

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BEYAZ PEYNİR ÖRNEKLERİNDE *Staphylococcus aureus*' un  
FARKLI SELEKTİF BESİYERLERİNDE SAYIMI ve TANIMLANMASI**

**Yeliz KONAÇ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ANKARA**

**2006**

Her hakkı saklıdır

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BEYAZ PEYNİR ÖRNEKLERİNDE *Staphylococcus aureus*' un  
FARKLI SELEKTİF BESİYERLERİNDE SAYIMI ve TANIMLANMASI

Yeliz KONAÇ

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Bu çalışmada ilk olarak *S. aureus* sayımında kullanılan üç selektif besiyerinden elde edilen sayım sonuçları karşılaştırılmıştır. Baird Parker Agar (BPA) ve Mannitol Salt Agar (MSA) besiyerlerine göre Giolitti Cantoni Broth (GCB) besiyeri ile yapılan analizlerin sayım sonuçları daha düşük düzeyde bulunmuştur.

Sonraki aşamada BPA ve MSA katı besiyerinde sayım için yapılan ekimlerde bu besiyerlerinden *S. aureus* kolonileri yanında tipik olmayan *S. aureus*' a benzeyen koloniler ile *S. aureus* olmadığı çok belirgin koloniler de izole edilip tanımlanmışlardır. Bu şekilde elde edilen 99 adet izolatin 91 adedinin tanımlaması, cins ya da tür bazında tatmin edici ayrıntıda yapılmıştır.

Buna göre 12 basil, 6 maya, 30 *Enterococcus* spp. ve 19 *Micrococcus* spp. *S. aureus* için selektif olan katı besiyerlerinde gelişerek koloni oluşturmuşlardır. Ayrıca izolatların 11 adedi *S. aureus* iken, 3 adet *S. anaerobius*, 1 adet *S. coagulans*, 3 adet *S. intermedius*, 2 adet *S. lentus* ve 1 adet *S. xylosus* tanımlanmıştır. Bunların dışında 1 adet izolatin *S. haemolyticus* ya da *S. saprophyticus* ve 2 adet izolatin ise *S. hominis* ya da *S. piscifermentans* olduğuna karar verilmiştir.

Tüm bu veriler doğrultusunda Beyaz peynirlerde standart analizde kullanılan BPA besiyeri, bu çalışmada elde edilen bulgulara göre tatmin edici sonuçlar vermiştir.

**2006, 56 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** *Staphylococcus aureus*, BPA, sayım, peynir, tanımlama

## ABSTRACT

Master Thesis

ENUMERATION and IDENTIFICATION of *Staphylococcus aureus* in  
WHITE PICKLED CHEESE in VARIOUS SELECTIVE CULTURE MEDIA

Yeliz KONAÇ

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

In this study first of all, the enumeration results which are obtained from three selective media for *S. aureus* enumeration, are compared. Compared to Baird Parker Agar and Mannitol Salt Agar media, the enumeration results of the analyses that are done with the Giolitti Cantoni Broth medium are found much less.

As a following step, at the BPA and MSA solid media in the plates for the enumeration, there are both *S. aureus* colonies of these media and similar of its atypical *S. aureus* colonies and there are also the colonies that are clear not to be *S. aureus* and strains are identified. Among the 99 strains, 91 of them are identified in satisfied detail.

According to that; 12 bacilli, 6 yeasts, 30 *Enterococcus* spp. and 19 *Micrococcus* spp. grow at the solid media that are selective for *S. aureus* and they are formed colonies. Besides; when 11 of strains of are *S. aureus*, 3 of *S. anaerobius*, 1 of *S. coagulans*, 3 of *S. intermedius*, 2 of *S. lentus* and 1 of *S. xylosus* are identified. Apart from these, it is decided that 1 of strains is *S. haemolyticus* or *S. saprophyticus* and 2 of strains are *S. hominis* or *S. piscifermentans*.

Parellel of all these data, the BPA medium that is used in the standart analyses of white cheese, pans out satisfied results according to the symptoms gained from this study.

**2006, 56 pages**

**Key Words:** *Staphylococcus aureus*, BPA, enumeration, cheese, identification

## TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın yapılmasında emeği geen tez yneticim Sayın Hocam Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN' a hoşgrl ve sabırlı davranışlarından dolayı teŐekkr ederim. Aynı zamanda manevi desteklerinden dolayı tm blm elemanlarına teŐekkr bir borç bilirim.

Yeliz KONAÇ

Ankara, Kasım 2006

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1 <i>Staphylococcus</i> Hakkında Genel Bilgi.....	3
2.2 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	5
2.3 Stafilokokal Enterotoksinler.....	8
2.4 Peynirde <i>Staphylococcus aureus</i> 'un Önemi.....	10
2.5 <i>Staphylococcus aureus</i> Analizi.....	14
2.5.1 Sayım .....	14
2.5.2 Kullanılan Besiyerleri.....	15
2.5.3 Doğrulama.....	17
2.6 <i>S. aureus</i> Tanımlanması.....	18
2.6.1 Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri.....	19
2.6.2 Biyokimyasal Özellikleri.....	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	22
3.1 Materyal.....	22
3.1.1 Peynir .....	22
3.1.2 Referans bakteri .....	22
3.1.3 Besiyerleri ve seyreltme sıvıları.....	22
3.1.4 İdentifikasyon testleri.....	22
3.2 Yöntem.....	23
3.2.1 Örneklerde <i>S. aureus</i> Sayımı.....	23
3.2.2 İzolasyon.....	24
3.2.3 Tanımlama.....	24
3.2.4 İstatistik Analizler .....	25
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA .....	26
4.1 Sayım Sonuçları .....	26
4.2 İzolatların Tanımlanması.....	32
5. SONUÇ.....	45
KAYNAKLAR .....	47
EK 1 <i>Staphylococcus</i> türlerinin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri .....	53
EK 2 Tek Yönlü Varyans Çözümlemesi .....	55
ÖZGEÇMİŞ.....	56

## SİMGELER DİZİNİ

BPA:	Baird-Parker Agar
MSA:	Mannitol Salt Agar
GCB:	Giolitti Cantoni Broth
MRD:	Maximum Recovery Diluent
EMS:	En Muhtemel Sayı Yöntemi
kob:	Koloni Oluşturan Birim
VP:	Voges-Proskauer

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1 BPA, MSA ve GCB besiyerlerinde elde edilen <i>S. aureus</i> sayıları (log kob/g log EMS/g).....	26
Çizelge 4.2. BPA ve MSA besiyerlerinden Elde Edilen İzolatların Tanımlama Sonuçları.....	37

## 1. GİRİŞ

Peynir teknolojisi, süt endüstrisi içinde ürünlerin çeşitliliği açısından en geniş ve izlenen işlemler bakımından en karmaşık bir üretimdir. Peynir, basit anlamda sütün pıhtılaştırılması ve sonradan süzülmesi suretiyle elde edilen bir mamul olmasına karşın yeryüzündeki eşitleri 1000' e yaklaşmaktadır (Uraz 1988).

Türk Standartları Beyaz Peynir Standardında Beyaz peynir, "inek sütü, koyun sütü, manda sütü, keçi sütü veya karışımlarının pastörize edilmesi ve tekniğine göre işlenmesi, gerektiğinde katkı maddelerinin ilavesi ve olgunlaştırılması sonucu elde edilen mamul" olarak tanımlanmıştır (Anonim 2006a).

Peynirler; genellikle sütün, peynir mayası veya organik bir asitle ya da pıhtılaştırıcı bir unsurla karıştırıldıktan sonra koagüle olması, pıhtının parçalanması, peynir suyunun ayrılması, telemenin kesilmesi, ısıtılması veya daha fazla ekşitme ya da diğer bazı işlemlere tabi tutmak suretiyle yapılırlar. Elde edilen peynir ya da pıhtı parçaları tuzlanır, kalıplanır ve preslenir. Olgunlaşmaları birkaç günden, birkaç aya kadar hatta birkaç seneye kadar uzayabilir (Metin 1977).

Süt ve süt ürünleri sanayindeki teknolojik yapı incelendiğinde bu sektörün oldukça karakteristik bir yapıya sahip olduğu görülmektedir. Gıda sanayinin diğer dallarında işletmelerin teknolojik olanakları arasında farklar stlkteki kadar büyük değildir. Stlkte yelpaze "Kara Mandıra" diye tanımlanan ve birkaç kap-kaçak ile üretim yapan mevsimlik gezgin mandıralar ve oldukça modern teknolojiye sahip olan işletmeler arasında açılım göstermektedir. Dolayısıyla bu tür işletmelerin süt işleme kapasiteleri de günde birkaç yüz kilo ile 100-200 ton arasında değişmektedir (Armağan vd. 2004).

Türkiye' de üretilen çiğ sütün yaklaşık olarak % 40' ı kaynakta tüketilmekte, % 60' ı pazara sunulmaktadır. Modern süt işletmelerine giden süt miktarı % 10 kadardır. Beyaz peynir için kurulu kapasite 1,1 milyon ton olup bunun % 25 kadarı kullanılmaktadır.



Buna göre 2005 yılı üretim miktarı 267.000 ton olarak tahmin edilmektedir (Anonim 2006b).

Beyaz peynirlerde *Staphylococcus aureus*' un neden olduğu gıda kaynaklı zehirlenmeler hakkında bir bilgi yoktur. Bununla beraber, özellikle açık semt pazarlarında satılan Beyaz peynirlerde pek çok patojen olduğu da bildirilmektedir.

Bu çalışma, Beyaz peynirlerde *S. aureus*' un sayılmasında kullanılan farklı besiyerlerinin ve yöntemlerin kıyaslanması amacıyla yapılmıştır. Ayrıca kullanılan besiyerlerinden izole edilen tipik kolonilerin gerçekten *S. aureus* olup olmadığı ve tipik olmayan kolonilerin hangi bakterilere ait olduğu araştırılarak, besiyerlerinin selektivitesi değerlendirilmiştir.

Bu amaçla 40 peynir örneğinde Baird Parker Agar ve Mannitol Salt Agar besiyerlerinde standart kültürel yöntem ile ve Giolitti Cantoni Broth besiyerinde En Muhtemel Sayı (EMS) yöntemi ile sayım yapılmış, izole edilen bakterilere standart tanımlama testleri uygulanmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1 *Staphylococcus* Hakkında Genel Bilgi

*Staphylococcus* terimi mikroskop altındaki karakteristik görünümleri nedeniyle eski Yunancada üzüm salkımı anlamına gelen "staphyle" sözcüğünden türetilmiş ve ilk olarak İskoçyalı cerrah Alexander Ogston tarafından kullanılmıştır (Çayan 2000).

Stafilokoklar ilk kez Pasteur ve Koch tarafından gözlenmiş, ancak ayrıntılı çalışmalar ilk olarak 1881' de Ogston ve 1884' te Rosenbach tarafından yapılmıştır. Rosenbach, irinli yaralardan saf kültür olarak elde ettiği kolonilerin altın sarısı renginden dolayı *Staphylococcus aureus* adını kullanmış, *Staphylococcus epiderimidis*' in derinin normal florası olduğunu göstermiştir (Cookson *et al.* 2003).

Zaman içinde farklı kaynaklara göre *Staphylococcus* cinsi içindeki tür ve alt türler oldukça değişkenlik göstermektedir. Örneğin; mikrobiyolojideki temel kaynaklardan birisi olan Bergey's Manual of Dereminative Bacteriology (Anonymous 1994) adlı kaynağa göre bu cins altında *S. arlettae*, *S. aureus* subsp. *anaerobius*; *S. aureus* subsp. *aureus*; *S. auricularis*; *S. capitis* subsp. *capitis*, *S. capitis* subsp. *ureolyticus*, *S. caprae*, *S. carnosus*, *S. caseolyticus*, *S. chromogenes*, *S. cohnii* subsp. *cohnii*, *S. cohnii* subsp. *urealyticum*, *S. delphini*, *S. epidermidis*, *S. equorum*, *S. felis*, *S. gallinarum*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. kloosii*, *S. lentus*, *S. lugdunensis*, *S. muscae*, *S. pasteurii*, *S. piscifermentans*, *S. saccharolyticus*, *S. saprophyticus*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans*, *S. schleiferi* subsp. *schleiferi*, *S. sciuri*, *S. simulans*, *S. vitulus*, *S. warneri*, *S. xylosus* olmak üzere 36 tür ve alt tür varken, dünyanın önde gelen kültür koleksiyonlarından birisi olan DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH)' de (Anonymous 2003) bunlara ilaveten, *Staphylococcus condimenti*, *Staphylococcus fleurettii*, *Staphylococcus lutrae*, *Staphylococcus nepalensis*, *Staphylococcus pulvereri*, *Staphylococcus succinus* subsp. *casei* türleri ve alt türleri de yer almakta ayrıca *S. carnosus* türü *Staphylococcus carnosus* subsp. *carnosus* ve *Staphylococcus carnosus* subsp. *utilis* olarak, *S. equorum*

türü *Staphylococcus equorum* subsp. *equorum* ve *Staphylococcus equorum* subsp. *linens* olarak, *S. hominis* türü *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* ve *Staphylococcus hominis* subsp. *novobiosepticus* olarak, *S. saprophyticus* türü *Staphylococcus saprophyticus* subsp. *bovis* ve *Staphylococcus saprophyticus* subsp. *saprophyticus* olarak, *S. sciuri* türü *Staphylococcus sciuri* subsp. *carnaticus*, *Staphylococcus sciuri* subsp. *lentus* *Staphylococcus sciuri* subsp. *rodentium* ve *Staphylococcus sciuri* subsp. *sciuri* olarak gösterilmekte, bunlardan *Staphylococcus sciuri* subsp. *lentus*' un doğrudan *S. lentus* ve benzer şekilde *Staphylococcus hyicus* subsp. *chromogenes*' in *S. chromogenes* adını aldığı belirtilmektedir. Aynı kaynağa göre *Staphylococcus caseolyticus* türü, *Macrocooccus* cinsine taşınmıştır.

Daha eski kaynaklarda taksonomik yapı oldukça farklıdır. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Schleifer 1986) adlı kaynağa göre bu türün sadece 19 türü vardır. Bunlar, adı geçen kaynaktaki sıralama ile; *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *S. saccharolyticus*, *S. auricularis*, *S. saprophyticus*, *S. cohnii* subsp. 1, *S. cohnii* subsp. 2, *S. xylosus*, *S. simulans*, *S. carnosus*, *S. intermedius*, *S. hyicus* subsp. *hycius*, *S. hyicus* subsp. *chromogenes*, *S. caseolyticus*, *S. sciuri*, *S. lentus*, *S. gallinarum*, *S. caprae* şeklindedir.

*Staphylococcus* cinsi içinde *S. aureus* subsp. *anaerobius* ve *S. aureus* subsp. *aureus* gibi bazı alt türlerin doğrudan *S. anaerobius* ve *S. aureus* şeklinde isimlendirilmeleri yaygındır ve çoğu kaynakta da bu şekilde kullanılmaktadır (Anonymous 2003). Buna bağlı olarak bu çalışmada alt türler doğrudan tür adı ile verilmiştir.

Micrococcaceae familyası üyesi olan *Staphylococcus* türleri Gram pozitif 0,5-1,5 µm çapında kok şeklinde, spor oluşturmeyen hareketsiz, katalaz pozitif, fakültatif anaerob bakterilerdir (Tükel ve Doğan 2000).

Stafilokoklar, sporsuz bakteriler içinde çevre şartlarına ve dezenfektanlara en çok dayanan, kültürlerde 4 °C' de 2-3 ay, -20 °C' de 3-6 ay dayanma süresine sahip mikroorganizmalardır. 60 °C' de 30 dakikalık ısı işleme dayanabilirler. Antibiyotiklere

karşı çok çabuk direnç oluştururlar. Sahip olduğu penisilinaz etkisiyle penisilinin etkisini ortadan kaldırırlar (Yüce 1992, Kloos and Bannerman 1995).

