Vankomisin diğer antibiyotiklere nazaran büyük molekül ağırlığına sahip (yaklaşık 1450 dalton), çözünebilir yapıda trisiklik bir polipeptittir. Vankomisin, 1956 yılında

Borneo Adası'nda bulunan *Streptomyces orientalis*'ten izole edilen ve dar spektruma sahip olan bakterisidal bir antibiyotiktir (Topçu ve ark., 2002). İzole edilmesini takiben aynı yıl içerisinde klinik olarak kullanılmaya başlanmıştır. Kullanıma girdiği ilk zamanlarda saf olmaması ve yan etkilerinin fazlalığı nedeni ile yerini metisiline bırakmış, ancak metisiline gelişen hızlı direnç nedeni ile 1982 yılından sonra tekrar vankomisin kullanımına yönelim olmuştur (Gökdağ, 2017).

#### 2.4.4. Vankomisine Karşı Direnç Gelişimi

Vankomisine direnç, ilk olarak enterokoklar tarafından 1989 yılında Birleşik Devletler'de tespit edilmiştir. Ardından 1996'da Japonya'da, 1997'de ise Birleşik Devletler'de vankomisine orta düzeyde dirençli *S. aureus* (VISA) suşları saptanmıştır (Hiramatsu ve ark., 1997). Vankomisine dirençli *S. aureus* izolatları ise ilk defa 2002 yılında tespit edilmiştir (Shorr, 2007). Dünya Sağlık Örgütü tarafından yayımlanan CAESAR (Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance) verilerine göre 2016 yılında Bosna Hersek'te, Karadağ'da, Rusya'da, Sırbistan'da, İsviçre'de, Makedonya'da ve Türkiye'de elde edilen *S. aureus* suşlarından hiçbirinde vankomisin direncine rastlanmamıştır (CAESAR, 2017). Vankomisin genel olarak Gram pozitif bakterilere etkilidir. VRSA'larda, VISA ve hVISA'lara göre farklı direnç mekanizmaları vardır. Vankomisin direncini kodlayan *vanA* operonu Tn1546 taşıyıcı elementi ile taşınmış ve enterokoklardan *S. aureus*'a geçmiştir (Stryjewski ve Corey, 2009). Vankomisin, sentezlenen peptidoglikanın D-alanin-D-alanin'e bağlanarak transpeptidasyon safhasını engeller. Bakteride *vanA* genin bulunması sonucunda, D-alanin-D-alanin yerine D-alanin-D-laktat sentezlenir. Bu durumda vankomisin bağlanacak uygun yer bulamaz ve hücre duvarı sentezini engelleyemez (Jehl ve ark., 2004). VISA ve hVISA izolatlarında *vanA* geni bulunmamakla birlikte, direnç mekanizmaları tam olarak açıklanamamıştır. İlk olarak, vankomisin kullanımındaki artışın, VISA ve hVISA izolatlarında gelişen direnç mekanizmalarına sebep olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar neticesinde, VISA ve hVISA suşlarında hücre duvarının VSSA izolatlarına göre daha kalın bir yapıya sahip olduğu belirtilmiştir (McAleese ve ark., 2006). Bu izolatlarda, hücre duvarında mevcut peptidoglikan zincirleri arasındaki çapraz bağların sayılarında azalma görülmektedir. Bu sebeple, bu izolatlarda serbest formda bulunan D-alanin-D-alanin miktarı oldukça fazladır. Bu koşullarda, vankomisin, serbest formdaki ve "tuzak moleküller" olarak nitelendirilen

D-alanin-D-alanin kalıntılarına eklendiği için asıl hedefine ulaşamaz. Asıl hedefine ulaşamayan vankomisin molekülleri, kalın hücre duvarında hapsolarak (trapping/sponge effect) kalır (Stryjewski ve Corey, 2009). Yapılan çalışmalar, VraSR, GraSR ve WalKR gibi iki komponentli regülasyon sistemlerinin, hVISA ve VISA direnç çeşitleri ile doğrudan ilişkili olduğunu göstermiştir (Nannini ve ark., 2010). VISA ve hVISA izolatlarında görülen direnç mekanizmalarının ikincisi ise “tıkanma” (clogging)’dır. Tamamlanmış olan peptidoglikan katmanlarındaki tuzak moleküller yoluyla yüksek miktarlarda hapsedilen vankomisin molekülleri, diğer vankomisin molekülleri karşısında fiziksel bariyer şekillendirir. Bunun sonucu olarak vankomisin molekülleri bu engeli aşamayıp, asıl hedeflerine ulaşamazlar (Cui ve ark., 2006).

#### **2.4.5. Antibiyotik Duyarlılık Test Yöntemleri**

##### **2.4.5.1. Dilüsyon Yöntemi**

Dilüsyon testleri, bir antibiyotik hastalık etkeni mikroorganizmaya göre etkinliğinin ölçülmesi amacıyla yapılır. Dilüsyon testlerinde, öncelikle 10x100 mm ya da 13x100 mm uzunluğunda bir seri tüp hazırlanır (Hızlısoy, 2014). Test; bu şekilde tüplerde yapılırsa makrodilüsyon, çok kuyucuklu küçük hacimlerde ve özel pleytlerde yapılırsa mikrodilüsyon ismini alır. Mikrodilüsyon kuyucuklarında antibiyotik dilüsyonlarının ticari olarak dondurulmuş ya da dondurulup kurutulmuş olarak bulunmaları, çok sayıda mikroorganizmanın aynı anda çalışmasına imkân sağlamaktadır. Bu yüzden mikrodilüsyon testi, birçok mikrobiyoloji laboratuvarlarında makrodilüsyon testine göre daha çok tercih edilmektedir (Qi ve ark., 2006). Test tüplerine sıvı halde besiyeri, üzerine gittikçe azalan yoğunlukta standardize edilmiş antibiyotik ya da diğer kemoterapötik maddeler ilave edilir. Sonra aynı tüplere özellikleri tümüyle bilinen, Mc Farland 0.5 yoğunlukta bir bakteri süspansiyonundan eşit miktarlarda inoküle edilir. Uygun sıcaklıkta belli bir inkübasyon süresinden sonra içerisinde bakteri üremesi tümüyle durmuş olan tüpün içerdiği kemoterapötik ilaç yoğunluğu, ekimi yapılan bakteri türünün gelişmesini durduran minimum inhibitör konsantrasyonu (*MIK*) olarak *dikkate alınır* (Hızlısoy 2014). Minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) ise bakterinin belirli bir miktarını öldüren en yüksek dilüsyondur (Quinn ve ark., 2002). MBK’yı belirlemek için seri olarak hazırlanmış, üremenin önlenmiş olduğu tüplerden ayrı ayrı katı besiyerlerine ekim yapılır. Bir gece inkübasyondan sonra petriyerler incelenir. Sıvı besiyerinde bulanıklık görülmediği halde yapılan ekimlerde üreme görülmesi, o

tüplerde bakteriyostatik etki bulunduğu halde bakterisidal aktivitenin bulunmadığı anlamına gelir. Katı besiyerinde üreme gösteren konsantrasyonlardan en son tüpteki konsantrasyon, o antibiyotiğin o mikroorganizma için minimum bakterisidal konsantrasyonunu gösterir (Bilgehan, 2005).

Belirtilen yöntemde saptanan yoğunluklar değişik duyarlılıktaki bakteri türlerine göre farklılık gösterdiğinden, bu duyarlık düzeyi çeşitli türden bakteriler için ayrı ayrı denemelerle saptanabilir. Yapılan testler sonucu belirlenen MİK değerinin standartlarda (Clinical and Laboratory Standards Institute-CLSI gibi) belirtilen MİK değerinden daha yüksek olması, antibakteriyel direnç olarak tanımlanır (Yüce, 2001).

#### **2.4.5.2. Difüzyon Yöntemleri**

Günümüzde uygulanması kolay ve nispeten ucuz bir yöntem olarak “Kirby-Bauer disk difüzyon metodu”, teşhis laboratuvarlarında genellikle tercih edilmektedir (Quinn ve ark., 2002; Bilgehan, 2005). Difüzyon testi, mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal ajanın inhibitör etkilerinin incelenmesinde kullanılmaktadır (Qi ve ark., 2006). Bu testte öncelikle hastalık etkeni olarak izole ve tanımlanmış mikroorganizmanın selektif olmayan besiyerinde gelişmiş 24 saatlik taze kültürünün tuzlu su içerisinde, McFarland 0.5 bulanıklıkta süspansiyonu hazırlanır. Disk difüzyon testinde besiyeri olarak 4 mm kalınlıkta hazırlanmış Mueller Hinton Agar (MHA) kullanılmaktadır (Bilgehan, 2005). Belirli miktarda antibakteriyel madde içeren filtre kâğıdı diskleri, test bakterisi inoküle edilmiş agar üzerine düzenli bir şekilde yerleştirilir. Mikroorganizmanın üreme durumuna göre yaklaşık 18-24 saat inkubasyon sonunda oluşan inhibisyon zon çapları, milimetre cinsinden ölçülür ve sonuçlar zon büyüklüğünün yorumlanması için hazırlanmış standartlarla karşılaştırılır (Hızlısoy, 2014). İnhibisyon zon çapı büyüklüğü; diskteki antibiyotiğin yayılabilirlik özelliğine, deneyin uygulandığı koşullara ve mikroorganizmanın duyarlılığına bağlıdır. Disk difüzyon testinde ölçülen inhibisyon zon çaplarına bakılarak incelenen mikroorganizmanın diskteki antibiyotiğe karşı durumu; duyarlı, dirençli veya orta duyarlı şeklinde belirtilir (Bilgehan, 2005). Hastalığa neden olan mikroorganizmanın antimikrobiyal ajana duyarlı olması, ilacın etkilenen dokularda terapötik düzeylere ulaşması durumunda, tedaviden müspet cevap alınabileceği şeklinde yorumlanmaktadır (Hızlısoy, 2014).