Sıvı besiyerlerinde çoğalmaları sonucunda bulanıklık ve çökelti oluştururlar. Katı besiyerlerinde aerob ve anaerob ortamlarda kolayca üreyebilirler. Gram pozitif olan stafilokoklar, yaşlı kültürlerde Gram negatif özellik verirler (Yüce 1992).

*Staphylococcus* cinsi içinde insan patojeni olan türler olduğu gibi, başta sucuk olmak üzere çeşitli gıdaların üretiminde starter olarak kullanılan türler de vardır. *S. carnosus* bunların en tipik örneğidir (Öztañ 2003).

*S. aureus'* tan başka enterotoksin oluşturan suşlar da vardır. Bunlar arasına yenileri de eklenmektedir. Bugüne kadar enterotoksin oluşturduğu saptananlar; *S. haemolyticus*, *S. xylosum*, *S. equorum*, *S. lentus*, *S. capitis*, *S. intermedius'* dur (Tunail 2000).

## **2.2 *Staphylococcus aureus***

Tür adını, genel besiyerlerinde altın sarısı koloni oluşturmasından alır (Anonim 2006d). Latince de aurum "altın" anlamına gelmektedir.

İntoksikasyon tip gıda zehirlenmesine yol açan *S. aureus* enterotoksinleri içinde en toksik olanı enterotoksin A, ısıya karşı en dayanıklı olanı ise enterotoksin B' dir. B toksini için 20-25 µg, A toksini için 1 µg hatta 0,1-0,2 µg alınması bile intoksikasyona neden olabilir. Diğer taraftan *S. aureus* intoksikasyonlarının ortaya çıkması için bakterinin gıda üzerinde çoğalarak hücre sayısını 6 log kob/g düzeyine veya üzerine çıkarması gerekir (Tunail 2000).

Halk sağlığı açısından bakıldığında, enterotoksin oluşturanların ön plana çıktığı görülmektedir. Bunun sebebi, enterotoksijenik stafilokokların toksin tipi gıda zehirlenmesi yapmalarıdır. Yani zehirlenmeye bakterinin oluşturduğu toksin sebep

olmakta ve gıdada görülebilmektedir ve hissedilebilir hiçbir değişiklik oluşturmadığı için tüketici gıdadaki varlığını fark edememektedir. Stafilokokal gıda zehirlenmelerinin büyük çoğunlukla *S. aureus*' tan kaynaklanması ve koagülaz pozitif *S. hyicus* ve *S. intermedius* tiplerinin enterotoksin sentezleme kabiliyetinin *S. aureus*' a göre çok düşük olması bu mikroorganizmayı gıda zehirlenmelerindeki rolü açısından diğer stafilokoklar arasında ön plana çıkartmıştır (Yüce 1992).

Koagülaz, kan plazmasını koagüle eden bir enzimdir. *S. aureus* suşları için koagülaz ve enterotoksin oluşumu arasında yakın ilişki söz konusudur. Koagülaz ve termostabil nükleaz testleri *S. aureus* suşlarının patojenliğini belirlemede önemli indikatörlerdir. Analiz edilen gıdada bunların varlığının saptanması, *S. aureus*' un gıdadaki varlığını gösterir ancak toksinin oluşmuş olduğu hakkında bilgi vermez. *S. aureus* iki tip koagülaz enzimi içermektedir. Serbest koagülaz ekstraselüler bir enzimdir, protrombin ve türevleri ile reaksiyona girer. Diğeri ise bağlı koagülazdır, hücre duvarının yüzeyine lokalize olmuştur. Bağlı koagülaz plazma fibrinojenlerinin  $\alpha$  ve  $\beta$  zincirleri ile reaksiyona girer. *S. aureus*, genellikle koagülaz üretir. Koagülaz negatif olanları da vardır (Tunail 2000, Tükel ve Doğan 2000).

Stafilokoklar insan ve hayvanlarda hastalıklara neden olan bakterilerdir. Deride iltihaplı yaralar yaparlar, loğusa humması, menenjit, septisemi ve ayrıca gıda zehirlenmelerine neden olurlar. Bundan başka bugün çeşitli çevrelerde ortaya çıkan mastitis olaylarına neden olarak % 50 oran ile stafilokoklar gösterilmektedir. Bu bakteriler sağım yerlerinde hijyenik koşullara uyulmadan çalışıldığında süte ve sonradan süt ürünlerine geçebilmektedir. Ürettikleri fazla miktardaki enterotoksin nedeniyle gıda zehirlenmelerine, kusma ile birlikte diareye neden olmaktadır. Hayvan bakıcıları ve sağımcılar aracılığıyla bu mikroorganizmalar direk insanlara da geçebilir. Özellikle *S. aureus* sütçülük açısından önemli bir mikroorganizmadır (Tunail ve Köşker 1989).

Fakültatif anaerob karakter gösterir. Seçici olmayan besiyerlerinde düz, parlak, dairesel konveks koloniler oluşturur. % 10' a kadar olan NaCl konsantrasyonlarında iyi

gelişirken % 15 NaCl konsantrasyonunda gelişimi zayıftır. Optimum olarak 30-40 °C' de ve 7-7,5 pH' da gelişir (Demiret ve Karapınar 2000).

*S. aureus'* lar teknolojik işlemler sonucunda da canlı kalabilirler. Eğer gıdada daha önce enterotoksin oluşmuş ise bu toksin ısıtma işlemi gibi uygulamalarla kolaylıkla inaktive edilmeyebilir. Diğer önemli bir husus ise bu bakterinin ikincil kontaminasyon sonucu gıdalara bulaşmasıdır. Başlangıçta pastörizasyon ile imha edilmiş olsalar bile, işlem sırasında insanların ellerinden, araç ve gereçlerden, havadan, katkı maddelerinden, sudan vb. kaynaklardan gıdaya bulaşabilmekte ve koşullar uygun olduğunda toksin oluşturabilmektedir. Özellikle pastörize edilmiş süt ve mamullerine sonradan bulaşan *S. aureus* suşlarının üremeleri ve toksin oluşturmaları daha hızlı olmaktadır (Selçuk 1991).

*S. aureus'* un optimum su aktivitesi değeri >0,99 olmakla birlikte, diğer gıda kaynaklı patojenlerle karşılaştırıldığında üreyebildiği su aktivitesi aralığının oldukça geniş olduğu ve minimum su aktivitesinin genelde 0,86 olmakla birlikte bazı suşlar için 0,83' e kadar düştüğü bilinmektedir. Anaerobik koşullarda minimum su aktivitesi biraz daha yüksek olup 0,90 civarındadır (Atıcı 1999, Reginald *et al.* 2001).

Tellürit, cıva klorür, sodyum azid gibi kimyasal maddelere ve neomisin, polimiksin gibi bazı antibiyotiklere de direnç göstermektedirler (Tunail 2000).

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

*Staphylococcus aureus* insanda hastalık etkeni olarak sık rastlanan, virülansı yüksek bir bakteridir. Penisilinin tedaviye girdiği 1945' ten itibaren *S. aureus* suşlarında  $\beta$ -laktamaza bağlı penisilin direnci 5 yıl içinde % 50' ye çıkmıştır. Bugün bu direnç % 95' in üstündedir. 1960 yılında penisilinaza dayanıklı semisentetik penisilin olan metisilinin

kullanıma girmesi ile birlikte bir yıl içinde metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşları Avrupa' da saptanmaya başlanmıştır (Dündar 2000).

### 2.3 Stafilokokal Enterotoksinler

Stafilokokların ürettikleri toksinler ekzotoksin ve enterotoksin olarak ikiye ayrılmaktadırlar. Ekzotoksinler; hemolizinler, lökositinler, lökosit sitotoksinler, eksfoliyatif toksin, pirojenik ekzotoksin ve toksik şok sendromu toksin 1' den oluşmaktadır. Bunlardan hemolizinler eritrosit, lökosit, hepatositler ve insan diploit fibroblastları üzerinde sitotoksik etki göstermektedirler ve  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$  hemolizinler olarak gruplandırılırlar. Lökositinler sayesinde stafilokoklar fagosite edilseler dahi fagosite edildikleri hücre içinde yaşamaya devam ederler. Bir diğer ekzotoksin, yeni doğanlarda ve süt çocuklarında meydana gelen "haşlanmış deri" sendromuna (staphylococcal skin sendrom/ SSS) sebep olan eksfoliyatif toksindir. İntradermal dokunun ayrılmasına ve derinin pul pul dökülmesine neden olmaktadır. Toksik şok sendromu toksin 1 ve pirojenik ekzotoksin adlı ekzotoksinlerin ise, ağır bir patolojik duruma yol açan toksik şok sendromuna beraberce neden oldukları bilinmektedir (Anderson and Stone 1955).

Stafilokokal enterotoksinler (SE) molekül ağırlığı 26900-29600 arasında değişim gösteren, yapısında fazla miktarda lisin, tirozin, aspartik asit ve glutamik asit bulunduran tek zincirli proteinlerdir. Yaygın olarak görülen 7 farklı tipi bulunmakta ve bunlar; A (SEA), B (SEB), C1 (SEC1), C2 (SEC2), C3 (SEC3), D (SED) ve E (SEE) olarak isimlendirilmektedir. Bu enterotoksinlerin en önemli özelliği ısıya karşı dayanıklı olmasıdır. Yapılan çalışmalar sonucunda 100 °C' de 10 dakika ısı işlem ile toksinlerin aktivitelerini % 50 oranında korudukları ancak 121 °C' de 1-2 dakikalık ısı işlem sonucu inaktif hale geldikleri belirlenmiştir. Sıcaklığa olduğu kadar toksinlerin pepsin ve tripsin gibi proteolitik enzimlere karşı da dayanıklı olması, enterotoksinlerin sindirim dokularından etkisini yitirmeden geçmesine olanak sağlamaktadır (Yaygın ve Milci 2006). *S. aureus* enterotoksinlerinin inaktivasyonu için gerekli sıcaklık derecesi 100 °C' de 1-3 saat veya 120 °C' de 10-40 dakika olarak da verilebilmektedir (Tunail 2000).

Enterotoksinler, ilk defa 1914' de Barber' in stafilokokal mastitisli bir ineğin sütünü içmesiyle ortaya çıkan, mide bulantısı semptomu gösteren akut gastrointestinal enfeksiyon oluşumuyla fark edilmiş, 1930' lu yıllarda Duck tarafından kanıtlanana kadar ne olduğu tam olarak anlaşılamamıştır. Enterotoksinler aslında ekzotoksinlerdir ve sindirim sistemini etkilediklerinden bu isimle anılırlar. Stafilokok enterotoksinleri, insan beynindeki kusma merkezini uyararak kusmaya neden olduklarından aynı zamanda nörotoksin etkisi de gösterirler (Marth and Halpindohnalek 1989).

Enterotoksinler suşa özgü olmakla beraber, bir suş birden fazla toksin üretebilmektedir. Serolojik olarak bilinen 7 toksin (A, B, C, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, D, E) olduğu belirtilmiş ise de toksik şok sendromu yapan TST-1 olarak adlandırılan bir toksin (F) ile son zamanlarda belirlenen G ve H toksini ile 10 çeşit enterotoksin olduğu bildirilmiştir. İnsanlardan izole edilen suşlarda daha çok A, B, C tiplerine, sığırlardan izole edilen suşlarda özellikle C tipine, tavuklardan izole edilen *S. aureus* suşlarında ise D tipi enterotoksine rastlanmaktadır. Enterotoksin A sentezi bakteriyel üremenin logaritmik ve duraklama dönemlerinde olurken, enterotoksin B sentezi ile bakteriyel üremede duraklamanın başladığı dönemde gerçekleşmektedir. Stafilokokal enterotoksin C oluşturan suşlar besiyerlerinde iyi gelişirken, gıdalardaki iç faktörler ve refakatçi floradaki bazı mikroorganizmalar enterotoksin C oluşumunu geciktirmektedirler (Yüce 1992).

İntoksikasyonun şiddeti, alınan toksin miktarına bağlıdır. Evenson ve ark.' na göre 100-200 ng enterotoksin A' nın alınması ile gıda intoksikasyonu oluşur. Raj ve Bergdoll, bunu enterotoksin B için 20-25 µg olarak belirlemişlerdir. Gıda intoksikasyonlarına en çok A tipi toksinin neden olduğu ve bunu B ve D toksinin izlediği birçok araştırmacı tarafından belirtilmiştir. Stafilokokal gıda zehirlenmelerinin önde gelen iki klinik sendromu kusma ve ishaldir. Zehirlenme, enterotoksinli gıdanın alınmasından 1-6 saat sonra meydana gelir. Semptomların süresi ve ağırlığı alınan enterotoksin miktarına, hastanın yaşı ve kilosuna bağlı olarak değişmekte olup, kusma, öğürme, abdominal sancı ve salivasyon gibi belirtiler görülmekte ve semptomlar 24-48 saat sürmektedir. Nadir de olsa dışkı ve kusmukta kan, şahısta baş ağrısı ve terlemeye rastlanmakta ve nadiren ölüm görülmektedir (Yüce 1992).



Gıda zehirlenmesiyle oluşan akut gastroenteritiste mukozalarda hiperemi ve erozyon, kaslarda irritasyon sonucu kasılmalar, bölgesel ödem ve jejunum mukozasının epitelyum hücrelerinde mitokondriyal tahribat ortaya çıkar. Enterotoksinler, bağırsağın lümeninden suyun absorpsiyonunu inhibe ederek ve ishalin oluşmasına yol açan faktörlerin transferine neden olarak ishale sebep olmaktadır. Bu tablonun haricinde geniş spektrumlu antibiyotik kullanan ve dışkıdan *S. aureus* izole edilen hastalarda bağırsaklarda enterotoksin sentezine bağlı olarak nekrozis ve pseudomembranlı enterokolitis olduğu bildirilmiştir (Selçuk 1991).

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

#### **2.4 Peynirde *Staphylococcus aureus'* un Önemi**

Gıdaların hazırlanması, paketlenmesi, taşınması ve depolanmasında, çeşitli nedenlerle mikroorganizmalarla kontaminasyonu sıklıkla karşılaşılan bir durumdur. Bunun sonucunda, hem gıda maddelerinin kalitesi bozularak birtakım ekonomik kayıplar ortaya çıkmakta hem de böyle bir gıdayı tüketen kişilerde çeşitli klinik tablolar ve gıda zehirlenmeleri meydana gelebilmektedir. Süt ve mamulleri, mikroorganizmalar için iyi bir besi ortamıdır. Farklı kaynaklardan süte bulaşan mikroorganizmalar hızla çoğalabilmektedir (Demiret ve Karapınar 2000).

Özellikle pastörize edilmiş süt ve mamullerine sonradan bulaşan *S. aureus* suşlarının üremeleri ve toksin oluşturmaları daha hızlı olmaktadır. Çünkü bu mikroorganizmalarla rekabet halinde diğer mikroorganizmalar pastörizasyonla imha edilmiş, ortam bu bakterilere bırakılmıştır (Selçuk 1991).

Stafilokokun çeşitli türleri ve *S. aureus*' un birçok biyotipi, süte sütün sağıldığı hayvandan bulaşmaktadır. Özellikle mastitisli hayvanlardan sağılan sütler enteropatojenik *S. aureus* suşlarının önemli bir kaynağıdır. Bulaşmadaki temel kaynak insan ve hayvanlar olmakla beraber toprakta, deniz ve su kaynaklarında, atık sularda bitkisel ürünlerin yüzeylelerinde, toz ve havada da bulunduğundan bunlardan da bulaşma olasılığı vardır. Ayrıca çiftlikte enfekte olmuş hayvanlardan sağım ekipmanları yolu ile diğer sağlıklı hayvanlara geçiş kaçınılmazdır (Demiret ve Karapınar 2000).