### 2.4.5.3. E (Epsilometer) Test

E test, mikroorganizmaların antimikrobiklere karşı olan duyarlılıklarını kantitatif olarak ölçen ve MİK değerlerini belirten bir yöntemdir (Bilgehan, 2005; Hızlısoy, 2014). Bu test, agar difüzyon testine benzemekle birlikte, disk difüzyon metodundan, antibiyotiğin tek bir konsantrasyonu yerine bir ilaç konsantrasyon eğrisi oluşturması bakımından farklılık gösterir. Bu yöntemde 5x50 mm veya 60 mm uzunluğunda antimikrobiyalin azalan konsantrasyonlarında emdirilmiş gözeneksiz plastik stripler kullanılmaktadır (Qi ve ark., 2006). Antibiyotik konsantrasyonu, 0.002'den 32 mg/L'ye, 0.016'dan 256 mg/L'ye veya 0.064'ten 1024 mg/L'ye kadar değişebilmektedir. Bu konsantrasyon dağılımı, konvansiyonel MİK belirleme yöntemlerinde kullanılan onbeş kez dilüe edilmiş sulandırımıdır (Bilgehan, 2005; Qi ve ark., 2006).

E test yönteminde kullanılan besiyeri, kanlı MHA'dır. Petri üzerine inoküle edilecek bakteri, selektif olmayan besiyerinde geliştirilmiş ve 24 saatlik taze kültürün tuzlu su içerisinde McFarland 0,5 bulanıklılıkta hazırlanmış süspansiyonundan elde edilmektedir. Farklı organizmalar için farklı süspansiyonlar hazırlanmalıdır. E test için hazırlanan bakteri inokulumu, 15 dk. içerisinde kullanılmalıdır. E test stripleri, ilaç aktivitelerini kaybetmemeleri için -20 veya -70°C'de saklanmalıdır (Hızlısoy, 2014). Stripler, mikroorganizma inoküle edilmiş agar pleytlerinin üzerine yerleştirildiklerinde; bunlar üzerinde bulunan değişik konsantrasyonlardaki antibiyotik, difüzyon yoluyla agar yüzeyine yayılmaktadır. Antibiyotiğin inhibitör konsantrasyonda olduğu bölgelerde hiçbir bakteriyel üreme gözlenmezken petrinin geri kalan bölgesinde bakteri gelişimi normal olarak devam etmektedir. Bakteri değişik konsantrasyondaki antibiyotiğe karşı, test stripi çevresinde eliptik üreme inhibisyon zonu oluşturmaktadır. E test sribinde inhibisyon zonunun kesiştiği nokta MİK olarak kabul edilmektedir (Hızlısoy, 2014; Qi ve ark., 2006)

### 2.4.5.4. Ticari Otomatize Sistemler

Son yıllarda bakteri ve mantarların hızlı bir şekilde identifikasyonlarının yanında mikroorganizmaların antimikrobiyallere olan dirençlerini de ölçen otomatik mikroyöntemler ve cihazlar geliştirilmiştir (Bilgehan, 2005).

*MicroScan WalkAway 40/96S Systems, VITEK 1 and VITEK 2 SystemsBD Phoenix System* gibi geliştirilmiş yöntemler günümüzde yaygın şekilde kullanılmaktadır.

Otomatize sistemlerdeki antibiyotik testlerinin tamamı, sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile MİK belirlenmesi temeline dayanmaktadır (Qi ve ark., 2006). Bunun için saf kültür halinde üretilmiş bakteri veya mantarların, yöntemine uygun konsantrasyonlarda, bir süspansiyonundan içerisinde belirli miktarlarda antimikrobiklerin bulunduğu kaplara, striplere ya da plaklardaki çukurlara ekimi yapılır. Sonuçlar, yöntemine ve incelenen mikroorganizmaya göre 4-24 saat sonra cihaz tarafından otomatik olarak okunmakta ve MİK değerleri ile birlikte değerlendirilerek verilmektedir (Hızlısoy, 2014).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Karkas ve Kesimhane Materyal Örnekleri

Bu çalışmada; Nevşehir İli'nde faaliyet gösteren üç kesimhanenin her birinden 50 adet (10 adet kesim tahtası yüzeyi, 10 adet bıçak yüzeyi, 10 adet duvar yüzeyi, 10 adet karkas yüzeyi ve 10 adet kesimhane atık suyu), toplamda 150 adet svap numunesi alındı. Numuneler; karkaslardan, kesme tahtaları yüzeylerinden ve duvar yüzeylerinden 10X10 cm boyutunda steril metal çerçeve kullanılarak alındı. Numunler metal çerçevenin içerisinde, 10 kez yukarı aşağıya ve 10 kez de bir kenardan diğerine olacak şekilde alındı. Bıçakların sadece karkasla temas eden metal yüzeyinden ve kesim esnasında akmakta olan atık suya svapın daldırılıp çıkarılmasıyla numuneler toplandı. Alınan numuneler *S. aureus* varlığı yönünden materyal olarak kullanıldı. Örnekler steril bir şekilde 24 saat içerisinde soğuk zincirde Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Laboratuvarı'na getirilerek incelemeye alındı. Alınan numune türü ve sayısı Tablo 3.1.'de verildi.

**Tablo 3.1.** Kesimhanelerden Alınan Numune Türleri ve Sayıları

Örnek	Kesimhane 1	Kesimhane 2	Kesimhane 3	Toplam
Kesim tahtası yüzeyi (T)	10	10	10	30
Bıçak yüzeyi (B)	10	10	10	30
Duvar yüzeyi (D)	10	10	10	30
Karkas yüzeyi (K)	10	10	10	30
Kesimhane Atık Suyu (S)	10	10	10	30
<b>Toplam</b>	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>150</b>

### 3.1.2. Karkas ve Kesimhane Materyallerinden *S. aureus* İzolasyonu ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri ve Diğer Kimyasallar

Çalışmada, izolasyon, identifikasyon aşamaları ve antibiyotik duyarlılık testi için *S. aureus* ATCC 25923 referans suşu kullanıldı. Kullanılan kimyasallar; distile su, serum fizyolojik (%0.9 NaCl), kristal viyole, lügol, alkol, sulu fuksin, immersiyon yağı, hidrojen peroksittir. Kullanılan araçlar; mikroskop, steril lam, hassas terazi, buzdolabı, derin dondurucu, mikrodalga fırın, santrifüj cihazı, ısı döngü cihazı, vorteks cihazı, elektroforez cihazı, inkübatör, otoklav, manyetik karıştırıcı, pH ölçer, lam, steril petri kutusu, steril endorf tüpleri, otomatik pipet, steril pipet ucu ve steril yarı katı transport besiyeri ihtiva eden eküvyon çubuğu olarak sıralanabilir.

#### 3.1.2.1. Egg Yolk Tellürit Emülsiyonu (Oxoid, İngiltere)

**Tablo 3.2.** Egg Yolk Tellürit İçeriği

İçerik	Miktar
Steril Yumurta Sarısı	200 mL
Sodyum Klorür	4.25 g
Potasyum Tellürit	2.1 g
Distile su	800 mL

#### 3.1.2.2. Baird Parker Agar Base (Oxoid, İngiltere)

Bu besiyerinden hassas terazi ile tartılarak 63 g'ı 1000 mL distile suda çözdürüldü. Çözeltinin pH değeri  $6.8 \pm 0.2$ 'ye ayarlandı. Bu karışım sıcak su banyosunda tamamen eritildi. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edildikten sonra 50 °C 'ye kadar soğutuldu. Üzerine 50 mL Egg Yolk Tellürit Emülsiyon (Oxoid SR0054, İngiltere) eklenerek homojenizasyonu sağlandı. Bu besiyeri her bir steril petri kutusuna 20 mL dökülerek hazırlandı. Besiyeri içeriği Tablo 3.3'te verildi.

**Tablo 3.3.** Baird Parker Agar Base İçeriği

İçerik	Miktar (g/L)
Tripton	10.0
Et Ekstratı	5.0
Maya Ekstratı	1.0
Sodyum Pürivat	10.0
Glisin	12.0
Lityum Klorid	5.0
Agar	20.0

### 3.1.2.3. Kanlı Agar (Oxoid, İngiltere)

Blood Agar Base No: 2 (Oxoid, CM 0271, İngiltere) ticari besiyerinden hassas terazi ile 40 g tartıldı ve 1 L distile su içerisinde çözdürüldü. Çözeltinin pH değeri  $7.4 \pm 0.2$ 'ye ayarlandıktan sonra sıcak su banyosunda eritildi. Otoklavda  $121^\circ \text{C}$ 'de 15 dakika steril edildikten sonra  $50^\circ \text{C}$ 'ye kadar soğutuldu. Üzerine %7 steril defibrine koyun kanı eklendi. Besiyeri her biri 20 mL olacak şekilde steril petrilere döküldü. Donmaya bırakıldı. Kullanılincaya kadar  $4^\circ \text{C}$ 'de muhafaza edildi. Besiyeri içeriği Tablo 3.4'te verildi.

**Tablo 3.4.** Blood Agar Base No: 2 İçeriği

İçerik	Miktar (g/L)
Proteoz Pepton	15.0
Karaciğer Özütü	2.5
Maya Ekstraktı	5.0
Sodyum Klorür	5.0
Agar	12.0
Distile Su	1000 mL

### 3.1.2.4. Kanlı Mueller Hinton Agar (Merck, Almanya)

Mueller Hinton ticari besiyeri, 34.0 g/L konsantrasyonda distile su içinde eritildi ve Besiyerinin pH'sı  $7.2 \pm 0.2$  olarak ayarlandı. Otoklavda  $121^\circ \text{C}$ 'de 15 dakika sterilize edilip,  $50^\circ \text{C}$ 'ye soğutuldu. Steril petri kutularına 20'şer mL döküldü.

Mikroorganizmaların gelişimini desteklemek için defibrine koyun kanı ilave edildi. Besiyeri içeriği Tablo 3.5'te verildi.

**Tablo 3.5.** Mueller Hinton Agar İçeriği

İçerik	Miktar (g/L)
Sığır Eti Ekstraktı	2.0
Kazein Asit Hidrolizati	17.5
Nişasta	1.5
Agar	13.0
Distile Su	1000 mL

### 3.1.2.5. Gliserinli Brucella Broth (Oxoid, İngiltere)

Elde edilen izolatların PCR ile identifikasyonu yapılabildiği kadar uzun süre dondurularak (-80°C'de derin dondurucuda) saklanması için %10'luk Gliserinli Brucella Broth hazırlandı. Brucella Broth (Oxoid, CM0169, İngiltere) hazır besiyerinden 2.52 gr tartılarak 90 mL distile su içinde çözdürüldü ve üzerine kriyoprotektif amaçlı 10 mL gliserin (Merck, M104091, Almanya) ilave edildi. Otoklavda 121° C'de 15 dakika steril edildi. Soğumasını takiben buzdolabına kaldırılarak, kullanılıncaya kadar saklandı. Gliserinli Brucella Broth içeriği Tablo 3.6' de verildi.