Çiğ sütler, çoğunlukla penisiline dayanıklı olan toksijenik stafilokokları içinde bulundurlar ve bunların gelişmesini teşvik edici herhangi bir ortamda peynir üretildiğinde toksin meydana gelir. Diğer taraftan, peynir yapımı sırasında süt 25-30 °C' ye ısıtıldığında starter kültürdeki bakteriler faaliyete geçip, zamanında asit meydana getirmezlerse, stafilokokların toksik etki yapabilmeleri için ideal ortam hazırlanmış olur. Nem kaybının yavaş olması nedeniyle de bu etki hızlanır (Ünlütürk vd. 1991).

Pıhtılaşan sütün pH değerinin yüksek olması da stafilokokların kısa zamanda gelişmelerine neden olmaktadır. Yetersiz pastörize edilmiş süt bu açıdan tehlikelidir. Değişik peynir çeşitleri, stafilokokların gelişmesi açısından farklılık gösterir (Metin 1977).

Peynire işlenecek sütteki toksijenik stafilokokların gelişmesi ile meydana gelen gıda zehirlenmeleri, bu konunun önemini artırmaktadır. Bu amaçla yapılan bütün çalışmalar, peynir yapımında kullanılan sütün pastörize edilmesi esasına dayanmaktadır. Bu şekilde bir işlem peynirin daha yavaş olgunlaşmasına neden olur; fakat bakteriyel hatalardan kaçmayı mümkün kılar (Metin 1977).

Önceleri sütün tadını korumak amacıyla pastörizasyon normu düşük tutulmuştur. Ancak böyle bir pastörizasyonun, bütün patojenleri öldürmek için yeterli olmadığı anlaşılmıştır. Aslında, 66 °C' de 15 saniyelik bir pastörizasyon stafilokokların ölmesi için yeterli gelmektedir. Fakat garantili bir sonuca ulaşmak için genellikle 68 °C' de 15 saniye tutulması önerilmektedir. Hatta bazı ülkelerde 71 °C' de 15 saniye pastörize

edilmesi kabul edilmiştir. Bu pastörizasyon normu da *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *Brucella abortus* ve *Staphylococcus aureus*' u öldürmek için yeterlidir. Bu ısı işlem normunda *Streptococcus faecalis* canlı kalabilmektedir. *Streptococcus pyogenes* hariç olmak üzere bütün bu bakteriler, çeşitli peynirlerde değişik sürelerde faaliyetlerini sürdürebilmektedirler (Metin 1977). Sütün düşük sıcaklık ve kısa süreli pastörizasyonu, verimi artırdığı için mandıralarda benimsenmektedir.

Peynirlerden kaynaklanan stafilokok zehirlenmeleri zaman zaman görülmekte ve bu konuda yapılan çalışmalar *S. aureus*' un peynir yapım sürecinde gelişerek toksin ürettiğini göstermektedir. Peynir üretiminde süte ilave edilen starter kültürün yavaş çalışması sonucu oluşan düşük asitlik (% 0,4 veya daha düşük) bulaşan *S. aureus*' un gelişmesine ortam hazırlar. Mikroorganizmanın gelişmesi pıhtının süzülmesi sırasında da (4-5 saat veya daha fazla) devam ederek toksin üretebilecek  $10^7$  kob/g gibi sayılara ulaşabilir. Bunun yanında ortamdaki oksijen varlığı toksin oluşumunu inhibe eder. Ancak, peynirde düşük sayıda *S. aureus* saptanması toksinin bulunmadığını da göstermez. Üretim sırasında sayısı toksin üretecek düzeylere ulaşan *S. aureus* peynirde zaman içerisinde sayıca azalabilir. Stafilokok zehirlenmesinin kontrol altına alınması için yeterli ısı işlem, normal starter aktivitesinin sağlanması ve iyi bir sanitasyon programının uygulanması gerekir (Ünlütürk vd. 1991).

İnek sütünden çiğ olarak, pastörize edilerek ve pastörize süte kültür ilave edilerek yapılan bir çalışmada; salamura Beyaz peynirde olgunlaşma süresince, gıda hijyeni açısından önemli mikroorganizma sayıları saptanmıştır. Buna göre 15 günlük peynirlerde stafilokok sayıları kültür katılmamış pastörize peynirlerde 5,39 log kob/g, starter kültür katılarak yapılan peynirlerde 4,54 log kob/g ve çiğ süttten yapılan peynirlerde ise 5,90 log kob/g olarak bulunmuştur (Selçuk 1991).

Peynirde *S. aureus* üremesi ve enterotoksin üretmesinde ikinci önemli faktör, kullanılan starter kültürün aktivitesi ve miktarıdır. İnhibe edilmiş starter aktivitesi *S. aureus* üremesini 5-10 kat artırmaktadır. Çiğ süttten yapılan peynirlerde *S. aureus* üremesi ve

toksin üretimi olasılığı daha fazladır. Yapılan araştırmalarda Cheddar, Gouda, Ras, Camambert, Brick, Colby, İsveç tipi, Mozzarella ve keçi peynirlerinden enterotoksijenik *S. aureus* suşlarının izole edildiği bildirilmiştir. Mastitisli çiğ süttten yapılan Cheddar peynirinde *S. aureus'* un 98-154 gün canlılığını sürdürdüğü, İsveç tipi peynirde bu sürenin 210 günü geçtiği belirlenmiştir. Diğer bir çalışmada *S. aureus'* un İsveç tipi ve Brick peynirlerde starter kültür aktivitesine bağlı olarak toksin üretirken, Mozzarella ve Mavi tipinde üretmediği belirtilmiştir. Ayrıca İspanya' da Manchego tipi peynirlerde starter aktivitesine ve miktarına bağlı olarak toksin üretiminin değiştiği görülmüştür. Irak' da, Kanada' da, Portekiz' de, çeşitli peynirlerden izole edilen *S. aureus* peynirlerde önemli bir patojen olmayı sürdürmektedir (Demiret ve Karapınar 2000).

Türkiye' de süt ve süt ürünlerinin çoğunlukla küçük işletmelerde ve mandıralarda kontrolsüz üretimi, süt ve süt ürünleri kaynaklı enfeksiyon ve zehirlenmelerin riskini artırmaktadır. *S. aureus'* un süt ve süt ürünlerinde oldukça sık görüldüğü yapılan araştırmalarda belirlenmiştir. Ankara' da satılan pastörize sütlerde yapılan bir araştırmada örneklerin % 44' ünde 1,30 log kob/ml düzeyinin üzerinde koagülaz pozitif stafilokok görülmüştür. Uygun olmayan saklama koşulları organizmanın sayısında artışa neden olabileceğinden halk sağlığı açısından risk taşımaktadır (Demiret ve Karapınar 2000).

*S. aureus'* un peynirlerde veya diğer süt ürünlerinde düşük sayılarda olması veya hiç bulunmaması gereklidir. Ülkemizde süt ve süt ürünleri kaynaklı *S. aureus* zehirlenmelerinin ve yarattığı ekonomik ve işgücü kayıplarının engellenebilmesi için süttün sağıldığı hayvandan, işlendiği ürüne kadar her aşamanın kontrol altında tutulması ve yeterli önlemlerin alınması gereklidir (Demiret ve Karapınar 2000).

Türkiye' nin Avrupa birliğine aday ülke olarak dikkate alındığı bu aşamada; gıda ürünleri de hem uluslararası kaliteye sahip olma ve hem de insan sağlığı açısından güvenli olma özellikleri bakımından önem taşımaktadır. Sayılan bu hususların yerine getirilmesinde; kaliteli hammadde üretiminin sağlanması, starter kültür kullanımı, süttün soğuk zincirde taşınması, işletmelerde kalifiye eleman çalıştırılması ve gıda mühendisi

istihdam edilmesi, işletmelerde temizlik ve hijyen kurallarına titizlikle uyulması, her ürün için HACCP sistemi oluşturulması ve sıkı bir şekilde takip edilmesi, tüketicinin bilinçlendirilmesi ve denetleme organlarının daha iyi çalışması gerekmektedir (Coşkun ve Öztürk 2000).

Beyaz peynir üretim aşamasında kontaminasyon kaynaklarının belirlenmesi ve önleme yollarının araştırılması ile ilgili bir çalışmada; Beyaz peynir üretimindeki kritik kontrol noktalarının pastörizasyon işlemi, üretimde kullanılan cendere bezi ve branda gibi materyal ile hava ve personel olduğu belirlenmiştir (Kasımoğlu 1999).

*S. aureus*, gıdalarda istenmeyen bir bakteridir. Peynir gibi doğrudan tüketilen gıdalarda varlığı benimsenmez. Bununla birlikte üretim teknolojisi uyarınca peynirlerde düşük sayılarda bulunmasına izin verilir. Nitekim gerek TS 591 (Anonim 2006a) gerek Türk Gıda Kodeksi (Anonim 2006c), n c m M değerlerini sırası ile 5; 1;  $1,0 \times 10^1$  kob/g;  $1,0 \times 10^2$  kob/g olarak vermektedir.

## **2.5 Staphylococcus aureus Analizi**

Gıdaların mikrobiyolojik analizinde daha hızlı ve duyarlı yöntemlerin geliştirilmesi için sürekli olarak çalışılmaktadır. Duyarlılığın artırılmasında refakatçi floranın en fazla düzeyde inhibe edilmesi hedef alınırken hedef bakterinin bu uygulamadan zarar görmemesi bir anlamda zorunludur. Buna göre refakatçi flora inhibisyonu yanında hedef mikroorganizmanın çeşitli kromojenik ya da florojenik substratlar ile belirlenmesi yoluna gidilmektedir (Baron *et al.* 1995, Anonim 2005).

### **2.5.1 Sayım**

*S. aureus* sayımında kullanılan standart yöntem Baird-Parker Agar besiyeri kullanılmasıdır (Anonim 2001a). Ekim yöntemi olarak yayma kültür yöntemi benimsenir. Bununla birlikte, çoğu uygulamada ve özellikle katı gıdadan yapılan  $10^{-1}$

seyreltiden alınan 1 mL çözeltilinin 3 adet standart boy Petri kutusuna eşit olarak dağıtılması ya da 14 cm çaplı büyük boy Petri kutusuna doğrudan bu 1 mL' nin yayılması önerilmektedir. Böylece 10 kob/g düzeyindeki düşük bakteri varlığı dahi belirlenebilmektedir (Duncan *et al.* 2004, Laird *et al.* 2004, Anonim 2006d).

Analiz edilecek gıdada *S. aureus* sayısı bu değerden daha da düşük ise, EMS yönteminin kullanılması önerilmektedir. Bu yöntemde önce Giolitti-Cantoni Broth besiyerine ekim ve inkübasyon sonrasında tüplerden Baird-Parker Agar besiyerine sürme yapılarak pozitif tüplerin doğrulanması yapılır (Anonim 2006d). Uygun gıdalarda membran filtrasyon yöntemi ile de *S. aureus* analizi yapılabilir (Tükel ve Doğan 2000).

Gıdada var/yok testleri için Uluslararası Sütçülük Federasyonu (IDF; International Dairy Federation) ile Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO) ve buna bağlı olarak Türk Standartları Enstitüsü de Giolitti-Cantoni Broth ve Baird-Parker Agar kombinasyonu kullanılmasını önermektedir (Anonim 2004, Anonim 2006d).

### **2.5.2 Kullanılan Besiyerleri**

*S. aureus* analizi için kullanılan çok sayıda selektif besiyeri geliştirilmiştir. Bu bakterinin yüksek tuz konsantrasyonuna dayanıklı olması, lityum klorür ve tellurite direnç göstermesi refakatçi florayı baskılamak için kullanılırken, telluriti telluriyuma indirgeyerek siyahlaşma yapması sıvı ve katı besiyerlerinde ayırt edici özellik sağlamaktadır (Atlas 1996, Anonim 2005).

En yaygın kullanılan sıvı besiyeri Giolitti-Cantoni Broth' tur. Baird (Staphylococcus Enrichment) Broth zenginleştirme ya da EMS yönteminde kullanılmaktadır.

Baird-Parker Agar, katı besiyeri olarak pek çok uluslararası standarda girmiştir. Buna ilaveten Chapman Agar (Staphylococcus Medium 110), Mannitol Salt Agar (Mannitol Salt Phenol Red Agar) ve Vogel-Johnson Agar da kullanılmaktadır (Anonim 2005). Son

zamanlarda Baird-Parker Agar besiyerinde yumurta sarısı yerine tavşan fibrinojeni kullanılarak doğrudan koagülaz belirlenmesi yoluna gidilmektedir (Anonim 2001b).

Peynirlerde *S. aureus* sayımı üzerinde yapılan bir araştırmada 12 farklı selektif besiyeri kullanılmış, genel olarak Staphylococcus Medium 110 ve Mannitol Salt Agar besiyerleri Baird-Parker Agar' a üstün bulunmuştur. İlginç olarak, olgunlaşmanın farklı aşamalarında farklı besiyerlerinin üstünlüğü görülmüştür. Ayrıca suş farklılıklarının da önemli olabildiği gösterilmiştir (Stiles 1977).

Bir başka çalışmada 80 adet koagülaz pozitif enterotoksijenik *S. aureus* ile çalışılmış ve Calf-blood Agar, Baird-Parker Agar, Carter Agar, Vogel-Johnson Agar, Mannitol-salt Agar ve Staphylococcus Medium 110 arasında, izolatların en yüksek olarak Baird-Parker Agar besiyerinde geri alındığı saptanmıştır (Niskanen and Aalto 1978).

Aşağıda sadece bu çalışmada kullanılan Baird-Parker Agar, Mannitol Salt Agar ve Giolitti-Cantoni Broth hakkında kısaca bilgi verilmiştir.

**Baird-Parker Agar:** Bu besiyeri, refakatçi floranın inhibisyonu için lityum klorür ve tellurit içerirken besiyeri bileşimindeki piruvat ve glisin stafilokokların gelişimini selektif bir şekilde stimüle eder. Analiz edilecek örnekte *Proteus* kontaminasyonunun yüksek düzeyde olduğundan endişe ediliyor ise otoklav sonrası 50 mg/L konsantrasyonda olacak şekilde filtre ile sterilize edilmiş sulfametazin ilavesi önerilmektedir. *S. aureus* kolonileri lipoliz ve proteoliz sonucunda koloni etrafında tipik zon ve halka oluşturmaları, telluritin telluriyuma indirgenmesi sonucunda siyah koloni oluşturmaları olmak üzere 2 tipik karakteristik özellik ile belirlenirler. 37 °C' da 24 saat inkübasyon sonunda *S. aureus* 1-1,5 mm çapında siyah, parlak konveks koloniler oluşturur. Koloni çapı 48 saat inkübasyondan sonra 1,5-2,5 mm olur. Yumurta sarısı reaksiyonu ve tellurit indirgenmesi genellikle pozitif koagülaz reaksiyonu ile beraberce oluşur. Baird Parker Agar besiyerinde yumurta sarısı yerine kan plazması ilavesi ile hemoliz testi de yapılabilir. İnsan kaynaklı *S. aureus* α-hemoliz yaparken sığır kaynaklı olanlar β-hemoliz yaparlar. Hemoliz reaksiyonu besiyerinin 37 °C' da 24 veya 48 saat

inkübasyonu ve sonra oda sıcaklığında veya tercihen buzdolabında 1 gece bırakılması ile daha kesin olarak saptanır (Anonim 2006d).

Giolitti-Cantoni Broth: Besiyeri bileşimindeki piruvat, glisin ve yüksek konsantrasyondaki mannitol stafilokokların gelişimini teşvik ederken refakatçi florada bulunan Gram negatifler lityum klorür, Gram pozitifler ise tellurit ile baskılanır. Mikrokokların baskılanması ise kısmen anaerobik inkübasyon ile sağlanır. Stafilokokların gelişimi besiyerindeki telluritin metalik telluriyuma indirgenmesi sonunda oluşan siyah renk ile belirlenir. Giolitti-Cantoni Broth besiyeri gıdalarda EMS yöntemi ile *S. aureus* sayımı veya analiz edilen gıdanın belirli bir miktarında (hacim veya ağırlık) *S. aureus*' un var/yok testi için kullanılır. Siyahlaşma olan tüplerden Baird-Parker Agar besiyerine sürme yapılarak sonuçlar doğrulanır. ISO tarafından EMS yöntemiyle düşük sayıdaki stafilokokların belirlenmesinde kullanılması önerilen besiyeridir (Anonim 2006d).