**Tablo 3.6.** Gliserinli Brucella Broth İçeriği

İçerik	Miktar (g/L)
Kazein Pepton	10.0
Et Pepton	10.0
Glikoz	1.0
Sodyum Klorür	5.0
Sodyum Bisülfat	0.1
Maya Ekstraktı	2.0
Agar	13.0
Distile Su	1000 mL

### 3.1.2.6. Bactident Coagulase (Merck, Almanya)

Bileşiminde EDTA ilaveli liyofilize tavşan plazmasıdır. Pakette hazır olarak bulunan her şişe 3 mL steril distile su ile sulandırılıp bundan 0.3 mL'si tüp koagülaz testi için kullanılmaktadır.

### 3.1.2.7. Bactident Oxidase (Merck, Almanya)

Reaktif bölge N,N-Dimethyl-1,4-phenylenediammonium chloride (0.1  $\mu$ mol) ve  $\alpha$ -naphthol (1.0  $\mu$ mol) içeren hazır test stripleridir.

### 3.1.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) İşleminde Kullanılan Sarf Malzemeler

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) işleminde kullanılan malzemeler Tablo 3.7.'de verilmiştir.

**Tablo 3.7.** PCR İşleminde Kullanılan Malzeme Listesi

Malzeme	Miktar
Taq DNA polimeraz (Thermo Fisher Scientific, ABD)	500 U
PCR Buffer (Thermo Fisher Scientific, ABD)	10X
MgCl <sub>2</sub> (Merck, 105833, Almanya)	25 mM
dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (Thermo Fisher Scientific, ABD)	10 mM
DNA ekstraksiyon kiti (Bio-Rad, InstaGene Matrix, ABD)	

### 3.1.4. Antimikrobiyal Duyarlılık Testinde Kullanılan Malzemeler

Bu çalışmada antibiyotik duyarlılık belirlemede, vankomisin E test stripleri (Va 256-0.015  $\mu$ g/ml (Oxoid, İngiltere) kullanıldı.

## 3.2. Yöntem

Nevşehir İli'ndeki kesimhanelerden toplanan toplam 150 adet örnek, steril bir şekilde 24 saat içinde soğuk zincirde Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Laboratuvarı'na getirilerek incelenmeye alınıncaya kadar +4 °C'de muhafaza edildi.

### 3.2.1. Fenotipik İdentifikasyon Testleri

Fenotipik olarak identifikasyon amacıyla; öncelikle svaplar Egg Yolk Tellüritli Baird Parker agar besiyerine inokule edildi ve 24-48 saat aerobik koşullarda 37 °C'de inkübe edildi.

Gram boyama için üreyen şüpheli stafilokok kolonilerden öze yardımıyla bir miktar alınıp serum fizyolojik damlatılmış lam üzerine ince bir tabaka halinde sürüldü ve kurumaya bırakıldı. Kuruyan lam, beg alevi üzerinden üç defa geçirilmek suretiyle fiksasyonu sağlandı. Ardından sırasıyla; kristal viyole, lugol, alkol ve sulu fuksin ile muamele edilip kurumaya alındı. Hazırlanan preparatlar mikroskopta incelenmek üzere immersiyon objektifte lam üzerine sedir yağı ilavesi ile incelendi. Mikroskopta, Gram pozitif kokların varlığı (mor renkli), pozitif olarak kabul edildi.

Oksidaz testi için Bactident Oxidase (Merck, Almanya) test stripleri kullanıldı. Besiyerinde üreyen kolonilerden öze yardımı ile bir miktar alınarak reaksiyona sokuldu. Mor renk veren koloniler pozitif olarak kabul edildi.

Katalaz testi, lam üzerine öze yardımı ile alınan kolonilerin üzerine %3'lük hidrojen peroksit ilave edilmesiyle yapıldı. Köpüklerin oluşması katalaz enziminin varlığını gösterdi.

Şüpheli kolonilerden elde edilen izolatlar beta hemoliz özelliğinin belirlenebilmesi için Kanlı Agar (Oxoid, İngiltere) besiyerine inokule edildi. Şeffaf bölgeler beta hemolizin gerçekleştiği bölgeler olarak belirlendi.

Koagülaz deneyi, *S. aureus* tarafından oluşturulan ve kan plazmasını pıhtılaştırıcı bir enzim olan koagülazın reaksiyonunu ve dolayısıyla koloninin *S. aureus* olduğunu bildiren bir deneydir. Tüpte koagülaz testi için tüplere Bactident Coagulase (Merck, Almanya) pakette hazır haldede bulunan 6 adet liyofilize şişenin her biri 3 mL steril distile su ile sulandırıldı. Her bir steril tüpe 0.3 mL miktar karışımdan eklendi. Bakteri ilave edilen tüpler 37°C'de her saat başı pıhtılaşma kontrolü yapıldı.

### **3.2.2. Moleküler İdentifikasyon Testleri**

#### **3.2.2.1. DNA Ekstraksiyonu**

Bakteri DNA'sını elde etmek için InstaGene Matrix (Bio-Rad, ABD) ekstraksiyon kiti kullanıldı. Ekstraksiyon işlemi için kit protokolüne bağlı kalındı. Kısaca, fenotipik olarak doğrulanan bakterilere ait 24 saatlik sıvı kültürden ependorflara yaklaşık 1 mL alındıktan sonra 12.000xrpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Ependorfun üstünde biriken sıvı uzaklaştırılarak altta kalan pelletin üzerine 200 µL InstaGene matrix solüsyonundan



eklenerek homojenize edildi ve 56° C’de 15-30 dk. inkübe edildi. Daha sonra bu süspansiyon 12.000xrpm’de 10 sn. boyunca yüksek hızda santrifüj edildi. Homojenize edilen süspansiyon 100° C’lik su banyosunda 8 dk. inkübasyona bırakıldı. Sonrasında 10 sn. boyunca yüksek hızda santrifüj edildi. Daha sonra 12.000xrpm’de 2-3 dk süreyle inkübe edildi. Bu sürenin sonunda 50 µL PCR reaksiyonu başına elde edilen süpernatandan 20 µL kullanıldı. Hedef DNA olarak kullanılmak üzere ependorfıta kalan sıvı -20° C’de saklandı.

### 3.2.2.2. *S. aureus*’un Moleküler Yöntemle İdentifikasyonu

Fenotipik testlerle *S. aureus* olarak tespit edilen izolatların doğrulanması amacıyla PCR yöntemi kullanıldı (Clermont ark., 2013; Muştak ark., 2015). Buna göre; reaksiyon toplam 25 µL hacimde gerçekleştirildi. Reaksiyon karışımı; her bir primerden 0.2 µM, 200 µM dNTP, 2.5 µl PCR reaksiyon buffer, 3mM MgCl<sub>2</sub>, 2 U Taq DNA polimeraz (Thermo Scientific, ABD) ve 1 µl kalıp DNA’dan oluşmuştur. Termal döngü koşulları; 94° C’de 5 dk ilk denatürasyon; 94° C’de 10 saniyede denatürasyon, 59° C’de 20 sn primer bağlanması, 72° C’de 10 sn. uzatma, reaksiyon 30 döngüden oluştu ve daha sonra 72° C’de 5 dk. son uzama aşamasından meydana gelmiştir.

Çalışmada kullanılan primer çiftleri ve beklenen bant büyüklüğü (bp) Tablo 3.9.’da verilmiştir.

**Tablo 3.8.** Çalışmada Kullanılan Primerler ve Beklenen Bant Büyüklükleri

Primer	Primer Dizilimi	Gen Bölgesi	Amplikon Büyüklüğü (bp)
NUC-F166	AGT TCA GCA AAT GCA TCA CA	<i>nuc</i>	400
NUC-R565	TAG CCA AGC CTT GAC GAA CT		
ERIC-1	ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC	-	-
ERIC-2	AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG	-	-

### 3.2.2.3. *S. aureus*’un PCR ile Doğrulanması

Fenotipik testler ile *S. aureus* olarak belirlenen izolatların moleküler yönden doğrulanması amacıyla PCR yöntemlerinden faydalanıldı. *S. aureus* izolatları için, “*nuc*” gen bölgesini, kodlayan primerler kullanıldı (Tablo 3.8). PCR reaksiyon karışımının final yoğunluğu 50 µL miktarda hazırlandı. Reaksiyon karışımı 5 µL DNA

örneği, 5 µL 10 X PCR buffer, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 400 µM dNTPs, 0.5 µM her bir “*nuc*” primerden ve 1.5 U Taq polymerase’den meydana geldi (Cremonesi ve ark. 2005; Smith 2014).

### 3.2.3. Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus (ERIC) PCR ile Moleküler Tiplendirme

Bu çalışmada, moleküler tiplendirme için ERIC-PCR kullanıldı. Analizde ERIC-1 (5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC-3') ve ERIC-2 (5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3') primerleri yer aldı. Amplifikasyon için PCR karışımı, 5 µL 10xPCR buffer A (Thermo Fisher Scientific, ABD), 4 mM MgCl<sub>2</sub> (Merck, 105833, Almanya), 5 U Taq DNA polymerase (Thermo Fisher Scientific, ABD), final konsantrasyonu 0.2 mM olacak şekilde dNTP (Thermo Fisher Scientific, ABD) karışımı, 25 pmol primerler (Sentromer DNA Teknolojileri, İstanbul, Türkiye) ve 1 µL template DNA içeren toplam 50 µL hacimden oluşturuldu. Amplifikasyon koşulları ilk denatürasyon (94°C’de 5 dk.) basamağını takiben 40 amplifikasyon siklusundan ve her bir siklus, 94°C’de 1 dk., 25°C’de 1 dk. ve 72°C’de 2 dk. aşamalarından oluşturuldu. (Touchgene Gradient, Techne, İngiltere). Elde edilen PCR ürünleri, %2’lik agaroz jel içerisinde yürütülmüş (Thermo EC 330, ABD) ve oluşanbantlar jel dökümantasyon sisteminde (Vilber Lourmat, Fransa) incelenmiştir.

### 3.2.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi

#### 3.2.4.1 Epsilometer Test (E test)

*S. aureus* izolatlarına vankomisin antibiyotiği ile E test yapılarak MİK düzeyi ve MİK aralığı tespit edildi. Bunun için; *S. aureus* izolatları %5 defibrine koyun kanlı Mueller Hinton Agar’da aerobik ortamda 18-24 saat üretildi. Gelişen koloniler besiyeri üzerinden toplanarak %0.075 NaCl içinde süspansiyon edildi ve bakteri yoğunluğu McFarland No: 0.5 turbidite standardına ayarlandıktan sonra 0.1 mL Mueller Hinton agar besiyerine inoküle edilip yayıldı ve E test kartuşları besiyeri üzerine yerleştirildi. Aerobik ortamda 37°C’de 18-24 saat inkube edildi. İnkubasyon sonunda petri kaplarında oluşan eliptik inhibisyon zonlarının kesiştiği nokta MİK değeri olarak kabul edildi ve izolatların duyarlı, orta duyarlı ve dirençlilik durumları CLSI kriterlerine göre değerlendirildi (CLSI, 2017).

## 4. BULGULAR

### 4.1. *S. aureus* İzolasyon Sonuçları

Bu çalışmada Nevşehir İli'nde bulunan üç ayrı kesimhaneden toplanan 150 adet numune, *S. aureus* yönünden incelendi. Toplanan 150 numuneden 150 adet izolat elde edildi. Elde edilen 150 izolattan; 65'i (%43.3) koagülaz pozitif stafilokok, 6'sı (%4) da *S. aureus* olarak tespit edildi.

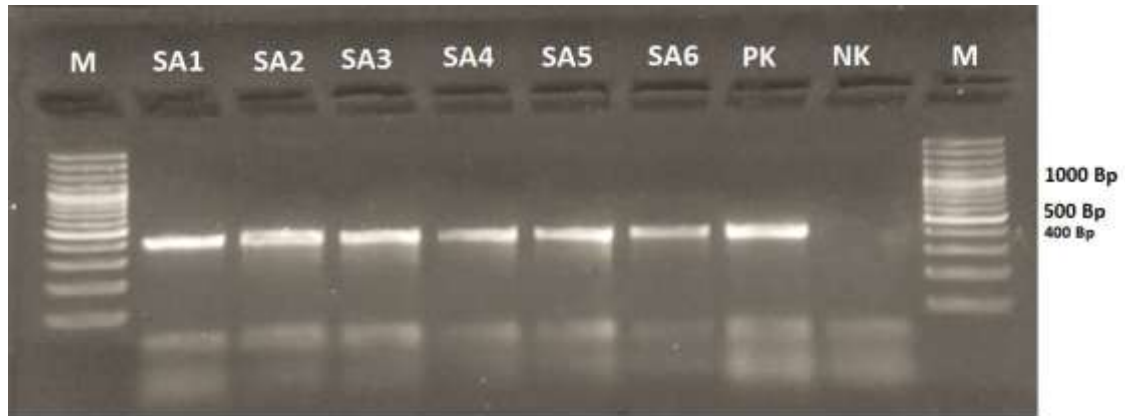
### 4.2. *S. aureus*'un PCR ile Tespiti

Bu çalışmada, *S. aureus*'un termostabil nükleazını kodlayan ve *S. aureus*'a spesifik olan *nuc* geninin bir sekansını büyütmek için *nuc*-F166 ve *nuc*-R565 primerleri kullanıldı. Hedef “*nuc*” genlerin 400 bp bant büyüklüğü verdiği agaroz jelde görüntülendi ve bu bant büyüklüğü pozitif olarak değerlendirildi. Bu yöntemle, fenotipik olarak pozitif tespit edilen toplam 6 (%4) izolattın, PCR ile doğrulaması yapıldı. Bu doğrulamanın sonucunda moleküler olarak 6 (%4) adet izolat pozitif tespit edildi. Birinci kesimhaneden altıncı ve onuncu atık su örnekleri ve onuncu kesim tahtası örneği, ikinci kesimhaneden dördüncü karkas yüzeyi, yedinci ve sekizinci duvar yüzeyi örneklerinden *S. aureus* tespit edildi. Üçüncü kesimhaneden PCR ile herhangi bir izolat tespit edilemedi. Tespit edilen izolatlar Tablo 4.1.'de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** PCR ile İdentifikasyon Sonuçları

Örnek	Kesimhane 1 n=50	Kesimhane 2 n=50	Kesimhane 3 n=50	Yüzde %
Kesim tahtası yüzeyi (T) (n=30)	10 numaralı örnek	-	-	%3.3
Bıçak yüzeyi (B) (n=30)	-	-	-	-
Duvar yüzeyi (D) (n=30)	-	7 ve 8 numaralı örnekler	-	%6.6
Karkas yüzeyi (K) (n=30)	-	4 numaralı örnek	-	%3.3
Kesimhane Atık Suyu (S) (n=30)	6 ve 10 numaralı örnekler	-	-	%6.6
<b>Toplam</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>-</b>	<b>6-%4.0</b>

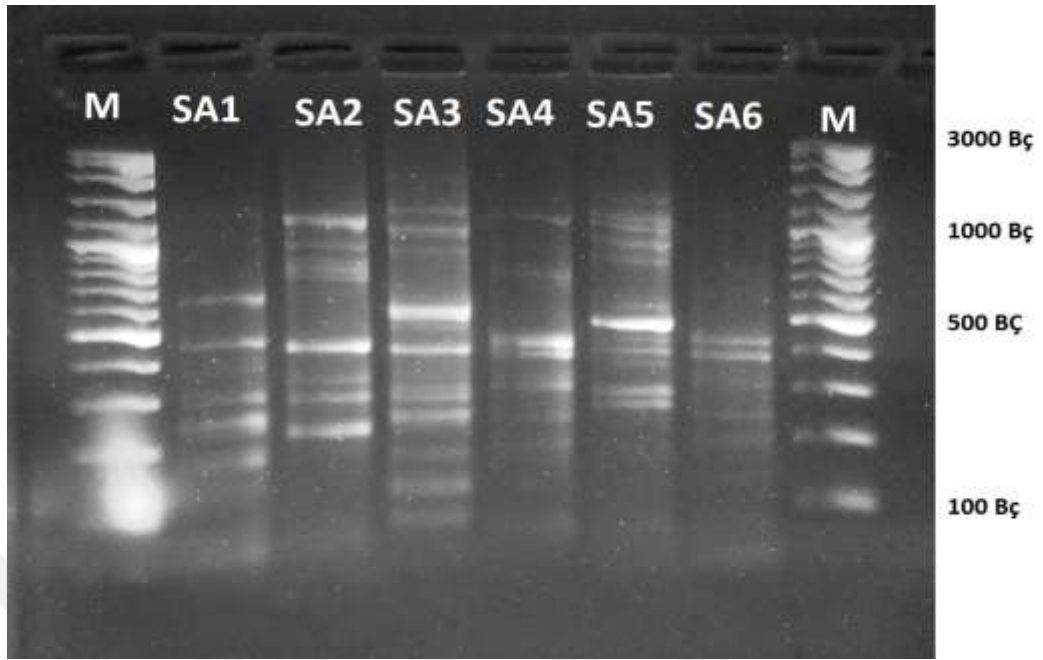
*S. aureus* yönünden pozitif bulunan örneklerin agoroz jeldeki görüntüleri şu şekildedir.



**Şekil 4.1.** *S. aureus*'un % 1.5'lik agoroz jeldeki görüntüsü için pozitif örnekler. 400 bp pozitifdir. PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol, M: Marker, SA1-6: *S. aureus*.

#### 4.2.1. ERIC-PCR Sonuçları

Uygulanan ERIC-PCR sonucunda 5 ile 14 arasında bant profilleri görüldü. Bu sonuca göre, izolatların tamamının farklı olduğu tespit edildi.



**Şekil 4.2.** *S. aureus* izolatlarının %2'lik agaroz jeldeki ERIC-PCR band paternleri. M: 100 bp DNA ladder, 1: 1-T-10 nolu izolat, 2: 1-S-6 nolu izolat, 3: 1-S-10 nolu izolat, 4: 2-D-7 nolu izolat, 5: 2-D-8 nolu izolat, 6: 2-K-4 nolu izolat.

### 4.3. Antibiyotik duyarlılık test sonuçları

#### 4.3.1. Epsilometer Test (E test)

*S. aureus* izolatlarının vankomisine karşı MİK düzeylerini belirlemek amacıyla uygulanan E test sonucunda, tüm izolatların vankomisine duyarlı olduğu saptanmıştır.



**Şekil 4.3.** *S. aureus* izolatına E test uygulaması.

Antibiyotik duyarlılık sonuçları Tablo 4.2.'da verilmiştir.

**Tablo 4.2.** Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları (CLSI 2017)

VANKOMİSİN	S	I	R	Örnek	MİK (µg/mL)
	≤2	4-8	≥ 16	1-S-06	0.5 S
	≤2	4-8	≥ 16	1-T-10	2 S
	≤2	4-8	≥ 16	2-K-04	2 S
	≤2	4-8	≥ 16	2-D-07	1 S
	≤2	4-8	≥ 16	1-S-10	0.5 S
	≤2	4-8	≥ 16	2-D-08	2 S

(S: Duyarlı I: Orta duyarlı R: Dirençli MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, 1: Birinci Kesimhane, 2: İkinci Kesimhane, 3: Üçüncü Kesimhane, S: Atık Su, T: Kesme Tahtası Yüzeyi, K: Karkas Yüzeyi, D: Duvar Yüzeyi)

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Stafilokoklar toplum sağlığı açısından son derece önemli patojen mikroorganizma grubunu oluşturmaktadır. *S. aureus*, insanlarda normal biotada bulunmakla birlikte, sağlığı olumsuz yönde etkileyen; endokardit, bakteriyemi ve gıda kaynaklı intoksikasyonların önde gelen sebeplerinden birisi olarak tespit edilmiştir (Hızlısoy ve ark., 2018). Aynı zamanda *S. aureus*, birçok ülkede resmi kayıtlara göre gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyonların üçüncüsü olarak belirtilmiştir (Veras ve ark., 2008). Stafilocokal gıda zehirlenmesi, enterotoksijenik stafilocokların besinlerde  $10^6$  kob/g seviyesinin üzerinde olması ve ürettikleri enteretoksinleri sindirim yoluyla alınmasını takiben şekillenmektedir. Bunun yanı sıra, stafilocokal enteretoksinler (SE) artrite, alerjik reaksiyonlara, toksik şok benzeri sendroma ve otoimmün hastalıklara neden olmaktadır (Cha ve ark., 2006). Kesim işleminde karkas, hayvanların derilerindeki ve sindirim sistemindeki patojen mikroorganizmalarla kolayca kontamine olabilmektedir. Ayrıca personelin hijyen noksanlığı da karkası kontamine edebilmektedir (Keyvan, 2014).