Mannitol Salt Agar: Chapman Agar (Staphylococcus Medium 110)' un modifikasyonudur. Besiyeri bileşimindeki yüksek tuz konsantrasyonu refakatçi floranın gelişimini baskılar. Mannitol, *S. aureus*' un gelişimini desteklerken, aynı zamanda koloni etrafında fenol red ile belirlenen sarı zon oluşumunu sağlar. Mannitol pozitif *S. aureus* sarı parlak zonlu koloni oluşturur, mannitol negatif *S. epidermidis* ve diğerlerinde renk değişimi gözlenmez ve zayıf gelişme görülür (Anonim 2006d).

### **2.5.3 Doğrulama**

*S. aureus* suşları selektif besiyerlerinde tipik koloniler oluşturur. Günlük uygulamada kolonilerin doğrulanması genellikle gerekli değildir. Şüpheli durumlarda doğrulama yapılmasının gerekliliği yanında rutin analiz yapan laboratuvarlarda da belirli sıklıklarla doğrulama yapılması önerilir.

Doğrulama için kullanılan en yaygın yöntem koagülaz testidir. Koagülaz, kan plazmasını koagüle eden bir enzimdir. *S. aureus* tarafından oluşturulan koagülaz ve



enterik toksin arasında yakın bir ilişki vardır. Buna göre koagülaz pozitif *S. aureus*' un toksin oluşturma yeteneğinde olduğu kabul edilir. İzolatın, Brain-Heart Broth kültürü yapılır, 0,3 mL tavşan plazması olan tüpe 0,1 mL kültür ilave edilip 37 °C' da inkübasyona bırakılır. Her saat tüpte pıhtılaşma olup olmadığı tüpü yavaşça eğerek kontrol edilir ancak bu kontrol sırasında tüpün fazla eğilmemesine ve karıştırılmamasına özen gösterilmelidir. Tüpte belirgin pıhtı oluşumu (% 75 pıhtı) pozitif olarak değerlendirilir. Pozitif sonuç genellikle 4-6 saat arasında alınır, negatif sonuçlarda inkübasyona 24 saat süre ile devam edilmelidir (Reginald *et al.* 2001, Anonim 2006d).

Koagülaz testi tüpte bu şekilde yapılabileceği gibi lateks testi olarak da uygulanabilir. Ayrıca Baird-Parker Agar besiyerine yumurta sarısı yerine doğrudan tavşan plazması katılarak da koagülaz testi yapılabilmektedir. *S. aureus*' un bazı suşlarının zayıf koagülaz oluşturma nedeni ile tipik olduğu halde negatif koagülaz sonucu veren izolatlara lisostafin duyarlılık testi, hemolizin üretimi, sıcaklığa dayanıklı (termostabil) nükleaz ve mannitolden asit oluşturma gibi başka testler de uygulanması önerilmektedir (Reginald *et al.* 2001, Anonim 2005).

## **2.6 *S. aureus* Tanımlanması**

Koagülaz testi ile izolatın *S. aureus* olup olmadığı belirlenebilir. Ancak izolat, *S. aureus* değilse ne olduğu hakkında bir bilgi vermez. Ayrıca koagülaz negatif *S. aureus* suşları olduğuna da yukarıda değinilmiştir.

İkinci olarak, selektif bir besiyerinden elde edilen tipik bir koloninin *S. aureus* olmama ve tipik olmayan koloninin *S. aureus* olma şansı da vardır.

Tipik ya da atipik bir koloninin tanımlanması için genetik ve immünolojik esaslı yöntemler giderek yaygınlaşmaktadır. Bununla birlikte, klasik kültürel yöntemlerin bir süre daha kullanılacağı açıktır.

Aşağıda *S. aureus*' un klasik yöntemlerle tanımlanması hakkında kısaca bilgi verilmiştir.

### 2.6.1 Morfolojik ve fizyolojik özellikleri

Stafilokoklar, Micrococcaceae familyasında yer alırlar. Morfolojik olarak oval ve yuvarlak şekilli olan stafilokoklar, kümeler şeklinde bir araya gelmiş, 0,5-1,5 µm çapında bakterilerdir. Micrococcaceae familyasında *Staphylococcus* türü dışında *Micrococcus*, *Stomatococcus* ve *Planococcus* türleri de bulunmaktadır (Yüce 1992). 2006 yılındaki sınıflandırma ise bundan oldukça farklıdır. Buna göre Micrococcaceae familyasındaki türler *Acaricomes*, *Arthrobacter*, *Citricoccus*, *Kocuria*, *Micrococcus*, *Nesterenkonia*, *Pelczaria*, *Renibacterium*, *Rothia* ve *Stomatococcus* şeklindedir ve bunlardan *Pelczaria* cinsi henüz kesinleşmemiştir. *Staphylococcus* ise *Staphylococceae* (syn. *Staphylococcaceae*) familyasında yer almaktadır (Euzéby 2006).

Stafilokoklar katı besiyerinde 1-2 mm çapında yuvarlak, düzgün, beyazdan limon sarısına kadar değişen pigmentli koloniler oluştururlar. Pigment oluşumu en iyi 20 °C' de gözlenmektedir. Yeni kolonilerde pigment oluşumu hemen hemen yokken eskidikçe lipokrom renge dönüşür. *S. aureus*, altın sarısı renkte koloni yapar. Anaerobik ortamda pigment oluşumu görülmemektedir (Yüce 1992).

Patojen stafilokoklar kanlı agarda hemoliz yaparak  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$  kolonileri oluşturmaktadır. Bunun yanı sıra patojen stafilokoklar Mac-Conkey Agarda pembemsi-sarı, patojen olmayanlar ise, kırmızı-menekşe renk oluştururlar. Sıvı besiyerlerinde bulanıklık ve çöküntü yaparak çoğalırlar. Katı besiyerlerinde aerob ve anaerob ortamlarda kolayca üreyebilirler. Gram pozitif olan stafilokoklar eski kültürlerde Gram negatif özellik verirler (Reginald *et al.* 2001, Yüce 1992).

*S. aureus*, stafilokokların genel özelliklerini göstermektedir. Bu özelliklere ilave olarak *S. aureus*, koagülaz pozitif, katalaz pozitif, termonükleaz pozitif, fakültatif anaerob,

sporsuz, hareketsiz, bazı suşları yalancı kapsül oluşturabilen mikroorganizmalardır (Beckers 1988, Yüce 1992).

Bu mikroorganizmalar koagülaz, hyaluronidaz, stafilokinaz, jelatinaz, nükleaz, proteaz, lipaz, lesitinaz, fosfataz, lizozim, penisilinaz gibi enzimler salgılamaktadırlar. Bunlardan hyaluronidaz; etkenin patojenitesini arttırmakta, lipaz; etkenin yağ dokulara yerleşmesini sağlamakta, penisilinaz; penisiline karşı dirençliliği arttırmaktadır (Yüce 1992).

Koagülaz pozitif olan *Staphylococcus* türleri; *S. aureus*, *S. delphini*, *S. schleiferi*, *S. coagulans*, *S. hyicus* ve *S. intermedius*' tur. Dolayısı ile sadece koagülaz testi ile *S. aureus*' un tanımlanması mümkün değildir. Stafilokoagülaz, Clumping factor ve asetoin (VP) testleri beraberce yapılarak *S. aureus*, diğer 5 türden ayrılabilir. Sadece *S. aureus* bu 3 testte pozitif sonuç vererek diğer türlerden açıkça ayrılmaktadır (Roberson *et al.* 1992, Tunail 2000).

Enterotoksin oluşturan stafilokoklar, yüksek oranda koagülaz pozitifdir ve bu da identifikasyonlarında oldukça önemlidir. Enterotoksin oluşturan *S. aureus* suşlarının hemen hepsinin koagülaz pozitif olduğu belirlenmiştir. *S. aureus* suşlarında lesitinaz aktivitesi yüksektir. Besiyerine yumurta sarısı katıldığında suşların ürettikleri lesitinaz, yumurta sarısındaki lesitini hidrolize ederek koloni etrafında parlak bir zon oluşturarak tanımlamayı kolaylaştırır. *S. aureus*' lar termonükleaz pozitifler ve sıcaklığa karşı dayanıklı termonükleaz salgırlar. Ortamda termonükleaz varlığı *S. aureus*' un  $10^5$  kob/g sayısına ulaştığının göstergesi olarak kabul edilir (Beckers 1988).

### **2.6.2 Biyokimyasal özellikleri**

*S. aureus*; büyük koloni oluşturmaları, pigmentli koloni oluşumu, anaerobik gelişme, stafilokoagülaz, clumping factor, ısıya dayanıklı nükleaz, hemolisin, katalaz, alkalın fosfataz,  $\beta$ -glucosidase, arjinin hidrolizi, Voges-Proskauer (asetoin oluşturma), nitrat indirgemesi testlerinde pozitif, oksidaz, arginine arylamidase, pyrrolidonyl arylamidase,

ornithine decarboxylase,  $\beta$ -glucuronidase,  $\beta$ -galactosidase, esculin hidrolizi testlerinde negatif sonuç verir. Novobiosine duyarlı, polimiksine dirençlidir. Karbohidratlardan D-trehaloz, D-mannitol, D-mannoz, D-turanoz, maltoz, laktoz ve sakkarozu kullanır, D-ksiloz, D-sellobiyoz, L-arabinoz ve rafinozu kullanamaz (Bannerman and Kloos 1995).

*Staphylococcus* cinsinin Bergey's Manual of Determinative Bacteriology adlı kaynakta (Anonymous 1994) yer alan 36 türünün çeşitli özellikleri Ek 1' de toplu olarak verilmiştir.

### **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1 Materyal**

##### **3.1.1 Peynir**

Araştırmada, Ankara piyasasından sağlanan 40 adet Beyaz peynir materyal olarak kullanılmıştır. Peynirler, stafilokok çıkma olasılığının daha yüksek olduğu açık semt pazarlarından ya da marketlerde ambalajsız olarak pazarlananlardan seçilmiştir.

##### **3.1.2 Referans bakteri**

Çalışmada referans bakteri olarak kullanılan *S. aureus*, Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarı kültür koleksiyonundan sağlanmıştır.

##### **3.1.3 Besiyerleri ve seyreltme sıvıları**

Denemelerde kullanılan besiyerleri Baird Parker Agar (BPA), Mannitol Salt Agar (MSA) ve Giolitti Cantoni Broth (GCB)' tur. Peynir örneklerinde seyreltme sıvısı olarak Maximum Recovery Diluent (MRD) kullanılmıştır.

##### **3.1.4 İdentifikasyon testleri**

Bu çalışmada kullanılmak üzere 7 grup test seçilmiştir. Basit boyama, Oksidaz testi, MR-VP Broth besiyerinde Voges Proskauer testi, Karbohidrat fermantasyon testleri, Koagülaz testi, DNase Agar besiyerinde DNase testi ve Enterokok testidir. Enterokok

testi, izolatın Enterococci Broth besiyerinde renk değiştirmesine göre enterokok olup olmadığının araştırılmasıdır.

## 3.2 Yöntem

### 3.2.1 Örneklerde *S. aureus* sayımı

Analizlerde, peynir örnekleri önce steril rendeden geçirilerek rendelenmiş, bundan 10 g tartılmış ve seyreltme sıvısı olarak 90 mL MRD içine koyulmuştur. Örnekler, içinde manyetik taş bulunan seyreltme sıvılarına tartıldıktan sonra 90 sn süreyle manyetik karıştırıcıda karıştırılmış ve homojenizasyonları sağlanmıştır.  $10^{-1}$  olan bu çözeltiden standart yöntemle  $10^{-2}$  ve  $10^{-3}$  seyreltmeler yapılmış, her 3 besiyerine de bu seyreltilerden ekim yapılıp, 37 °C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ekimlerde; katı besiyerlerinde yayma kültürel yöntem uygulanmış, bu amaçla  $10^{-1}$  seyreltiden 14 cm çaplı büyük Petri kutularına 1' er mL, aynı seyreltiden standart boy Petri kutularına 0,1 mL, ardışık seyreltilerden de yine standart boy Petri kutularına 0,1 mL aktarılıp yayılmıştır. GCB besiyerine ardışık 3 seyreltiden 3' er tüpe 1' er mL ekim yapılmıştır.

Bu sürenin sonunda katı besiyerlerinde doğrudan sayım yapılırken, GCB' de üreme görülen bütün tüplerden BPA besiyerine sürme yapılmış ve bu Petri kutuları da 37 °C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda tipik *S. aureus* kolonisi görülen Petri kutularına ekim yapılan tüpler pozitif olarak değerlendirilmif ve standart EMS tablosundan yararlanılarak sonuçlar hesaplanmış ve log EMS/g olarak verilmiştir (Anonim 2006d).

BPA besiyerinde oluşan siyah renkli ve etrafında berrak zon olan koloniler, MSA besiyerinde sarı parlak zonlu koloniler *S. aureus* olarak sayılmıştır. Sayım sonuçları ardışık seyreltilerde standart olarak ağırlıklı ortalama ile hesaplanmıştır ve sonuçlar "log kob/g" olarak verilmiştir (Anonim 2006d).

### 3.2.2 İzolasyon

Sayım işlemi sırasında katı besiyerlerinden tipik ve atipik bakteri kolonileri izole edilmiştir. İzolatlar, yatkı Tryptic Soy (CASO) Agar besiyerine sürme yapılarak +4 °C' de buzdolabı sıcaklığında stok kültüre alınmıştır, identifikasyon testlerine başlamadan önce kültürler Tryptic Soy (CASO) Broth zenginleştirme besiyerinde aktive edilmiştir.

### 3.2.3 Tanımlama

İzolatların tanımlanmasında morfolojik özellikler yanında fizyolojik ve biyokimyasal testler de uygulanmıştır. Bunların seçiminde aşağıdaki yol izlenmiştir:

-Ek 1' deki testlerin tümü bir anda uygulanabilir. Ancak bu yöntemde gereksiz pek çok test uygulanmış olacaktır. Bu uygulamada tanımlama süresi en kısadır.

-Ek 1' deki testler diktomik anahtar ile çözümlenebilir. Buna göre temel testlerde hangi türlerin somut olarak pozitif ya da negatif verdiği saptanır, bir test uygulanır, sonra test sonucuna göre ikinci, bunun sonucuna göre üçüncü .... teste geçilir. Bu yöntemde en az sayıda test kullanılacağı açık olmakla beraber tanımlama süresinin çok uzun olacağı açıktır. Örneğin; bu çizelgedeki testlere bakıldığında *S. saccharolyticus* ve *S. aureus* subsp. *anaerobius* katalaz negatif, diğer bütün türler katalaz pozitifdir. Buna göre katalaz testi ile bu 2 tür ayrılabilir. Katalaz negatif sonuç alındığında Stafiloagülaz testi ile bu 2 tür ayrılabilir. Katalaz pozitif sonuçta ise oksidaz testi ile *S. sciuri*, *S. lentus*, *S. vitulus* ve *S. caseolyticus* ayrılabilir. Bu 4 tür oksidaz negatifdir.

Tanımlama testlerinin bu şekilde seçilmesinde, Halkman ve Doğan (1997) tarafından Enterobacteriaceae üyelerinin tanımlanmasında geliştirilen yöntem uygulanmıştır.

Tüm izolatlara önce basit boyama uygulanmış mikroskopik görüntülerine göre biyokimyasal testlere geçilmiştir. Buna göre; Stafiloagülaz, ısıya dayanıklı nükleaz, oksidaz, Voges Proskauer, D-trehaloz, D-mannitol, D-mannoz, D-ksiloz, L-arabinoz, maltoz, laktoz, sakkaroz, rafinoz ve enterokok testlerinden bir ya da daha fazlası standart yöntemlerle uygulanmıştır (MacFaddin 2000). Enterokok testi, doğrudan

Chromocult Enterococci Broth besiyerinde inkübasyon sonrası yeşil renk oluşup oluşmadığının gözlenmesi ile yapılmıştır (Anonim 2006d).

### **3.2.4 İstatistik analizler**

Sayım sonucunda elde edilen veriler "Anova tek yollu varyans tekniği çözümlemesi" yöntemi ile analiz edilmiştir.



## 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

### 4.1 Sayım Sonuçları

Beyaz peynirlerde (n=40) *S. aureus* sayımında kullanılan 3 selektif besiyerinden elde edilen sayım sonuçları Çizelge 4.1' de verilmiştir.

Çizelge 4.1 BPA, MSA ve GCB Besiyerlerinde elde edilen *S. aureus* sayıları (log kob/g ve log EMS/g)

Örnek	BPA	MSA	GCB	Örnek	BPA	MSA	GCB
01	7,32	5,00	>3,04	21	5,85	2,54	1,63
02	3,59	4,42	1,87	22	3,02	2,39	1,63
03	5,45	3,13	3,38	23	6,07	3,81	3,04
04	3,33	3,00	3,32	24	5,43	4,84	3,17
05	6,09	3,82	0,96	25	6,90	6,09	3,66
06	6,08	3,24	0,96	26	3,02	2,65	1,80
07	7,00	5,35	>3,04	27	<1,00	1,70	1,63
08	2,54	1,70	<0,47	28	4,92	3,37	1,87
09	6,99	5,53	>3,04	29	7,16	5,53	>3,04
10	4,80	2,65	1,96	30	3,69	3,07	2,17
11	3,69	<2,00	>3,04	31	2,65	2,39	1,63
12	3,13	2,47	1,63	32	6,13	3,00	2,46
13	4,99	4,47	>3,04	33	2,97	2,87	>3,04
14	3,48	2,95	<0,47	34	3,26	3,04	3,04
15	5,66	4,11	1,46	35	5,81	3,00	>3,04
16	5,70	4,17	3,04	36	<1,00	2,00	1,63
17	2,39	<1,00	1,63	37	<1,00	<1,00	0,96
18	<1,00	<1,00	0,96	38	3,84	2,81	1,36
19	2,95	2,17	2,38	39	4,23	4,37	2,04
20	<1,00	<1,00	<0,47	40	3,71	2,77	2,66

Toplam 40 peynir örneğinde BPA, MSA ve GCB besiyerleri kullanılarak yapılan sayım sonuçlarına göre, Türk Gıda Kodeksinde (Anonim 2006c) Beyaz peynir için belirtilen m değeri dikkate alındığında (10 kob/g) peynirlerin sırasıyla % 87,5, % 90,0 ve % 85,0' inin ve M değeri dikkate alındığında ise (100 kob/g) % 87,5; % 80,0 ve % 50' sinin kodekste izin verilen sınırların dışında olduğu bulunmuştur. Burada, GCB sonuçlarının

log EMS/g olarak verilmiş olduğu bilinmektedir. Besiyerleri arasındaki farklar aşağıda ayrıca tartışılacaktır.

Materyal ve yöntem bölümünde de belirtildiği gibi, stafilocok çıkma olasılığı yüksek olan açık peynirler analize alındığından bu çalışmadaki bulgular genel olarak Türkiye ya da daha dar olmak üzere Ankara' da satılan Beyaz peynirleri temsil etmemektedir. Dolayısı ile buradaki veriler sadece açık semt pazarlarında ya da marketlerde ambalajsız olarak satılan Beyaz peynirlere ilişkin sonuçları göstermektedir. Buna bağlı olarak Türkiye' de yapılmış olan benzeri çalışmalarla kimi yerde benzerlik varken, kimi yerde sonuçlar arasında çelişki görülmektedir.

Bir çalışmada 25 adedi Beyaz peynir olmak üzere toplam 140 adet süt ürünüde Baird-Parker Agar besiyeri kullanılarak koagülaz pozitif stafilocok varlığı araştırılmış ve örneklerin % 18,6' sında bu bakteri saptanmıştır (Baştepe 1977). Yine Beyaz peynirlerle yapılan bir çalışmada 60 adet örneğin tam olarak 1/3' ünde koagülaz pozitif stafilocok belirlenmiştir. Bu çalışmada da Baird-Parker Agar temel besiyeri olarak kullanılmıştır (Aşkın 1983).

Bir başka çalışmada analizi yapılan 40 peynirden 3' ünde (% 7,5) BPA sonuçlarına göre *S. aureus* sayısı 7 log kob/g ve üzerinde bulunmuştur. Bu sonuç, gıda güvenliği açısından oldukça dikkat çekicidir ve toksin oluşması bu düzeydeki kontaminasyonda beklenebilir (Ünlütürk vd. 1991).

İzmir' in çeşitli semtlerinde satılan çiğ sütlerde total bakteri, stafilocok sayımı ve tiplendirilmesi yapılan bir çalışmada 30 örnekte total bakteri sayımları 5,74 log kob/g ile 8,69 log kob/g arasında bulunmuştur. Toplam 30 örneğin 27' sinde (% 90,0) stafilocok üremesi saptanmış ve bu 27 örneğin 3' ünde (% 11,1) *S. aureus*, 24' ünde (% 88,9) *S. epidermidis* olduğu gösterilmiştir (Çağlarırnak vd. 1996).

Ankara piyasasından sağlanan Civil peynirleri ile yapılan bir araştırmada analiz edilen peynirlerin mikrobiyel kalitesi oldukça dűřuk olarak değerlendirilmesine rağmen, stafilokoklar saptanabilir sınırın altında (<100 kob/g) bulunmuştur (Polat 2000).

Van' da kahvaltı salonlarında tűketime sunulan sűt őrűnlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal kaliteleri űzerine yapılan bir arařtırmada, kahvaltı salonlarından alınan 10' ar adet Beyaz peynir, otlu peynir, tereyađı, kaymak ve cacık olmak űzere toplam 50 adet őrnek mikrobiyolojik ve kimyasal yűnden incelenmiřtir. Beyaz peynir őrneklerinden 2' sinin *S. aureus*, 2' sinin koliform grubu bakteri, tamamının maya-kűf sayısı bakımından Tűrk Standartları' na uymadıđı belirlenmiřtir. Bu arařtırmada incelenen őrneklerin analiz sonuřları ile diđer arařtırmacıların bildirdiđi deđerler arasındaki farklılıkların incelenen őrneklerin őrretim ve muhafaza řartlarının ve arařtırmalarda uygulanan metotların farklı olmasından kaynaklanmış olabileceđi belirtilmiřtir. Van' daki kahvaltı salonlarından alınan őrneklerin hijyenik kalitesi yetersiz ve űnemli bir kısmı ilgili tűzűk ve standartlara uymamakla birlikte, arařtırmada elde edilen analiz sonuřları diđer arařtırmacıların sonuřları ile bűyűk benzerlik gűstermektedir. Hijyenik kalitenin yetersiz olması; őrretimde hijyenik ve kimyasal nitelikleri uygun olmayan hammadde kullanılmasından, bununla birlikte őrretim, muhafaza ve pazarlama iřlemlerinin uygun řekilde yapılmamasından kaynaklandıđı savunulmuřtur (Sađun vd. 2001).

Konya ve yűresinde tűketime sunulan salamura Beyaz peynirlerin kalitesi ile ilgili bir arařtırmada aerobik mezofilik mikroorganizma, koliform bakteriler, *Staphylococcus* spp., *Lactobacillus* spp., maya ve kűf sayıları sırasıyla  $1,60 \times 10^8$  kob/g,  $1,75 \times 10^5$  kob/ g,  $1,69 \times 10^3$  kob/g,  $2,68 \times 10^7$  kob/ g ve  $2,46 \times 10^5$  kob/g olarak belirlenmiř, peynirlerin koliform bakteri, maya ve kűf yűnűnden sırasıyla % 60 ve % 66,66' sının, Beyaz Peynir standardı' na uymadıđı belirtilmiř, sonuř olarak, Konya ve yűresindeki salamura Beyaz peynir őrretiminde standart bir tekniđin kullanılmadıđı ve/veya őrretimi ve tűketime sunulmaları sırasında etkin kalite kontrollerinin yapılmadıđı sonucuna varılmıřtır (Altın ve Tekinřen 2002).

Bir başka çalışmada, en fazla *S. aureus* içeren 12 örnek seçilerek *S. aureus* A, B, C, D enterotoksinleri aranmış, örneklerde herhangi bir toksine rastlanılmamıştır. Çalışmada, *S. aureus* düzeyleri peynir örneklerinde  $<1,0 \times 10^2 - 1,0 \times 10^3$  kob/g, çeşitli et ve kıyım örneklerinde  $<1,0 \times 10^2 - 3,0 \times 10^6$  kob/g ve kremalı pasta örneklerinde  $<1,0 \times 10^2 - 4,8 \times 10^5$  kob/g arasında bulunmuştur. İncelenen 45 gıda örneğinden 38 adedinde (% 84) *S. aureus*' a ve 27 örnekte de (% 60) atipik *S. aureus*' a rastlanmıştır (Bilge ve Karaboz 2005).

Bu çalışmada 3 besiyerinden elde edilen *S. aureus* sayıları arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmuştur. Farklılık, GCB besiyerinden elde edilen sayım sonuçlarından kaynaklanmaktadır ve bu besiyerinde elde edilen sonuçlar agarlı besiyerlerine göre daha düşüktür ( $P < 0,05$ ). Ek 2' de istatistik analiz sonuçları verilmiştir. BPA ile MSA arasında istatistiksel açıdan fark olmadığı görülmüştür.

EMS yöntemi ile yapılan analizlerde elde edilen sonuçların, aynı materyalde katı besiyeri kullanılarak elde edilenler ile benzer olması beklenirse de tersine olarak elde edilen sonuçlara rastlanmaktadır (Halkman vd. 1994). Ayrıca EMS yönteminin gerek kendi içinde gerek katı besiyerleri ile yapılan kıyaslamalarında farklı sonuçlar alınabileceği uyarılmaktadır (Gürgün ve Halkman 1988).

Bir yaklaşıma göre, EMS yöntemi, rutin gıda kontrolünde değil, özellikle katı besiyerinde sağlıklı sonuç alınamayacak kadar düşük sayıda mikroorganizma olan örneklerde ve katı besiyerinde zor gelişen mikroorganizmaların sayımında kullanılmalıdır. Buna göre peynir gibi bir katı gıdada *S. aureus* sayımı için 10 ve hatta 100 kob/g limitlerinin katı besiyerinde sağlıklı bir şekilde elde edilmesi teorik olarak mümkün değildir. Dolayısı ile 100 kob/g limit verilen bir katı gıdada analize  $10^{-1}$  seyrelti ile başlanacağına göre dökme yöntemi ya da büyük Petri kutusuna 1 mL yayma uygulamasında elde edilecek 10 kob/g değeri güvenilir olmayacaktır. Türk Gıda Kodeksinde Beyaz peynir için verilen "m" değerinin 10 kob/g olduğu dikkate alındığında analizin zaten EMS yöntemi ile yapılması zorunluluğu ortaya çıkar (Anonim 2006d).



7,5 tuzlu Brain Heart Infusion (BHIS), Baird Parker Medium (LBP) ve Giolitti Cantoni Medium)' un gıdada *S. aureus* aranmasındaki uygunlukları araştırılmış, canlı ve ısıdan etkilenen *S. aureus* hücrelerinin geri alma oranları, besiyerlerinin istenmeyen mikroorganizmalara karşı selektivitesi, rutin analizlerde uygulanabilirliği değerlendirilmiştir. Bu çalışmada kullanılan mikroorganizmalar; canlı ve ısıdan zarar gören *S. aureus*, *S. aureus* olmayan stafilkoklar, *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp., *Bacillus* spp.' dir. Canlı *S. aureus* suşlarının kullanımında 3 katı besiyerinde önemli farklılıklar gözlemlenememiştir. Diğer taraftan ısıdan zarar gören *S. aureus* suşları incelendiğinde BPA ile BP ve BPP' den dikkate değer derecede düşük sonuçlar alınmıştır. LBP ve GC' nin selektifliği koagülaz negatif stafilkok ve Gram negatif mikroorganizmalar için nispeten zayıf bulunmuştur. LBP ve BPA besiyerleri, kurutulmuş süt ürünlerinde ısıdan zarar görmüş *S. aureus*' ların sayımında diğer besiyerlerinden daha iyi sonuçlar vermiştir (Becker *et al.* 1983).

Bu araştırmada BPA ve MSA besiyerlerine göre GCB besiyerindeki sayım sonuçları daha düşük düzeyde bulunmuştur. Bazı kaynaklarda GCB besiyeri ile yapılan analizlerin düşük sayıdaki mikroorganizma varlığını tespit etmek için yapılması önerilmektedir, fakat yapılan bu çalışmada GCB besiyerindeki sayım sonuçları MSA ve BPA' a göre daha düşük düzeyde bulunmuştur. Bunun nedeni olarak; yukarıda verilen literatür bilgisindeki gibi ısıdan zarar gören *S. aureus* suşlarının GCB besiyerinde yeterli gelişimi gösterememesi düşünülebilirse de sütün pastörizasyon işlemi sırasında ısıdan zarar gören bakterilerin Beyaz peynirlerin analiz edilinceye kadar geçen sürede bu zararı giderebilecekleri beklenir.

Gıdalarda istenmeyen mikroorganizmaların analizinde kullanılan pek çok besiyeri vardır. Bu çalışmanın amacı, Beyaz peynirlerde hangi besiyerinin daha uygun olduğunu saptamaktır. Standart analizde kullanılan BPA besiyeri, bu çalışmada elde edilen bulgulara göre tatmin edici sonuçlar vermiştir. Buradaki değerlendirme, sayım sonuçlarından değil, sadece koloni morfolojisine göre sayımın daha kolay olması, refakatçi floranın daha belirgin olarak fark edilmesi gibi değerlendirme üzerine yapılmaktadır.

## 4.2 İzolatların Tanımlanması

Beyaz peynir örneklerinden BPA ve MSA katı besiyerinde sayım için yapılan ekimlerde bu besiyerlerinden izole edilmiş olan izolatların tanımlama sonucu toplu olarak Çizelge 4.2. 'de verilmiştir.

Bu çalışmada izole edilen toplam 99 izolatın 91 adedi tatmin edici ayrıntı ile tanımlanmış, 8 adedi ise cins bazında dahi tanımlanamamıştır.

Materyal ve Yöntem bölümünde de açıklandığı şekilde, tipik *S. aureus* kolonileri yanında özellikle tipik olmayan ancak *S. aureus*' a benzeyen koloniler ile *S. aureus* olmadığı çok belirgin koloniler de izole edilmiştir. Bu uygulamanın amacı, *S. aureus* analizinde kullanılan katı besiyerlerinde hangi mikroorganizmaların gelişebildiğinin belirlenebilmesidir.

Özellikle *S. aureus*' a benzeyen ve *S. aureus* olmadığı belirgin olan izolatlara önce basit boyama yapılmıştır. Gram boyama yerine basit boyama yapmanın amacı, Gram negatif bakteri gelişiminin zaten söz konusu besiyerlerindeki selektif inhibitörler ile engellendiği ve mikroskopik morfoloji incelemesinin basit boyama ile daha sağlıklı yapılmasıdır (Halkman ve Tunail 2000).

Buna göre mikroskopik inceleme sonucuna göre çubuk bakteri ve maya morfolojisinde olan tüm izolatlar, başka bir test uygulanmaya gerek görülmeksizin basil ve maya olarak tanımlanmış, çizelge 4.2' de bu şekilde belirtilmiştir. Buradaki "basil" tanımlaması Bacillaceae familyası üyeleri anlamında değil, orjinal anlamı ile çubuk bakteridir.