Bu çalışmada; Nevşehir İli'nde bulunan üç ayrı kesimhaneden toplanan 150 adet svap numunesinden, koagülaz pozitif stafilocok ve *S. aureus*'un izolasyonu, identifikasyonu, izolatların vankomisin antibiyotiğine duyarlılığı ve moleküler tiplendirmesi amaçlandı.

Tez çalışmamızda kesimhane materyalleri ve karkaslardan alınan örneklerde 65/150 (%43.3) koagülaz pozitif stafilocok olarak tespit edilmiştir. Sığır karkaslarından alınan örneklerde koagülaz pozitif stafilocok mevcudiyeti yönünden daha önce yapılan çalışmalardan farklı seviyelerde sonuçlar ortaya konulmuştur.

Keyvan ve Özdemir (2016), Ankara'da yaptıkları çalışma neticesinde, toplam 120 sığır karkasından sünger svap yöntemi ile alınan örneklerin 32'sinde (%26.6) koagülaz pozitif stafilocok bulunduğunu belirtmişlerdir.

Al-Tarazi ve ark. (2009), 2006 yılı Şubat ve Eylül ayları arasında Ürdün’de bulunan kesimhanede karkasların dış yüzeyinden steril bıçak yardımıyla 50 adet sığır karkasından topladıkları numuneleri analize tabi tutmuş ve bunların 15’ini (%34.1) koagülaz pozitif stafilocok olarak tespit edilmişlerdir. Kumar ve ark. (2014), tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise, 50 sığır karkasından toplanan numuneler analiz edilmiş ve koagülaz pozitif stafilocok yönünden 11’inin (%22) pozitif olduğu belirtilmiştir. Hansson ve ark (2001), yaptıkları çalışmada, sığır karkaslarında kogulaz pozitif stafilocokları %34 düzeyinde tespit etmişlerdir. Vanderlinde ve ark. (1998), sığır karkaslarından aldıkları örneklerde %29 düzeyinde kogülaz pozitif stafilocok olduğunu tespit etmişlerdir. Phillips ve ark. (2006), tarafından yapılan çalışmada sığır karkaslarından sünger svap yardımı ile alınan numunelerin %28.7’si koagülaz pozitif stafilocoklar yönünden pozitif bulunmuştur. Phillips ve ark. (2001), sığır karkaslarından sünger svap yöntemi ile topladıkları örneklerin analizi neticesinde, sığır karkaslarının %24,3’ünde koagülaz pozitif stafilocokları tespit etmişlerdir. Özdemir ve ark. (2010), tarafından yapılan bir diğer çalışmada 120 sığır karkasından toplanan örneklerin 46’sının (%38.3) koagülaz pozitif stafilocok yönünden pozitif olduğu tespit edilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda saptanan oranların, tez çalışmamızda tespit edilen oranlara nazaran düşük olduğu görülmekte; bu durumun kontaminasyonun daha az olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Beyene ve ark. (2017), tarafından yapılan bir çalışmada ise materyal olarak kesimhanede kullanılan bıçak, kesim hattı ekipmanları ve karkas yüzeyi svap örnekleri toplamış, yapılan analizlerde %43.47 düzeyinde koagülaz pozitif stafilocok bulunduğu tespit edilmiştir. Araştırmacıların bulguları ile tez çalışmamızın sonucunun paralel olduğu görülmektedir.

Desmarchelier ve ark. (1999), 3 farklı kesimhaneden topladıkları sığır karkaslarında sırasıyla %62, %85 ve %89 düzeylerinde koagülaz pozitif stafilocok tespit etmişlerdir. Araştırmanın bulguları, birinci kesimhane hariç, çalışmamıza göre oldukça yüksek oranlardır. Bu durumun, kontaminasyonun fazla olmasından kaynaklandığı düşünülebilir.

Tez çalışmamızda yaptığımız fenotipik ve moleküler identifikasyon testleri sonucunda sığır karkaslarından alınan örneklerde 6/150 (%4.0) *S. aureus* yönünden pozitif olarak tespit edildi.



Keyvan ve Özdemir (2016), Ankara’da yaptıkları çalışmalarında, toplam 120 sığır karkasından sünger svap yöntemi ile alınan örneklerin 15’inde (%12.5) *S. aureus*, tespit etmişlerdir. Yılmaz ve Gümüş (2004), tarafından yapılan çalışmada, kesimhaneden alınan 150 karkas svap örneği incelenmiş ve *S. aureus*’un %30 oranında olduğu belirtilmiştir. Türkiye’de yapılan bu çalışmalarda tespit edilen *S. aureus* oranlarının, tez çalışmasında elde edilen sonuçlar ile karşılaştırıldığında, yüksek olduğu görülmektedir. Bunun nedeni olarak; numune alma yöntemindeki ve kesimhane şartlarındaki farklılıklar, kesim öncesi hayvanların derilerindeki mikrobiyal yükün fazlalığı ve bunun kesim esnasında karkasa bulaşma olasılığı ileri sürülebilir.

Tanih ve ark. (2015) tarafından Güney Afrika’da üç farklı kesimhanede kesilen sığır karkaslarından alınan 112 adet svap örneği fenotipik olarak incelenmiş, bunların 30’u (%26.7) *S. aureus* yönünden pozitif bulunmuştur. Pekana ve Green (2018) tarafından yine Güney Afrika’da yapılan bir çalışmada, 500 sığır karkas svap örneğinin 102’sinde (%20.4) *S. aureus* tespit edilmiştir. Adugna ve ark. (2018), Etiyopya’da bir kesimhanede kullanılan kesme tahtası ve bıçak yüzeyi svap örneklerinden (40’ar adet) sırasıyla 6 (%15.0) ve 9 (%22.5) *S. aureus* identifiye etmişlerdir. Bersisa ve ark. (2019) tarafından yine Etiyopya’da yapılan bir çalışmada 16’şar karkas yüzeyi, kesme tahtası yüzeyi ve bıçak yüzeyi svap örneklerinden sırasıyla, 4’ü (%25), 7’si (%43.75) ve 5’i (%31.25) *S. aureus* yönünden pozitif olarak bildirilmiş ve karkas yıkama suyundan aldıkları örneklerde yapılan çalışmada *S. aureus*’a rastlanmadığı belirtilmiştir. Schlegelova ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada, sığır karkaslarının boyun ve kuyruk bölgelerinden alınan 35’er adet svap örneklerinden 5’inde (%7.5) *S. aureus* pozitif bulunmuştur. Ayalew ve ark. (2015), tarafından yapılan araştırmada sığır karkasları ile kontak halinde olan kesimhane zemini ve bıçak yüzeylerinden 15’er svap numunesi alınmış, sırasıyla 5’inde (%33.33) ve 4’ünde (%26.67) *S. aureus* tespit edilmiştir. Gowda Tanuja ve ark. (2017), 4 farklı kesimhaneden aldıkları, sığır karkas yüzeyi (152), bıçak yüzeyi (109), kesme tahtası yüzeyi (104) svap örneklerinin analizi sonucunda, sırasıyla %59.86, %51.37 ve %50 düzeylerinde *S. aureus* bulunduğunu aktarmışlardır. Beyene ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada %13.9 oranında *S. aureus* tespit edilmiştir. Birhanu ve ark. (2017) tarafından Etiyopya’da yapılan çalışmada materyal olarak kesme tahtası yüzeyi ve bıçak yüzeyi kullanılmış, her birinden 53 adet svap örneği alınmış ve sırasıyla 5’inde (%9.43) ve 2’sinde (%3.77) *S. aureus*, tespit edilmiştir. Bıçak yüzeyinden alınan örneklerde tespit edilen oran tez

çalışmamızda saptanan oranla hemen hemen benzerlik göstermektedir. Literatür taramamızın sonucunda, sığır karkaslarında *S. aureus* oranları bakımından karşılaştırma yapıldığında, tez çalışmamızdaki oran diğerlerine nazaran düşük miktardadır. *S. aureus*'un, özellikle insanların normal biotalarında bulunduğu bilinmektedir. Bu oranlar analiz edildiğinde, çalışanların hijyen konusundaki eksiklikleri, karkası ve ekipmanları kontamine ettiği düşünülebilir. Ayrıca, bu sonuçlar, örnekleri aldığımız üç kesimhanedeki hijyen prosedürlerinin daha iyi işletildiği anlamına da gelebilir.

Tez çalışmamızda yaptığımız antibiyotik duyarlılık testi sonucu tüm izolatların vankomisine (%100) duyarlı olduğu saptanmıştır. Bu bakımdan, yaptığımız çalışmanın bulgularıyla benzerlik gösteren çalışmalar mevcuttur.

Gündoğan ve ark (2005) tarafından yapılan çalışmada, sığır karkaslarında tespit edilen *S. aureus* izolatlarına antimikrobiyal duyarlılık testi uygulanmış, izolatların tamamı vankomisine duyarlı bulunmuştur. Keyvan ve Özdemir (2016), yaptıkları antibiyotik duyarlılık sonucunda tüm *S. aureus* izolatlarının vankomisine duyarlı olduğunu saptamışlardır. Aydın ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada, elde edilen *S. aureus* izolatlarına E test yöntemi ile antimikrobiyal duyarlılık testi yapılmış ve izolatların tamamının vankomisine duyarlı olduğunu bildirilmiştir. Tanih ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada, sığır karkaslarından elde edilen *S. aureus* izolatlarına uygulanan antimikrobiyal duyarlılık testi sonucunda, tüm izolatlar vankomisine duyarlı bulunmuştur. Schlegelova ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada, tespit edilen *S. aureus* izolatlarının tamamı vankomisine duyarlı bulunmuştur. Bahsedilen bu çalışmalarda *S. aureus* izolatlarının vankomisine duyarlılığı konusunda tespit edilen bulgular tez çalışmamızdaki bulgularla benzerlik göstermektedir. Türkiye'de ve dünya genelinde yapılan vankomisin duyarlılık testi sonuçları incelendiğinde, direnç tespiti olmamasının, dünya genelinde vankomisinin veteriner sahadaki kullanım kısıtlılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Şahal, 2012).