Yine mikroskopik inceleme sonucunda streptokok olarak görülen izolatların, enterokok olup olmadıklarının belirlenmesi amacıyla bunlar Chromocult Enterococci Broth besiyerine aşılanmış, 37 °C' de 24 saat inkübasyon sonunda besiyerinde mavi-yeşil renk oluşumu "enterokok pozitif" olarak değerlendirilmiş (Anonim 2006d) ve daha ileri tanımlama gereği duyulmamıştır.

Denemelerde şahit olarak kullanılan *S. aureus* suşu, tüm ilgili testlerde kendisinden beklenen reaksiyonları vermiştir. Bir diğer ifade ile kullanılan tüm testler bu şekilde doğrulanmıştır.

Buna göre, Çizelge 4.2' den de görüleceği gibi 12 basil, 6 maya ve 30 *Enterococcus* spp. *S. aureus* için selektif olan katı besiyerlerinde gelişerek koloni oluşturmuşlardır.

Basil olarak tanımlanan izolatlar, Baird Parker Agar besiyerinde 0,2 mm boyutunda gri renkli koloni ve koloni etrafında beyaz halka ve 0,5-1,2 mm boyutları arasında siyah renkli koloni ve koloni etrafında kahverengi halka oluşturmuşlardır. Mannitol Salt Agar besiyerinde ise 0,4-0,9 mm boyutları arasında krem renkli koloni ve koloni etrafında belirsiz zon, zonlu ve zonsuz koloniler oluşturmuşlardır. Koloni çapı morfoloji ile doğrudan ilişkilidir ve koloni rengi ile koloni çapı farklı izolatlarda benzerdir.

Maya olarak tanımlanan 6 izolatın 4' ü BPA besiyerinde 0,1-0,4 mm boyutları arasında gri renkli koloni ve koloni etrafında beyaz halka oluşturmuştur. Diğer koloniler MSA besiyerinde 0,3 mm boyutunda krem renkli, zonsuz ve 0,5-1 mm boyutunda pembe renkli koloniler oluşturmuşlardır. Koloni büyüklükleri değişkendir. Yukarıda da belirtildiği gibi bu grup, sadece mikroskopik morfoloji ile tanımlanmıştır.

Her ne kadar, mikroskopik morfolojileri zincir şeklinde kok (streptokok) olan izotatlardan, Chromocult Enterococci Broth besiyerinde mavi-yeşil renk verenler *Enterococcus* olarak tanımlanmışsa da bunların tümüne ısıya dayanıklı koagülaz testi ile 9 adedine oksidaz testi uygulanmıştır. İlginç olarak mikroskopik morfolojisi streptokok olan 30 izolatın tümü Chromocult Enterococci Broth besiyerinde pozitif sonuç verdiği için *Enterococcus* spp. olarak değerlendirilmiş, ancak, bunlardan 4 adedi ısıya dayanıklı koagülaz üretmiş, oksidaz testinde 4 pozitif ve 5 negatif sonuç alınmıştır. Bu veriler, mikroskopik morfoloji ile Chromocult Enterococci Broth ilişkisinin sorgulanması gereğini göstermektedir. Bu grup bakterilerde çoğunlukla BPA besiyerinde 0,2-0,9 mm boyutları arasında siyah renkli ve koloni etrafında belirsiz zon oluşmaktadır; ayrıca



zonlu ve zonsuz olarak da görülmektedir. MSA besiyerinde ise 0,3-0,7 mm boyutları arasında krem renkli zonlu ve zonsuz koloniler; 0,2-1 mm boyutları arasında sarı renkli koloni etrafı zonlu koloniler ve 0,3 mm boyutunda pembe renkli koloniler görülmektedir. Genel olarak aynı renge sahip kolonilerin yakın büyüklükte olduğu söylenebilir.

*Staphylococcus* cinsi gibi Micrococcaceae familyası üyeleri olan ve *S. aureus* selektif katı besiyerlerinde kolaylıkla gelişen *Micrococcus* türlerinden 19 izolat tanımlaması yapılmıştır. *Micrococcus* cinsine giren bakteriler için de tür tanımlamasına gerek duyulmamıştır. Bu grup bakteriler, ısıya dayanıklı koagülaz pozitif ve oksidaz pozitif olup, mikroskopik morfolojileri *S. aureus*' dan daha büyük ve kok görünümünde olan izolatlardır. Koloni morfolojileri Çizelge 4.2' de verildiği gibi oldukça farklıdır. BPA besiyerinde 0,2-0,7 mm boyutları arasında siyah renkli ve koloni etrafında gri halka, kahverengi halka ve zonsuz koloniler oluşmaktadır. MSA besiyerinde ise 0,2-1,5 mm boyutları arasında zonlu ve zonsuz koloniler ve 0,2-0,7 mm boyutları arasında pembe renkli koloniler oluşmaktadır.

İzolatların, 11 adedi *S. aureus* iken 3 adet *S. anaerobius*, 1 adet *S. coagulans*, 3 adet *S. intermedius*, 2 adet *S. lentus* ve 1 adet *S. xylosus* tanımlanmıştır. Bunların dışında 1 adet izolatın *S. haemolyticus* ya da *S. saprophyticus* ve 2 adet izolatın ise *S. hominis* ya da *S. piscifermentans* olduğuna karar verilmiştir.

11 *S. aureus* izolatının tümü Stafilokoagülaz ve ısıya dayanıklı nükleaz testinde pozitif sonuç vermiştir. Bir diğer deyiş ile bu sonuçlar alındığı için söz konusu izolatların *S. aureus* olduğuna karar verilmiştir. Kuşkusuz, bu izolatların tümü mikroskopik morfoloji açısından tipik görüntüler vermişlerdir. Bu izolatlarda identifikasyon amaçlı biyokimyasal testlere devam edilmiş ve tümünün sakkaroz, laktoz, maltoz, D-mannoz pozitif ve rafinoz ile L-arabinoz negatif olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar, *S. aureus* için tipik reaksiyonlardır. Ayrıca rasgele seçilen izolatlara uygulanan testlerde 2 adet oksidaz negatif, 2 adet D-trehaloz negatif sonuç ile D-ksiloz testinde 1 adet negatif ve 1 adet pozitif sonuç bulunmuştur. Bu izolatlar BPA besiyerinde 0,2-0,7 mm boyutları

arasında siyah renkli koloni etrafında belirsiz zonlu ve zonsuz atipik koloniler oluşturmaktadır. MSA besiyerinde ise 0,2-0,8 mm boyutları arasında tipik sarı zonlu koloniler oluşturmuşlardır; bunun dışında 0,4 mm krem renkli ve 0,5 mm pembe renkli atipik koloniler gözlemlenmiştir.

*S. anaerobius* izolatu Stafilokoagülaz ve ısıya dayanıklı nükleaz testinde pozitif sonuç vermiştir. Bu izolatlarda identifikasyon testlerine devam edildiğinde mannoz testi *S. aureus'* dan farklı olarak mannoz negatif sonuç vermiştir ve diğer identifikasyon testlerinde rafinoz, L-arabinoz, VP negatif ve maltoz pozitif olduğu görülmüştür. Ayrıca rasgele seçilen 2 izolata uygulanan oksidaz ve D-trehaloz testlerinde negatif sonuç bulunmuştur.

*S. intermedius* izolatu Stafilokoagülaz ve ısıya dayanıklı nükleaz testinde pozitif sonuç vermiştir. Bu izolatlarda da identifikasyon amaçlı biyokimyasal testlere devam edildiğinde VP testi *S. aureus'* dan farklı olarak VP negatif sonuç vermiştir. Diğer identifikasyon testlerinde ise sakkaroz, maltoz pozitif ve rafinoz negatif sonuç bulunmuştur. Ayrıca laktoz testinde 2 izolattan biri pozitif diğer izolat ise negatif sonuç vermiştir. Rasgele seçilen izolatlarda 1 adet mannitol pozitif, 1 adet L-arabinoz negatif sonuç bulunmuştur.

*S. lentus* izolatu Stafilokoagülaz ve ısıya dayanıklı nükleaz testinde pozitif sonuç vermiştir. İdentifikasyon amaçlı biyokimyasal testlere devam edildiğinde rafinoz testi tanımlamada belirleyici olup pozitif sonuç vermiştir. Ayrıca sakkaroz, maltoz, D-mannoz, oksidaz testleri pozitif ve L-arabinoz testinde ise izolatlardan biri pozitif diğeri negatif sonuç vermiştir.

*S. xylosus* izolatu Stafilokoagülaz, ısıya dayanıklı nükleaz testinde negatif sonuç vermiştir. İdentifikasyon testlerine devam edildiğinde rafinoz, L-arabinoz, oksidaz negatif ve maltoz, laktoz, mannoz, mannitol, VP pozitif sonuç vermiştir.

*S. coagulans* izolatu ısıya dayanıklı nükleaz testinde pozitif sonuç vermiştir. İdentifikasyon testlerine devam edildiğinde sakkaroz, laktoz, maltoz, D-mannitol, VP pozitif ve rafinoz, L-arabinoz, D-mannoz, oksidaz negatif sonuç vermiştir.

13 ve 14 nolu izolatlarda seçilmiş olan biyokimyasal identifikasyon testlerinde Stafilokoagülaz, ısıya dayanıklı nükleaz, rafinoz, L-arabinoz, D-ksiloz, D-mannoz, D-mannitol negatif ve sakkaroz, laktoz, maltoz, VP pozitif sonuç vermiştir. Bu testlere göre izolatlar *S. hominis* veya *S. piscifermentans* olarak tanımlanmıştır. İki tür arasında ayırım sağlayan test tespit edilememiştir.

20 nolu izolatta seçilmiş olan biyokimyasal identifikasyon testlerinde Stafilokoagülaz, ısıya dayanıklı nükleaz, rafinoz, L-arabinoz, D-mannoz negatif ve sakkaroz, laktoz, maltoz, D-mannitol, VP testleri pozitif sonuç vermiştir buna göre izolat *S. haemolyticus* veya *S. saprophyticus* olarak tanımlanmıştır. İki tür arasında ayırım sağlayan test tespit edilememiştir.

03, 05, 16, 22, 24, 25, 30, 31 nolu izolatlar tanımlanamamıştır.

Çizelge 4.2 BPA ve MSA Besiyerlerinden elde edilen izolatların tanımlama sonuçları

İzolat	Stafilokogulaz	Isiya d. nüükl.	Oksidaz	VP	D-Trehaloz	D-Mannitol	D-Mannoz	D-Ksiloz	L-Arabinoz	Maltoz	Laktoz	Sakkaroz	Rafinoz	Enterokok	Sonuç	Koloni boyutu /mm	Koloni Morfolojisi
01	-	-	+			+			+	+		+	+		<i>S. lentus</i>	0,5-0,6	MSA; Krem, zonlu
02	-	-	+			+			-	+		+	+		<i>S. lentus</i>	0,3-0,5	BPA; Siyah parlak, zonsuz
03	-	+	-	+					+	+	+	+	+		Tanımlanamadı	0,5-0,6	BPA; Siyah, mat zonlu
04	+	+				+	+		-	+	+	+	-		<i>S. aureus</i>	0,2	BPA; Siyah, zonsuz
05	-	+		+		+	+		+	+	+	+	-		Tanımlanamadı	0,3	MSA; Kavuniçi, zonsuz
06	+	+					+		-	+	+	+	-		<i>S. aureus</i>	0,3-0,4	BPA; Siyah, belirsiz zon
07	+	+		-		+			+	-	+	-			<i>S. intermedius</i>	0,2	BPA; Siyah, belirsiz zon
08	+	+					+		-	+	+	+	-		<i>S. aureus</i>	0,4-0,5	BPA; Siyah, zonsuz
09	+	+				+	+		-	+	+	+	-		<i>S. aureus</i>	0,2	MSA; Sarı, zonlu
10	+	+		-			-		-	+			-		<i>S. anaerobius</i>	1	MSA; Krem turuncumsu, zonsuz
11	+	+				+	+		-	+	+	+	-		<i>S. aureus</i>	0,6-0,7	BPA; Siyah, zonsuz
12	+	+				+	+		-	+	+	+	-		<i>S. aureus</i>	0,5	MSA; Sarı, zonlu
13	-	-		+		-	-	-	-	+	+	+	-		<i>S. hominis / S. piscifermentans</i>	0,3-0,4	MSA; Sarı, zonlu
14	-	-		+		-	-	-	-	+	+	+	-		<i>S. hominis / S. piscifermentans</i>	0,5-0,7	MSA; Pembe, zonsuz
15	+	+		-					-	+	+	+	-		<i>S. intermedius</i>	0,2	BPA; Siyah, zonlu
16	-	+		+		+	-		-	+	+	+	-		Tanımlanamadı	0,3-0,4	MSA; Sarı, zonlu
17		+	-	+		+	-		-	+	+	+	-		<i>S. coagulans</i>	0,5-0,7	BPA; Siyah, zonsuz
18	+	+		-						+	+	+	-		<i>S. intermedius</i>	0,3-0,5	MSA; Pembe, zonsuz
19	-	-	-	+		+	+		-	+	+		-		<i>S. xylosus</i>	0,5	MSA; Pembe, zonsuz
20	-	-		+		+	-		-	+	+	+	-		<i>S. haemolyticus / S. saprophyticus</i>	0,3-0,5	BPA; Siyah, belirsiz zon
21	+	+				+	+		-	+	+	+	-		<i>S. aureus</i>	0,6-0,8	MSA; Sarı, zonlu
22	-	+				+	-		-	-	+	-	+		Tanımlanamadı	0,2	MSA; Krem, zonsuz
23	+	+				+	+		-	+	+	+	-		<i>S. aureus</i>	1	MSA; Sarı, zonlu
24	-	+		-	+	-	-	-	-	+	+	+	-		Tanımlanamadı	0,5	MSA; Pembe, zonsuz

Çizelge 4.2 BPA ve MSA Besiyerlerinden elde edilen izolatların tanımlama sonuçları (devam)

İzolat	Stafilokogulaz	Isıya d. nüükl.	Oksidaz	VP	D-Trehaloz	D-Mannitol	D-Mannoz	D-Ksiloz	L-Arabinoz	Maltoz	Laktoz	Sakkaroz	Rafinoz	Enterokok	Sonuç	Koloni boyutu /mm	Koloni Morfolojisi
25	-	+			+	-	-	-	-	-	+	-	-		Tanımlanamadı	1	MSA; Pembe, zonsuz
26	+	+				+	+		-	+	+	+	-		<i>S. aureus</i>	0,5-1	MSA; Pembe, zonsuz
27	+	+	-	-	-		-		-	+			-		<i>S. anaerobius</i>	1-1,5	MSA; Sarı, zonlu
28	+	+	-	-	-		-		-	+			-		<i>S. anaerobius</i>	2	MSA; Sarı, zonlu
29	+	+	-		+	+	+	-	-	+	+	+	-		<i>S. aureus</i>	0,2-0,5	BPA; Siyah, belirsiz zon
30		+			+	-	-	-	-	-	+	-	-		Tanımlanamadı	2	BPA; Siyah, zonsuz
31		+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-		Tanımlanamadı	0,3-0,5	MSA; Pembe, zonsuz
32	+	+	-		+	+	+	+	-	+	+	+	-		<i>S. aureus</i>	0,4-0,5	MSA; Krem, zonsuz
33		-												+	Enterokok	0,4-0,5	BPA; Siyah, belirsiz zon
34		-												+	Enterokok	0,5	BPA; Siyah, belirsiz zon
35		-												+	Enterokok	0,3-0,4	BPA; Siyah, parlak zonsuz
36		-												+	Enterokok	0,7	MSA; Sarı, zonlu
37		-												+	Enterokok	0,8-0,9	BPA; Siyah, belirsiz zon
38		-												+	Enterokok	0,5-0,6	BPA; Siyah, belirsiz zon
39		-												+	Enterokok	0,3-0,4	BPA; Siyah, belirsiz zon
40		-												+	Enterokok	0,3-0,4	BPA; Siyah, belirsiz zon
41		-												+	Enterokok	0,5	MSA; Krem, zonlu
42		-												+	Enterokok	0,3	BPA; Siyah, zonlu
43		-												+	Enterokok	0,3-0,4	BPA; Siyah, zonlu
44		-												+	Enterokok	0,3	MSA; Krem, zonlu
45		-	-											+	Enterokok	0,3-0,4	MSA; Krem, zonlu
46		-	-											+	Enterokok	0,3	BPA; Siyah, belirsiz zon
47		-	-											+	Enterokok	0,6-0,7	BPA; Siyah, zonlu
48		-	-											+	Enterokok	0,2-0,4	BPA; Siyah, belirsiz zon