Buna karşılık, vankomisine karşı direnç tespit edilen çalışmalar da mevcuttur. Adugna ve ark. (2018), %54.5 VIRSA ve %45.5 VRSA, Gowda Tanuja ve ark. (2017), %78 VSSA, %14 VIRSA ve %8 VRSA, Beyene ve ark. (2017) %65.1 VRSA tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar analiz edildiğinde araştırmanın yapıldığı bölgelerde sağaltım amacı ile hayvanlara vankomisin preparatlarının yüksek düzeyde uygulandığı yorumu yapılabilir.

Sonuç olarak; yaptığımız çalışma neticesinde, fenotipik olarak izole ettiğimiz 65 (%43.3) *S. aureus* izolatının 6'sı (%4) fenotipik testler ve PCR analizi sonucu pozitif olarak belirlenmiştir. Antimikrobiyal duyarlılık testinde E test stripleri kullanılmış ve elde ettiğimiz izolatların tamamının vankomisine duyarlı olduğu saptanmıştır. ERIC-PCR yöntemi ile yaptığımız moleküler tiplendirme sonucuna göre elde edilen izolatların genotipik özellikleri bakımından birbirlerinden farklı oldukları ortaya konmuştur.

İnsanların ve hayvanların doğal biotasında bulunan *S. aureus*, hijyen eksikliği noktasında gıdalarda indikatör bir role sahiptir. İnsan beslenmesinde önemli bir yer tutan kırmızı etin ilk işlendiği yer olan kesimhanelerde mikroorganizma yükünün minimal düzeyde tutulması gereklidir. Bakterilerin logaritmik olarak çoğaldıkları düşünüldüğü takdirde, işleme yerleri olan kasaplarda, parçalama tesislerinde, et ürünleri endüstrisinde ve en son olarak da tüketimde, enfeksiyon ve toksikasyonların önlenmesi amacıyla karkastaki mikrobiyal yükün en aza indirilmesi önem arz etmektedir. Dolayısıyla bu zincirin ilk basamağı olan kesimhanelerde mikrobiyal yük ne kadar az olursa, kırmızı etin raf ömrü de o kadar uzun olacaktır.

Yaptığımız antibiyotik duyarlılık testi neticesinde vankomisinin *S. aureus*'lar için hala etkili olduğu ortaya konmuştur. Antibiyotik kullanımının sınırlandırılması konusunda WHO tarafından, farkındalığı artırmaya yönelik çalışmalara hız verilmiş durumdadır. Bu durum hayvanların ve insanların maruz kaldığı gereksiz antibiyotik uygulamalarının önüne geçilmesini amaçlamaktadır. Hayvan hastalıklarının önlenmesi, dolayısı ile sağlıklı ve kalıntı içermeyen kırmızı etin tüketiciye ulaşmasındaki altın kural ise koruyucu hekimliktir. Ayrıca antibiyotik kullanımının azaltılması direnç sorununu da genel olarak ortadan kaldıracaktır.

Üretilen gıdaların, finansal kaynakların ve bilimsel çabaların heba edilmemesi ve antibiyotik rezervlerinin korunması adına, kesimhanelerde hijyen prosedürlerine yüksek bağlılık ve antibiyotik kullanımında hekim, eczacı ve hayvan sahiplerinin duyarlı davranmaları, reçetesiz antibiyotik verilmemesi ve bu şekilde antibiyotik talep edilmemesi önem arz etmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

1. Acco M, Ferreira FS, Henriques JAP, Tondo EC. Identification of multiple strains of *Staphylococcus aureus* colonizing nasal mucosa of food handlers, Int J Food Microbiol, 2003; 20: 489-493.
2. Adams MR, Moss MO. Food Microbiology (3rd edition), The Royal Society of Chemistry, UK, 2008: 252-257.
3. Adugna F, Pal M, Girmay G. Prevalence and antibiogram assessment of *Staphylococcus aureus* in beef at municipal abattoir and butcher shops in Addis Ababa, Ethiopia, Biomed Res Int, 2018: 1-7.
4. Akkan AG. Antibiyotiklerin sınıflandırılması, Pratikte Antibiyotik Kullanımı Sempozyumu, 2-3 Mayıs 1997, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 53-62.
5. Aktaş A. Dermatofitoz Şüpheli Köpeklerde *Staphylococcus aureus*'un Rolü, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 2014: 3-10.
6. Al S, Hızlısoy H, Ertaş Onmaz N, Yıldırım Y, Gönülalan Z. Occurrence and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovars Typhimurium, Enteritidis, and Typhi isolated from chicken eggs and poultry products, Turk J Vet Anim Sci, 2016; 40: 737-743.
7. Al-Tarazi YH, Albetar MA, Alaboudi AR. Biotyping and enterotoxigenicity of *Staphylococci* isolated from fresh and frozen meat marketed in Jordan, Food Res Int, 2009; 42 374-379.
8. Ayalew H, Berhanu A, Sibhat B, Serda B. Microbiological assessment of meat contact surfaces at abattoir and retail houses in Jigjiga town, Somali National Regional State of Ethiopia, ISABB J Food and Agric Sci, 2015; 5(3): 21-26.
9. Aydın A, Sudağdan M. Gıda mikrobiyolojisinde moleküler biyolojik tekniklerin kullanımı ve tiplendirme yöntemleri, Türkiye Klinikleri Food Sci-Special Topics, 2016; 2: 1-9.
10. Aydın A, Muratoglu K, Sudagidan M, Bostan K, Okuklu B, Harsa S. Prevalence and antibiotic resistance of foodborne *Staphylococcus aureus* isolates in Turkey, Foodborne Pathog Dis, 2011; 8(1): 63-69.

11. Barber M. Methicillin-resistant *Staphylococci*, J Clin Path, 1961; 14: 385-392.
12. Bayar İ. Hayvansal Gıda Örneklerinde Penisilin Grubu Bazı Antibiyotik Kalıntılarının Belirlenmesine Yönelik Kitosan Bazlı Sorbentlerin Hazırlanması, Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 2014: 1-21.
13. Becker K, Skov RL, Eiff CV. *Staphylococcus*, *Micrococcus*, and Other Catalase Positive Cocci. In: Jorgensen JH, Pfaller MA (eds), Manual of Clinical Microbiology. 11th edition, ASM Press, Washington DC, 2015: 354-364.
14. Bersisa A, Tulu D, Negera, C. Investigation of bacteriological quality of meat from abattoir and butcher shops in Bishoftu, Central Ethiopia, Int J Food Microbiol, 2019: 1-8.
15. Beyene T, Hayishe H, Gizaw F, Beyi AF, Abunna F, Mammo B, Ayana D, Walktole H, Abdi RD. Prevalence and antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus* in dairy farms, abattoir and humans in Addis Ababa, Ethiopia, BMC Research Notes, 2017; 10(1): 171.
16. Bilgehan H. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi (11. Baskı), Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, İzmir, 2005: 227-251.
17. Birhanu W, Weldegebriel S, Bassazin G, Mitku F, Birku L, Tadesse M, Assesment of microbiological quality and meat handling practices in butcher shops and abattoir found in Gondar town, Ethiopia, Int J Microbiol Res, 2017; 8(2): 59-68.
18. Bogdanovičová K, Necidová L, Haruštiaková D, Janštová B. Milk powder risk assessment with *Staphylococcus aureus* toxigenic strains, Food control, 2017; 73: 2-7.
19. Bokarewa MI, Jin T, Tarkowski A. *Staphylococcus aureus*: staphylokinase, IJBCB, 2006; 38(4): 504-509.
20. Burns JL. Mechanisms of bacterial resistance, Pediatr Clin North Am, 1995; 42(3): 497-507.
21. CAESAR (Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance). Annual report 2017. Erişim Tarihi: 17.05.2019.

22. Can HY. Farklı Tip Peynirlerde *Staphylococcus aureus*'un Enterotoksin Oluşturma Yeteneği ile Antibiyotik Direncinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2011: 8-15.
23. Cengiz AT. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999: 339-347.
24. Cha JO, Lee JK, Jung YH, Yoo JI, Park YK, Kim BS, Lee YS. Molecular analysis of *Staphylococcus aureus* isolates associated with staphylococcal food poisoning in South Korea, J Appl Microbiol, 2006; 101(4): 864-871.
25. CLSI Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. (CLSI supplement M100 Clinical and Laboratory Standards Institute), Wayne, Pennsylvania, USA, 2017: 56-63.
26. Cohen ML. *Staphylococcus aureus*: Biology mechanisms of virulence, epidemiology, J Pediatr, 1986; (108): 796-799.
27. Collins DS, Huey RJ. Gracey's Meat Hygiene (11 th ed), John Wiley & Sons, West Sussex 2014: 159-184.
28. Costa AR, Batistão DWF, Ribas RM, Sosal AM, Pereiral MO, Botelhol CM. *Staphylococcus aureus* virulence factors and disease, Formatex, 2013: 702-710.
29. Cremonesi P, Luzzana M, Brasca M, Morandi S, Lodi R, Vimercati C, Agnellini D, Caramenti G, Moroni P, Castiglioni B. Development of a multiplex PCR assay for the identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxigenic strains isolated from milk and dairy products, Mol Cell Probes, 2005; 19(5): 299-305.
30. Cui L, Iwamoto A, Lian JQ, Neoh HM, Maruyama T, Horikawa Y, Hiramatsu K. Novel mechanism of antibiotic resistance originating in vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*, Antimicrob Agents Chemother, 2006; 50(2): 428-438.
31. Çetinkaya E, Ayhan K. Mikrobiyolojide kullanılan bazı moleküler teknikler, Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi, 2012; 2(1): 53-62.
32. Dalkılıç E. Klinik *Staphylococcus aureus* İzolatlarında Metisilin, Makrolid Linkozamid-Streptogramin B ve Vankomisin Direncinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2016: 13-17.

33. De Vos P, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer KH, Whitman WB. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2 nd ed), Springer, New York, 2009: 392-421.
34. Desmarchelier PM, Higgs GM, Mills L, Sullivan AM, Vanderlinde PB. Incidence of coagulase positive *Staphylococcus* on beef carcasses in three Australia abattoirs, *Int J Food Microbiol*, 1999; 47: 222-229.
35. Duman Y, Tekerekođlu MS, Otlu B. Toplum ve hastane kökenli *Staphylococcus aureus* klinik izolatlarında panton-valentine lökositin varlığının ve klonal ilişkinin araştırılması, *Mikrobiyol Bul*, 2013; 47(3): 389-400.
36. Durmaz R. Hastane infeksiyonu salgınında moleküler biyolojik yöntemler, *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, 2005; 9: 196-202.
37. Elizabeta DS, Zehra HM, Biljana SD, Pavle S, Risto U. Screening of veterinary drug residues in milk from individual farms in Macedonia, *Mac Vet Rev*, 2011; 34(1): 5-13.
38. Erol İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi, Pozitif Matbaacılık, Ankara, 2007: 135-144.
39. Ertaş Onmaz N, Abay S, Karadal F, Hızlısoy H, Telli N, Al S. Occurrence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella spp.* in retail fish samples in Turkey, *Mar Pollut Bull*, 2015; 90(1-2): 242-246.
40. Evaggelopoulou EN, Samanidou VF. Development and validation of an HPLC method for the determination of six penicillin and three amphenicol antibiotics in gilthead seabream (*Sparus Aurata*) tissue according to the European Union Decision 2002/657/EC, *Food Chem*, 2013; 136(3-4): 1322-1329.
41. Fijałkowski K, Peitler D, Karakulska J. Staphylococci isolated from ready-to-eat meat identification, antibiotic resistance and toxin gene profile, *Int J Food Microbiol*, 2016; 238: 113-120.
42. Genigeorgis CA. Present state of knowledge on staphylococcal intoxication, *Int J Food Microbiol*, 1989; 9(4): 327-360.
43. Gomez-Gil B, Roque A, Turnbull JF. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms, *Aquaculture*, 2000; 191: 259-270.

44. Gowda Tanuja KGM, Latha C, Sunil B, Van Damme I. Occurrence and antibiotic susceptibility of *Listeria* species and *Staphylococcus aureus* in cattle slaughterhouses of Kerala, South India, *Foodborne Pathog Dis*, 2017; 14(10): 573-579.
45. Gökdağ MO. Mastitis İzolatı Stafilocok Suşlarında Vankomisin Dirençliliğinin Fenotipik ve Genotipik Olarak Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 2017: 8-10.
46. Gönülalan Z, Arslan A, Köse A. Farklı starter kültür kombinasyonlarının fermente sucuklardaki etkileri, *Turk J Vet Anim Sci*, 2004; 28: 7-16.
47. Gülcü A. Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) Deneysel Sıçan Osteomyeliti Modelinde İmplantın Fosfomisin İçeren Poli-(D,L)Laktik Asit (PDLA) ile Kaplanması Profilaksidedeki Etkinliği, Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji ABD, Denizli, 2015: 16-17.
48. Gündoğan N, Cıtaç S, Yücel N, Devren A. A note on the incidence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and chicken samples, *Meat Sci*, 2005; 69(4): 807-810.
49. Halkman K ve Doğan H. Gıda Kaynaklı Hastalık ve Zehirlenme Semptomları. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları (2. Baskı), Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 2000: 489-494.
50. Harrison LS. Staphylococci. In: Mahon CR, Manuselis G, Lehman DC. *Textbook of Diagnostic Microbiology*. 3th edition, Saunders Company, USA, 2007: 367-381.
51. Hazımoğlu Ş. *Staphylococcus aureus* Suşlarında Panton-Valentine Lökosidin (PVL) Genlerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 2011: 1-5.
52. Hızlısoy H, Ertaş Onmaz N, Karadal F, Al S, Yıldırım Y, Gönülalan Z, Kılıç H. Antibiotic resistance gene profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from foods of animal origin, *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2018; 24(2): 244-249.
53. Hızlısoy H. Broiler Karkaslarından İzole Edilen *Campylobacter Jejuni* İzolatlarının Makrolid, Kinolon ve Tetrasiklin Grubu Antibiyotiklere Karşı



- Direnç Durumu. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2014: 30-39.
54. Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, Kawasaki S, Hosoda Y, Hori S, Kobayashi I. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin, *The Lancet*, 1997; 350(9092): 1670-1673.
  55. Iorio NLP, Ferreira RBR, Schuenck RP, Malvar KL, Brilhante APF, Nunes AP, Bastos CCR, Dos Santos KRN. Simplified and reliable scheme for species-level identification of *Staphylococcus* clinical isolates, *J Clin Microbiol*, 2007; 45(8): 2564-2569.
  56. Jehl F, Chomarat M, Weber M, Gerard A. From Antibiogram to Prescription (2nd ed.), bioMérieux, 2004: 75-89.
  57. Kahya S, Büyükcangaz E, Carlı KT. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) optimizasyonu, *Uludag Univ J Fac Vet Med*, 2013; 32(1): 31-38.
  58. Kallem B. Bir Kesimhanede Kesimi Yapılan Kasaplık Büyükbaş (Sığır) Hayvanların Temizlikleri ile Karkasların Mikrobiyel Kontaminasyon Düzeyleri Arasındaki Etkileşimin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 2015: 7-8.
  59. Keyvan E. Sığır Karkaslarında *Staphylococcus aureus*'un Varlığı, Karakterizasyonu ve Antimikrobiyal Dirençliliğinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2014: 11-17.
  60. Kumar P, Rao J, Haribabu Y. Microbiological quality of meat collected from municipal slaughter houses and retail meat shops from Hyderabad Karnataka region, India, *APCBEE Procedia*, 2014; 8: 364-369.
  61. Leung KT, Mackereth R, Tien YC, Topp E. A comparison of AFLP and ERIC PCR analyses for discriminating *Escherichia coli* from cattle, pig and human sources, *FEMS Microbiol Ecol*, 2004; 47: 111-119.
  62. Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*, *J Clin Invest*, 2003; 111(9): 1265-1273.
  63. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections, *N Engl J Med*, 1998; 339: 520-531
  64. McAleese F, Wu SW, Sieradzki K, Dunman P, Murphy E, Projan S, Tomasz A. Over expression of genes of the cell walls timulonin clinical isolates of

- Staphylococcus aureus* exhibiting vancomycin-intermediate *S. aureus*-type resistance to vancomycin, J Bacteriol, 2006; 188(3): 1120-1133.
65. Miller LG, Perdreau-Remington F, Rieg G, Mehdi S, Perlroth J, Bayer AS, Tang AW, Phung TO, Spellberg B. Necrotizing fasciitis caused by community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Los Angeles, N Engl J Med, 2005; 352 (14): 1445-1453.
  66. Moran GJ, Krishnadasan A, Gorwitz RJ, Fosheim GE, McDougal LK, Carey RB, Talan DA. Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department, N Engl J Med, 2006; 355(7): 666-674.
  67. Moter A, Gobel UB. Fluorescence in situ hybridization (FISH) for direct visualization of microorganisms, J Microbiol Methods, 2000; 41(2): 85-112.
  68. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. Klinik Mikrobiyoloji, Başustaoğlu A. (Çeviri), Atlas Kitapçılık, Ankara, 2009: 390-404.
  69. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Staphylococcus* and Related Organisms. In: Medical Microbiology. 5th edition, Mosby. 2005; 221-236.
  70. Nannini E, Murray BE, Arias CA. Resistance or decreased susceptibility to glycopeptides, daptomycin and linezolid in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Curr Opin Pharmacol, 2010; 10(5): 516-521.
  71. Odell CA. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) skin infections, Curr Opin Pediatr, 2010; 22(3): 273-277.
  72. Odetokun IA, Ballhausen B, Adetunji VO, Ghali-Mohammed I, Adelowo MT, Adetunji SA, Fetsch A. *Staphylococcus aureus* in two municipal abattoirs in Nigeria: risk perception, spread and public health implications, Vet Microbiol, 2018; 216: 52-59.
  73. Osman K, Alvarez-Ordóñez A, Ruiz L, Badr J, ElHofy F, Al-Maary K, IMI, Moussa, Hessain AM, Orabi A, Saad A, Elhadidy M. Antimicrobial resistance and virulence characterization of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci from imported beef meat, Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2017; 16(35): 1-6.
  74. Otto M. Basis of virulence in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Annu Rev Microbiol, 2010; 64: 143-162.