Çizelge 4.2 BPA ve MSA Besiyerlerinden elde edilen izolatların tanımlama sonuçları (devam)

İzolat	Stafilokoağulaz	Isıya d. nüükl.	Oksidaz	VP	D-Trehaloz	D-Mannitol	D-Mannoz	D-Ksiloz	L-Arabinoz	Maltoz	Laktoz	Sakkaroz	Rafinoz	Enterokok	Sonuç	Koloni boyutu /mm	Koloni Morfolojisi
49		-												+	Enterokok	0,5	BPA; Siyah, belirsiz zon
50		-												+	Enterokok	0,3-0,4	MSA; Sarı, zonlu
51		-	+											+	Enterokok	0,4-0,5	BPA; Siyah, zonsuz
52		-												+	Enterokok	0,4-0,5	BPA; Siyah, belirsiz zon
53		+												+	Enterokok	0,4-0,5	MSA; Sarı, zonlu
54		-												+	Enterokok	0,4-0,5	BPA; Siyah, zonsuz
55		-												+	Enterokok	0,6-0,7	BPA; Siyah, zonsuz
56		+	+											+	Enterokok	0,2-0,3	MSA; Sarı, zonlu
57		-	+											+	Enterokok	0,5-0,7	MSA; Krem, zonsuz
58		+	+											+	Enterokok	0,5	BPA; Siyah, zonsuz
59		-												+	Enterokok	0,3-0,4	BPA; Siyah, belirsiz zon
60		-												+	Enterokok	0,3-0,4	BPA; Siyah, belirsiz zon
61		-												+	Enterokok	0,7-1	MSA; Sarı, zonlu
62		+	-											+	Enterokok	0,3-0,4	MSA; Pembe, zonsuz
63		+	+											-	Mikrokok	0,5-0,7	BPA; Siyah, zonsuz
64		+	+											-	Mikrokok	0,7	BPA; Siyah, zonsuz
65		+	+											-	Mikrokok	0,5-0,7	BPA; Siyah, gri halka
66		+	+											-	Mikrokok	0,3-0,4	BPA; Siyah, zonsuz
67		+	+											-	Mikrokok	0,2	BPA; Siyah, gri halka
68		+	+											-	Mikrokok	0,4-0,5	BPA; Siyah, zonsuz
69		+	+											-	Mikrokok	0,2	MSA; Pembemsi krem, zonsuz
70		+	+											-	Mikrokok	0,2-0,3	BPA; Siyah, zonsuz
71		+	+											-	Mikrokok	0,6-0,7	BPA; Siyah, zonsuz
72		+	+											-	Mikrokok	0,3-0,5	MSA; Krem, zonlu

Çizelge 4.2 BPA ve MSA Besiyerlerinden elde edilen izolatların tanımlama sonuçları (devam)

İzolat	Stafilokoağulaz	Isıya d. nüükl.	Oksidaz	VP	D-Trehaloz	D-Mannitol	D-Mannoz	D-Ksiloz	L-Arabinoz	Maltoz	Laktoz	Sakkaroz	Rafinoz	Enterokok	Sonuç	Koloni boyutu /mm	Koloni Morfolojisi
73		-	+											-	Mikrokok	0,3-0,5	BPA; Siyah, zonsuz
74		+	+											-	Mikrokok	0,3-0,4	MSA; Krem, zonlu
75		-	+											-	Mikrokok	0,2-0,3	MSA; Krem, zonsuz
76		+	+											-	Mikrokok	0,5-0,7	MSA; Pembe, zonsuz
77		+	+											-	Mikrokok	1-1,5	MSA; Krem, zonlu
78		+	+											-	Mikrokok	1-1,5	BPA; Siyah, kahverengi halka
79		+	+											-	Mikrokok	0,5-1	BPA; Gri, zonsuz
80		+	+											-	Mikrokok	0,2	MSA; Krem, zonsuz
81		+	+											-	Mikrokok	0,5-0,7	BPA; Siyah, gri halka
82															Maya	0,3-0,4	BPA; Gri, beyaz halka
83															Maya	0,3-0,4	BPA; Gri, beyaz halka
84															Maya	0,3-0,4	MSA; Pembe, zonsuz
85															Maya	0,3	MSA; Krem, zonsuz
86															Maya	0,1	BPA; Gri, beyaz halka
87															Maya	0,3-0,4	BPA; Gri, beyaz halka
88															Basil	1,1-1,2	BPA; Siyah, kahverengi halka
89															Basil	0,8-0,9	MSA; Krem, sarı zonlu
90															Basil	0,5	MSA; Krem, zonlu
91															Basil	0,6	MSA; Krem, zonlu
92															Basil	0,4-0,5	MSA; Krem, belirsiz zon
93															Basil	0,8-0,9	BPA; Siyah, kahverengi halka
94															Basil	0,5-0,6	MSA; Krem, zonsuz
95															Basil	0,6-0,7	BPA; Siyah, kahverengi halka
96															Basil	0,5-0,6	MSA; Krem, belirsiz zon

Çizelge 4.2 BPA ve MSA Besiyerlerinden elde edilen izolatların tanımlama sonuçları (devam)

İzolat	Stafilokoagülaz	Isıya d. nüükl.	Oksidaz	VP	D-Trehaloz	D-Mannitol	D-Mannoz	D-Ksiloz	L-Arabinoz	Maltoz	Laktoz	Sakkaroz	Rafinoz	Enterokok	Sonuç	Koloni boyutu /mm	Koloni Morfolojisi
97															Basil	0,2	BPA; Gri, beyaz halka
98															Basil	0,7	BPA; Siyah, kahverengi halka
99															Basil	0,5-0,7	BPA; Siyah, kahverengi halka



Rutin laboratuvar uygulamalarında koagülaz testi *S. aureus'* u diğer stafilokoklardan ayıran temel testtir. Diğer koagülaz pozitif olan stafilokok türleri; *S. hyicus*, *S. schleiferi*, *S. coagulans* ve *S. intermedius'* tur. Bu türlere infeksiyonlarda veya taşıyıcı olarak nadiren rastlanmaktadır. Koagülaz ve termostabil nükleaz testleri *S. aureus'* un diğer stafilokoklardan ayırımında tanımlamada yol göstericidir (Anonymous 2006c).

Mikrokok türleri zorunlu aerobiktir. *M. luteus* sarı koloni oluşturur. Gram pozitif koklar düzenli tetrad yapıdadırlar. Mikrokoklar stafilokoklardan oksidaz testi ile ayırt edilmektedir. Stafilokok türleri içerisinde *S. sciuri*, *S. lentus* ve *S. vitulus* oksidaz negatif, mikrokok türleri oksidaz pozitifdir (Anonymous 2006c).

Çiğ keçi sütünden yapılan Camambert peynirinin imalat ve olgunlaşma safhalarında enterotoksijenik *S. lentus'* un gelişimi ve enterotoksin oluşturmasının incelendiği bir çalışmada başlangıçta süte  $10^6$  kob/ml *S. lentus* inoküle edilmiş, peynir endüstriyel özelliklere göre hazırlanmış ve 42 gün olgunlaşmaya bırakılmış ve sayım Staph 110 besiyerinde incelenmiştir. Bulgulara göre; tuzlama aşamasına kadar bütün peynirlerde mikroorganizma yükü artmış ve olgunlaşma boyunca toplam aerobik mezofilik bakteri ve koagülaz-negatif stafilokok sayısı sabit kalmış ve yükselmiştir. Bulgular, peynire bulaşan *S. lentus'* un canlılığını iyi bir şekilde koruduğunu göstermiştir (Meyrand et al. 1999).

Stafilokok izolatları, multipoint inokülasyon işlemi kullanan kilit testlerle, RiboPrinter (Qualicon), immuno-concentration zenginleştirme, VIDAS ve Array Diagnostic System Milk Chip DNA immunoassay gibi çeşitli yeni ve hızlı test sistemleri ile tanımlanmaktadır. Bu yöntemlerle elde edilen sonuçların gerek klasik yöntemlerle gerek kendi içlerinde her zaman aynı sonucu vermediği belirtilmektedir (Tükel ve Doğan 2000, Anonymous 2006a, Anonymous 2006b, Anonymous 2006c).

Beyaz peynirlerin mezofil florasında koliform, enterokok, stafilokok, laktokok, laktobasil lökonostok, pediokok ve basillus' ların bulunma sıklıkları üzerinde yapılan bir araştırmada 132 örnekten 9 ayrı besiyerine ekim yapılarak toplam 1188 plaktan

izolasyon çalışması yapılmış, 132 örneğin 130' undan (% 98,4) laktobasil, 115' inden (% 87,1) koliform, 112' sinden (% 84,8) stafilokok, 107' sinden (% 81,0) enterokok, 96' sindan (% 72,7) basil, 92' sinden (% 69,6) laktokok, 33' ünden (% 25) pediokok, 13' ünden (% 40,6) lökonostok izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Uraz ve Gündoğan 1999a).

Çeşitli süt işletmelerinden sağlanan çiğ süt, pastörize süt ve Beyaz peynir örneklerinden 73 *Staphylococcus* izole edilmiştir. Bu bakterilerin 59' u (% 80,82) *S. aureus*, 7' si (% 9,59) *S. epidermidis* ve 7' si (% 9,59) de *S. saprophyticus*' dur (Uraz ve Arslan 1997).

Bir başka çalışmada, incelenen 45 gıda örneğinden 38 adedinde (% 84) *S. aureus*' a ve 27 örnekte de (% 60) atipik *S. aureus*' a rastlanmıştır (Bilge ve Karaboz 2005).

Salamura ve Beyaz peynir örneklerinden *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *S. aureus* ve *Bacillus sphaericus* izolasyonlarının karşılaştırılması için yapılan bir araştırmada taze peynir (0-7 gün) ve 10 hafta (7-70 gün) arasındaki olgunlaşma süresinde çalışılan 12 seri (132 adet) Beyaz peynir örneği ve aynı örneklerin salamuraları ile çalışılmıştır. Beyaz peynirlerin saklandığı salamuralarının hijyen koşullarının, Beyaz peynirdeki bakteri kontaminasyonuna etkisi belirlenmiştir. Bu amaçla peynir ve salamura örneklerinin karşılaştırılması yapılmıştır. Örneklerin çoğunluğunda, *E. coli*, *Enterococcus faecalis* ve *S. aureus* taze peynir aşamasından olgunlaşmanın sonuna kadar izole edilmiş, aynı haftalar arasında salamuradan da izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Bu bakterilerin peynir örneklerindeki izolasyon sayıları salamura örneklerindeki sayılarından daha yüksek tespit edilmiştir (Uraz ve Gündoğan 1999b).

Mandıra düzeyindeki işletmelerde Beyaz peynir üretim aşamalarındaki kritik kontrol noktalarının belirlenmesi, direkt ve çapraz kontaminasyon kaynaklarının araştırılması amacıyla ele alınan bir çalışmada, 21 kontrol noktası aerob mezofil genel bakteri, stafilokok mikrokok, koagülaz pozitif stafilokok, enterobakteriler, koliform bakteri, *E. coli*, enterokok, maya ve küf sayıları yönünden incelenmiştir. Çalışma sonucunda, çiğ sütlerin mikrobiyolojik yüklerinin fazla olmasının pastörize sütün mikrobiyolojik kalitesini olumsuz yönde etkilediği, pastörizasyon sonrası üretim hattındaki plastik

boruların, muşambanın, cendere bezinin, işçi ellerinin, starter kültürün, salamuranın direkt kontaminasyon kaynağı olduğu, işçi ellerinin ve işletmede kullanılan suyun direkt/çapraz kontaminasyonda rol oynadığı, işletme havasının ise maya ve küf sayısı bakımından kritik kontrol noktası olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak gıda işletmelerinde çalışan personelin hijyen konusunda eğitilmesi, alet ve ekipmanın temizlik ve dezenfeksiyonuna dikkat edilmesi, salamuranın her parti peynir için yeniden hazırlanarak pastörize edilmesi, starter kültürün bu iş için hazırlanmış steril odalarda ve uzman düzeyinde personel tarafından hazırlanması, işletme havasının da işletme pencerelerine pozitif hava filtrelerinin takılması ile kritik kontrol noktası olmaktan çıkarılacağı sonucuna varılmıştır (Evrensel vd. 2003).

Peynir imalatında kullanılan sütlerin yetersiz pastörizasyonu, olgunlaşma sürecindeki bakteriyel kontaminasyon ve peynirlerin saklanma koşulları peynir mikroflorasının gelişimini ve kaliteyi etkiler. Bu nedenle *Staphylococcus aureus* gibi insan sağlığı açısından önemli mikroorganizmalar Beyaz peynirlerde bulunabilir. Bu düşünceden hareketle 12 seri (132 adet) Beyaz peynir örneği 10 haftalık (70 gün) olgunlaşma periyodunda çalışılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre taze peynir örneklerinden yüksek sayıda *Staphylococcus aureus* izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Olgunlaşmanın ilk haftalarındaki *S. aureus* izolasyonu taze peynir örneklerindeki gibi yüksek gözlenirken son haftalardaki *S. aureus* sayısında düşme meydana gelmiştir. *S. aureus'* ların taze peynir örneklerinden izolasyonu pastörizasyon ile baskılanan bu bakterinin yeniden aktivite kazanabildiğini ve olgunlaşmanın en az 6. haftasına kadar canlılıklarını sürdürebildiklerini göstermektedir (Uraz ve Gündoğan 1998).

Bu çalışmada, hedef bakteri olan *S. aureus* dışında farklı türler, aynı ve farklı selektif besiyerlerinden izole edilmiştir. Bu sonuçlar benzeri diğer çalışmalar ile de uyumludur. Peynir çeşitleri, kullanılan selektif besiyerleri ve analiz yöntemi farklılığına bağlı olarak farklı izolatların elde edilebildiği literatürde gösterilmiştir.

## 5. SONUÇ

-Analiz edilen Beyaz peynirlerde *S. aureus* sayısı çok yüksektir. Peynirlerin % 87,5' i gıda kodeksinde verilen sınırın dışındadır. Ancak, bu peynirlerin açık semt pazarlarından ya da marketlerde ambalajsız olanlar olduğu dikkate alınmalıdır. Bu çalışma kapsamında ambalajlı peynirlerde *S. aureus* sayımı yapılmadığı için ambalajlı/ ambalajsız peynir hakkında yorum yapılmamıştır.

-Peynirlerde stafilokok sayımı için birçok selektif besiyeri belirli bir dereceye kadar yeterli gelmektedir. Yapılan çalışmada Baird Parker Agar ve Mannitol Salt Agar besiyerleri sayım sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz, fakat Giolitti Cantoni Broth besiyeri sayım sonuçları istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

-EMS yöntemi ile *S. aureus* aranmasında kullanılan Giolitti Cantoni Broth besiyeri sayım sonuçları literatür bilgilerinden farklı olarak, Baird Parker Agar ve Mannitol Salt Agar besiyerlerindeki sayım sonuçlarından daha düşük bulunmuştur.

-BPA ve MSA besiyerlerinde atipik koloni oluşturan *S. aureus* suşlarının geliştiği gözlemlenmiştir.

-Selektif besiyerinde stafilokoklar dışında, enterokok, mikrokok, basil ve mayaların da gelişimi gözlemlenmiştir.

-Her ne kadar MSA ile sayım sonuçları arasında fark görülmemekle beraber, BPA besiyeri, tipik koloni oluşturma açısından bu çalışmada açık bir şekilde öne çıkmıştır.