75. Ös BF, Karaboz İ. İzmir’de Piyasada Açıkta Satışa Sunulan Bazı Gıdaların *Staphylococcus aureus* ve Enterotoksinleri Bakımından İncelenmesi, Orlab On-Line Mikrobiyol, 2005; 3(6): 1-10.
76. Özdemir H, Şireli UT, Can HY. Determination of microbial surface contamination on beef carcasses, Arch Lebensmittelhyg, 2010; 61(1): 27-30.
77. Öztürk R. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar, Sempozyum Dizisi, Kasım, İstanbul, 2002; 31: 83-109.
78. Patricia MT. Bailey and Scott’s Diagnostic Microbiology. 13th edition, Mosby, St. Louis, 2014: 232-246.
79. Peacock SJ. *Staphylococcus*. In: Borriello SP, Murray PR, Funke G. (eds.), Wilson’s Microbiology and Microbial Infections. 10th edition, Hodder Arnold, London, 2005: 772-832.
80. Pekana A, Green E. Antimicrobial resistance profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from meat carcasses and bovine milk in abattoirs and dairy farms of the Eastern Cape, South Africa, Int J Environ Res Public Health, 2018; 15(10): 1-13.
81. Phillips D, Jordan D, Morris S, Jenson I, Sumner J. A national survey of the microbiological quality of beef carcasses and frozen boneless beef in Australia, J Food Protect, 2006; 69(5): 1113-1117.
82. Phillips D, Sumner J, Alexander JF, Dutton KYMM. Microbiological quality of Australian beef, J Food Prot, 2001; 64 (5): 692-696.
83. Procop GW. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Wolters Kluwer Health, Philadelphia, 2017: 702-712.
84. Qi C, Stratton CW, Zheng X. Phenotypic Testing of Bacterial Antimicrobial Susceptibility, In: Tang YW, Stratton CW (eds), Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology. USA, Springer, 2006: 63-83.
85. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC, Veterinary Microbiology and Microbial Diseases, Blackwell Science, USA, 2002: 168-172.
86. Rademaker JLW, Savelkoul P. PCR amplification-based microbial typing. In: Persing DH, Tenover FC, Versalovic J, Tang YW, Unger ER, Relman DA (eds),

- Molecular Microbiology: Diagnostic Principles and Practice. Washington DC, ASM Press, 2004: 197-221.
87. Ranjbar R, Tabatabaee A, Behzadi P, Kheiri R. Enterobacterial repetitive intergenic consensus polymerase chain reaction (ERIC-PCR) genotyping of *Escherichia coli* strains isolated from different animal stool specimens, Iran J Pathol, 2017; 12(1): 25-34.
  88. Rise LB, Bonomo RA. Genetic and Biochemical Mechanisms of Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents, In: Antibiotics in Laboratory Medicine (4th ed). Williams & Wilkins, Baltimore, 1996: 453-501.
  89. Ryan KJ. Staphylococci. In: Ryan KJ, Ray CG (eds). Sherris Medical Microbiology an Introduction to Infectious Diseases. 4th edition, McGraw Hill, New York, 2004: 261- 271.
  90. Sancak B. *Staphylococcus aureus* ve antibiyotik direnci, Mikrobiyol Bul, 2011; 45(3): 568-571.
  91. Saraç Y. İstanbul'da Satışa Sunulan İçme Sütlerinde Antibiyotik Kalıntı Düzeylerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Aydın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2015: 1-16.
  92. Schlegelova J, Nápravníková E, Dendis M, Horvath R, Benedík J, Babak V, Klimova E, P. Navratilova P, Šustáčeková, A. Beef carcass contamination in a slaughterhouse and prevalence of resistance to antimicrobial drugs in isolates of selected microbial species, Meat Sci, 2004 66(3): 557-565.
  93. Schlichting C, Branger C, Fournier JM, Witte W, Boutonnier A, Wolz C, Gouillet P, Döring G. Typing of *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis, zymotyping, capsular typing and phage typing: resolution of clonal relationships, J Clin Microbiol, 1993; 31(2): 227-232.
  94. Sheagren JN. *Staphylococcus aureus*: The persistent pathogen, N Engl J Med, 1984; 310(22): 1368-1373.
  95. Shorr AF. Epidemiology of staphylococcal resistance, Clin Infect Dis, 2007; 45(3): 171-176.
  96. Sırıken B, Yıldırım T, Erol İ, Durupınar B, Çiftçi A, Onuk EE. Prevalence and characterization of coagulase positive *Staphylococci* isolated from salted anchovy, J Aquat Food Prod Tech, 2013; 22(4): 339-352.

97. Sibbald MJJB, Ziebandt AK, Engelmann S, Hecker M, de Jong A, Harmsen HJM, Raangs GC, Stokroos I, Arends JP, Dubois JYF, van Dijl MJ. Mapping the pathways to *Staphylococcal* pathogenesis by comparative secretomics, *Microbiol Mol Biol Rev*, 2006; 70(3): 755-788.
98. Smith EM, Needs PF, Manley G, Green LE. Global distribution and diversity of ovine-associated *Staphylococcus aureus*, *Infect Genet Evol*, 2014; 22: 208-215.
99. Sorrell TC, Packham DR, Shanker S, Foldes M, Munro R. Vancomycin therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Ann Intern Med*, 1982; 97(3):344-350.
100. Stryjewski ME, Corey GR. New treatments for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Curr Opin Crit Care*, 2009; 15(5): 403-412.
101. Şahal M. Süt ve besi hayvancılığında antibiyotik kullanımı, Bilinçli Antibiyotik Kullanımı ve Antimikrobiyel Direnç Sempozyumu, 18 Ekim 2012, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Ankara, 58-60.
102. Tanih NF, Sekwadi E, Ndip RN, Bessong PO. Detection of pathogenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* from cattle and pigs slaughtered in abattoirs in Vhembe District, South Africa, *ScientificWorldJournal*, 2015: 1-8.
103. Tanrıbuyurdu E. Sığır Mastitislerinden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarında Biofilm Oluşumu ve Antibiyotiklere Dirençliliğinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 2014: 2-4.
104. Tenover FC, Arbeit R, Archer G, Biddle J, Byrne S, Goering R, Hancock G, Ann Hebert G, Hill B, Hollis R, Jarvis WR, Kreiswirth B, Eisner W, Maslow J, McDougal LK, Miller JM, Mulligan M, Pfaller MA. Comparison of traditional and molecular methods of typing isolates of *Staphylococcus aureus*, *J Clin Microbiol*, 1994; 32(2): 407-415.
105. Terzi G, Gücükoğlu A, Çadırcı Ö, Uyanık T, Alisharlı M. Serotyping and antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat foods in Samsun, Turkey, *Turk J Vet Anim Sci*, 2015; 39: 211-217.
106. Tiryaki C. Toplu Tüketim İşletmelerinde Tüketime Hazır Gıdalar ve İlgili Personelde *S. aureus* Prevalansı ile Bazı Virulens Özelliklerin İncelenmesi,

- Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2018: 26-30.
107. Tong, SY, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG Jr. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management, Clin Microbiol Rev, 2015; 28(3): 605-635.
  108. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları (1. Baskı), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1996: 773-780.
  109. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi (2. baskı), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2002: 252-257.
  110. Traş B, Yazar E, Elmas M. Veteriner Hekimliğinde İlaç Kullanımında Pratik ve Akılcı Yaklaşım (2. baskı), Olgun Çelik Ofset Matbaa, Konya, 2007: 29-36.
  111. Tünger A. *Staphylococcus aureus*: Mikrobiyoloji, Patogenez ve Epidemiyoloji, Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2004: 9-22.
  112. Uçan N. Subklinik Mastitisli Keçilerdeki Koagülaz Negatif Stafilokokların Saptanması ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 2014: 1-4.
  113. Vanderlinde, PB, Shay B, Murray J. Microbiological quality of Australian beef carcass meat and frozen bulk packed beef, J Food Prot, 1998: 61(4): 437-443.
  114. Varol K. Ratlarda *Streptokokus pyogenes* ve *Stafilokokus aureus* ile Deneysel Olarak Oluşturulan Deri Enfeksiyonları Üzerine Ozonlanmış Yağın Etkisi, Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar, 2015: 9-13.
  115. Veras, JF, do Carmo LS, Tong LC, Shupp JW, Cummings C, dos Santos DA, Cerqueira MMOP, Cantini A, Nicoli JR, Jett M. A study of the enterotoxigenicity of coagulase-negative and coagulase-positive staphylococcal isolates from food poisoning outbreaks in Minas Gerais, Brazil, Int J Infect Dis, 2008; 12: 410-415.
  116. Waldvogel FA *Staphylococcus aureus*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, (eds), Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2000: 2069-2092.

117. Wenzel RP, Reagan DR, Bertino Jr JS, Baron EJ, Arias K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak: A consensus panel's definition and management guidelines, Am J Infect Control, 1998; 26(2): 102-110.
118. Wertheim HFL, Melles DC, Vos MC, Willem VL, Belkum AV, Verbrugh HA, Nouwen JL. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections, Lancet Infect Dis, 2005; 5: 751-762.
119. Yarsan E. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Yayın Organı, Hayvansal gıdalarda kalıntı sorunu, Ankara, 2012: (6): 3-7.
120. Yıldırım H. Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA)'un Hızlı, Hassas ve Doğru Tanısı için Yüzeyde Zenginleştirilmiş Raman Saçılmasına Dayalı Yeni Yöntem Geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep, 2017: 3-5.
121. Yıldırım Y, Ertaş Onmaz N, Gonulalan Z, Al S, Yıldırım A, Karadal F, Hızlısoy H, Pamuk Ş. Microbiological quality of pastrami and associated surfaces at the point of sale in Kayseri, Turkey, Public Health, 2017; 146: 152-158.
122. Yılmaz İ, Gümüş T. Sığır karkaslarının mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi, Türkiye 10.Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs 2004, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 525-528.
123. Yüce A. Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları, Klimik Derg, 2001; 14(2): 41-46.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Ömer Tolga YILMAZ

Uyruğu: Türkiye (T.C.)

Doğum Tarihi ve Yeri: 3 Ocak 1986, Silifke

Medeni Durumu: Evli

Telefon: 0 532 778 82 81

Elektronik Posta Adresi: [omertolgayilmaz@gmail.com](mailto:omertolgayilmaz@gmail.com)

Adres: Cumhuriyet Mahallesi Güven Caddesi No:37 Avanos/NEVŞEHİR

### EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2010
Lise	Özel Silifke Lisesi	2003

### İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2013-Halen	Avanos İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü	Veteriner Hekimi
2011-2013	Şanlıurfa İl Tarım ve Orman Müdürlüğü, Hayvan Sağlığı Yetiştiriciliği ve Su Ürünleri Şube Müdürlüğü	Veteriner Hekimi
2010-2011	4. Zırhlı Tugay Komutanlığı/Erzurum	Gıda Kontrol Subayı

### YABANCI DİL

**İngilizce:** YÖKDİL 2018 Sağlık Bilimleri: 60 puan

### YAYINLAR

1. Yılmaz ÖT, Hızlısoy H, Ertaş Onmaz N, AL S, Yıldırım Y, Gönülalan Z. Sütte antibiyotik kalıntı durumunun incelenmesi, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2018: 15(2), 169-178.
2. Yılmaz ÖT, Hızlısoy H, Ertaş Onmaz N, AL S, Yıldırım Y, Gönülalan Z. Sütte antibiyotik kalıntı durumunun incelenmesi, 7. Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, Aydın, Türkiye, 04-08 Ekim 2017: 51-52.