-İzolatlar arasında atipik *S. aureus'* lara rastlanmıştır. Bunun anlamı, günlük (rutin) analizler sırasında bazı *S. aureus* kolonilerinin gözden kaçırılabilirdir. Toplam 11 *S. aureus'* un 5 adedi Baird Parker Agar ve 6 adedi ise Mannitol Salt Agardan izole edilmiştir. İlginç olarak BPA' daki 5 koloninin tümü ve MSA' daki 6 koloninin 2 adedi

atipiktir. Buna göre; tipik koloni belirlenmesinde Baird Parker Agar besiyerinin üstünlüğü açık olmakla beraber atipik kolonilerin gözden kaçırılmasındaki dezavantajı başka çalışmalarda ayrıca değerlendirilmelidir.

## KAYNAKLAR

- Altın, S. ve Tekinşen, C. 2002. Konya ve Yöresinde Tüketime Sunulan Salamura Beyaz Peynirlerin Kalitesi. Vet. Bil. Dergisi, 18 (3-4); 13-18.
- Anderson, P.H.R. and Stone, D.M. 1955. Staphylococcal food poisonings associated with spray dried milk. J. Hyg, 53 (4); 387-397.
- Anonim. 2001a. Gıda ve Hayvan Yemlerinin-Mikrobiyolojisi-Koagülaz-Pozitif Stafilocokların (*Staphylococcus aureus* ve Diğer Türler) Sayımı için Yatay Metot-Bölüm 1: Baird-Parker Agar Besiyeri Kullanarak TS 6582-1. Türk Standartları Enstitüsü, 10 s., Ankara.
- Anonim. 2001b. Gıda ve Hayvan Yemlerinin Mikrobiyolojisi- Koagülaz- Pozitif-Stafilocokların (*Staphylococcus aureus* ve Diğer Türler) Sayımı için Yatay Metot- Bölüm 2: Tavşan Fibrinojeni Agar Besiyeri Kullanarak TS 6582-2. Türk Standartları Enstitüsü, 10 s., Ankara.
- Anonim. 2004. Gıda ve hayvan yemleri mikrobiyolojisi - Koagülaz-pozitif stafilocok sayımı için yatay yöntem (*Staphylococcus aureus* ve diğer türler) Bölüm 3: Belirleme ve düşük sayımlar için EMS tekniği TS 6582-3. Türk Standartları Enstitüsü, 12 s., Ankara.
- Anonim. 2005. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Ed. A. K. Halkman. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., 358 s., Ankara.
- Anonim. 2006a. Beyaz Peynir TS 591. 1. baskı TSE, 10 s., Ankara.
- Anonim. 2006b. T.C. Başbakanlık Devlet Planlama Teşkilatı Dokuzuncu Kalkınma Planı (2007-2013) Gıda Sanayi Özel İhtisas Komisyonu Raporu, basılmamış 105 s. rapor, Ankara.
- Anonim. 2006c. Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği. Web sitesi: [www.kkgm.gov.tr](http://www.kkgm.gov.tr), Erişim tarihi: 15.07.2006.
- Anonim. 2006d. Web sitesi. <http://www.mikrobiyoloji.org>, Erişim tarihi: 18.08.2006.
- Anonymous. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9<sup>th</sup> Ed. Eds J.G. Holt, N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.S. Staley, S.T. Williams. Williams&Wilkins Baltimore Maryland. 787 pp.
- Anonymous. 2003. Bacterial Nomenclature up-to-date (Approved Lists, Validation Lists) September 2003. Compiled by DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH Braunschweig, Germany
- Anonymous. 2006a. Array Diagnostic System Milk Chip DNA Immunoassay. Web sitesi. [www.genmar.gen.tr](http://www.genmar.gen.tr), Erişim tarihi: 15.08.2006.

- Anonymous. 2006b. Biomerieux Vidas, Web sitesi. [www.biomerieux.com](http://www.biomerieux.com). Erişim tarihi. 26.07.2006.
- Anonymous. 2006c. National Public Health Service for Wales. Identification of *Staphylococcus* Species, Micrococcus Species and Rothia Species. Web sitesi. <http://www.hpastandardmethods.org.uk/documents/bsopid/pdf/bsopid7.pdf> Erişim tarihi: 18.08.2006.
- Armağan, G., Özden, A. ve Çardak, A. 2004. Aydın İlinde Süt İşleme Sanayi' nin Durumu Web sitesi. <http://64.233.161.104> . Erişim tarihi: 21.05.2006
- Aşkın, O. 1983. Beyaz Peynirlerden İzole Edilen Koagülaz Pozitif Stafilocoklar ve Bunların Peynirde Gelişimi Üzerinde Starter bakterilerin Etkileri. Doktora Tezi. Hacettepe Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği AbD. 122 s., Ankara
- Atıcı, G. 1999. *Staphylococcus aureus* 'un Gelişimi Üzerine Sıcaklık, pH, Sodyum Klorür ve Koruyucuların (Asetik Asit, Sorbik Asit ve Tuzları) Birlikte Etkisinin Tepki Yüzey Yöntemi (Response Surface Model) ile Belirlenmesi. Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (basılmamış), 52 s., Mersin
- Atlas, R.M. 1996. Microbiological Culture Media 2<sup>nd</sup> Ed. CR Press, 1706 p., New York.
- Bannerman, T.J. and Kloos, W.E. 1995. Manual of Clinical Microbiology. ASM Press, 282-298 p., Washington, D.C.
- Baron, E.J., Weissfeld, A.S., Fuseiler, P.A. and Brenner, D.J. 1995. Classification and Identification of Bacteria. In; Manual of Clinical Microbiology, 6<sup>th</sup> Ed. Eds. P.A. Murray, B.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenoner, R.H. Volken. ASM Press, Washington D.C, 1482 pp.
- Baştepe, S. 1977. Bazı Süt Mamullerinden Ayrılan Koagülaz Pozitif Stafilocoklar ve Bunların Gelişmeleri Üzerine Süt Asidi Bakterilerinin Etkisi. Doktora Tezi. Ankara Üniv. Dipl. Sonr. Y.O. Ziraat Mikrobiyolojisi Kürsüsü. Ankara, 190 s.
- Becker H., Terplan, G. and Zaadhof, KJ. 1983. Suitability of current selective media for the detection of *Staphylococcus aureus* in food. Zentralbl Bakteriöl Mikrobiöl Hyg [B]; 113-126.
- Beckers, H.J. 1988. Incidence of Foodborne diseases in the Netherlands. Annual Summary, 51 (4); 327-334.
- Bilge, F. ve Karaboz, İ. 2005. İzmir' de Piyasada Açıkta Satışa Sunulan Bazı Gıdaların *Staphylococcus aureus* ve Enterotoksinleri Bakımından İncelenmesi. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 03 (06)1-6 <http://www.mikrobiyoloji.org/pdf/702050601.pdf>

- Brewer, D.G., Martin S.E. and Ordal Z.J. 1977. Beneficial effects of catalase or pyruvate in a most-probable-number technique for the detection of *Staphylococcus aureus*. *Appl Environ Microbiology*, 34; 797-800.
- Cookson, B., Scmitz, F.J. and Fluit A.C. 2003. Introduction to MRSA. In, MRSA: Current Perspective. Eds. A.C. Fluit, F.J. Schmitz. Horizon Scientific Press, 340 pp.
- Coşkun, H. ve Öztürk, N. 2000. Bazı Süt İşletmelerinde Üretilen Beyaz ve Kaşar Peynirlerinin Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalite Kriterleri Yönünden İncelenmesi. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri 6. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı. Rebel yayıncılık, s: 547-557, Tekirdağ.
- Çağlarımak, N., Bahar, H. ve Okuyan, M. 1996. İzmir'in Çeşitli Semtlerinde Satılan Çiğ Sütlerde Total Bakteri, *Stafilokok* Sayımı ve Tipleri. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi, 14 (1-2); 11-19.
- Çayan, H.H. 2000. *Staphylococcus aureus* Toksinlerinden Alfa-Toksinin Yeni Kromatografik Yöntemlerle Saflaştırılması. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Bilim Uzmanlığı Tezi, (basılmamış), 46 s.
- Demiret, N.N. ve Karapınar, M. 2000. Süt Ürünlerinde *Staphylococcus aureus*. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri 6. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı. Rebel yayıncılık, s: 78-85. Tekirdağ.
- Doorne H., Rosamund, M., Danuta, T., Margaretha, D. and Pauwels H.P. 1981. Liquid modification of Baird-Parker's medium for the selective enrichment of *Staphylococcus aureus*. *Antonie van Leeuwenhoek Springer Netherlands*, (47-3); 267-278.
- Duncan, S.E., Yaun, B.R. and Summer, S.S. 2004. Microbiological Methods for Dairy Products Chapter 9. Eds: Wehr, H.M., Frank, J.F. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 17<sup>th</sup> Edition. American Public Health Association, Washington DC, 570 p
- Dündar, V. 2000. Metisiline Dirençli Stafilokok İnfeksiyonları. *Klinik Dergisi*, 13 (1); 26-27.
- Euzéby, J.P. 2006. LPSN List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature. Formerly List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature (LBSN) <http://www.bacterio.cict.fr/>
- Evrensel, S.S., Temelli, S. ve Anar, Ş. 2003. Mandıra Düzeyindeki İşletmelerde Beyaz Peynir Üretiminde Kritik Kontrol Noktalarının Belirlenmesi. *Turk J. Vet. Anim. Sci. TÜBİTAK*, 2 (27); 29-35.
- Gürgün, V. ve Halkman, A.K. 1988. Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No: 7. San Matbaası, Ankara, 160 s.



- Halkman, A.K., Doğan, H.B. ve Noveir, M.R. 1994. Gıda Maddelerinde *Salmonella* ile *E. coli* Aranma ve Sayılma Yöntemlerinin Karşılaştırılması. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın no : 21. Armoni Matbaacılık Ltd. Ankara, 93 s.
- Halkman, A.K. ve H.B. Doğan, 1997. *Enterobacteriaceae* Üyelerinin İdentifikasyonu Üzerine Bir Araştırma XIII. Ulusal Biyoloji Kongresi (17-20 Eylül 1996, İstanbul) Cilt : 2, s: 187-196. Final Copy Center, İstanbul, 562 s
- Halkman, A.K. ve Tunail, N. 2000. Gıdaların Mikrobiyolojik Analizi 3. İzolasyon, İdentifikasyon Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaacılık Ltd. s: 255-266, Ankara.
- Hurst, A., Hendry, GS., Hughes, A. and Paley, B. 1976. Enumeration of sublethally heated staphylococci in some dried foods. Can J Microbiol, 22 (5); 677-683.
- Kasımoğlu, A. 1999. Beyaz Peynir Üretim Aşamasında Kontaminasyon Kaynaklarının Belirlenmesi ve Önleme Yollarının Araştırılması. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 1 (46); 1-7.
- Kloos, W. and Bannerman, T.L. 1995. Staphylococci and Micrococci. In; Manual of Clinical Microbiology, 6<sup>th</sup> Ed. Eds. P.A. Murray, B.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenoner, R.H. Volken. ASM Press, Washington D.C, 1482 pp.
- Laird, D.T., Gambrel-Lenarz, S.A., Scher, F.M., Graham, T.E., Reddy, R. 2004. Microbiological Count Methods. Chapter 6. Eds: Wehr, H.M., Frank, J.F. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 17<sup>th</sup> Edition. American Public Health Association, Washington DC, 570 p.
- MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3<sup>rd</sup> Edition. Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, 912 p.
- Marth, E.H. and Halpindohnalek, M.I., 1989. Growth and Production of Enterotoxin-A by *Staphylococcus aureus* in Cream. Journal of Dairy Science, 72; 2266 - 2275
- Metin, M. 1977. Peynirlerde Kalite Kontrolü. Süt ve Mamullerinde Kalite Kontrolü Baylan matbaası, s: 239-262, Ankara
- Meyrand, A., Montet, M.P., Bavai, C., Ray-Gueniot, S., Mazuy, C., Gaspard, C.E., Jaubert, G., Perrin, G. and Vernozy-Rozand, C. 1999. Risk Linked to an Enterotoxigenic Strain of *Staphylococcus lentus* During The Manufacture and Ripening of Raw Milk Camambert-type Cheeses. Publications Revue de Medecine Veterinaire, 150 (8-9); 703-708.
- Niskanen, A. and Aalto, M. 1978. Comparison of Selective Media for Coagulase-Positive Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus*. Applied And Environmental Microbiology, 35(6)1233-1236

- Öztaş, A. 2003. Et Bilimi ve Teknolojisi; 4. baskı. TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Yayınları Kitaplar Serisi Yayın no 1. 495 s.
- Polat, G. 2000. Ankara Piyasasında Satılan Civil Peynirlerinin Mikrobiyolojik, Kimyasal ve Duyusal Niteliklerinin Saptanması. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi AbD, Ankara 63 s.
- Reginald W. Bennett, R.W. and Lancette, G.A. 2001. Bacteriological Analytical Manual *Online*. Chapter 12 *Staphylococcus aureus*. <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-12.html>
- Roberson, J.R., Lawrence, K.F., Hancock, D.D. and Beser, T.E. 1992 Evaluation of Methods for Differentiation of Coagulase-Positive Staphylococci. *Journal of Clinical Microbiology* 30(12):3217-3219
- Sağun, E., Sancak, H. ve Durmaz, H. 2001. Van' da Kahvaltı Salonlarında Tüketime Sunulan Süt Ürünlerinin Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kaliteleri Üzerine Bir Araştırma. *Y.Y.Ü. Vet. Fak. Dergisi*, 12 (1-2); 108-112.
- Schleifer, K.H. 1986. Gram Positive Cocci. In, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol 2. Eds. P.E. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, J.G. Holt. Williams&Wilkins Baltimore Maryland. 1599 pp.
- Selçuk, N. 1991. Beyaz Peynir Üretiminde Starter Kültür İlavesinin, Değişik Salamura Konsantrasyonlarının ve Olgunlaşma Sürelerinin *Staphylococcus aureus* 'un Çoğalmasına Etkisi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, (basılmamış), 31s. Erzurum.
- Stiles, M.E., 1977 Reliability of Selective Media for Recovery of Staphylococci from Cheese. *Journal of Food Protection*, 40 (1); 11-16.
- Tunail, N ve Köşker, Ö. 1989. Süt Mikrobiyolojisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın no 1116. 138 s.
- Tunail, N. 2000. Mikrobiyel Enfeksiyonlar ve İntoksikasyonlar. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaacılık Ltd., s: 81-184, Ankara
- Tükel, Ç. ve Doğan, H.B. 2000. *Staphylococcus aureus*. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını Sim Matbaacılık Ltd. s: 357-366, Ankara
- Uraz, G. ve Arslan, S. 1997. Çiğ Süt, Pastörize Süt ve Beyaz Peynir Örneklerinde Bulunan Beta-Laktamaz Pozitif *Staphylococcus* 'lar Üzerine Bir Araştırma. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 22 (3); 201-207.

- Uraz, G. ve Gündoğan, N. 1998. *Staphylococcus aureus* 'ların 70 Günlük Olgunlaşma Periyodunda Beyaz Peynirlerden İzolasyonları ve Canlı Kalma Sürelerinin Değerlendirilmesi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 11 (1); 167-172.
- Uraz, G. ve Gündoğan, N. 1999a. Beyaz Peynirlerin Florasında Koliform, Enterokok, Stafilokok, Laktokok, Laktobasil Lökonostok, Pediokok ve Basillus' ların Bulunma Sıklıkları. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 12 (3); 701-708.
- Uraz, G. ve Gündoğan, N. 1999b. Salamura ve Beyaz Peynir Örneklerinden *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus sphaericus* İzolasyonlarının Karşılaştırılması. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 12 (3); 709-723.
- Uraz, T. 1988 Peynir Teknolojisi Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü (basılmamış), 135 s, Ankara.
- Ünlütürk, A., Üçüncü, M., Turantaş, F. ve Öztürk, GF. 1991. Beyaz Peynirde *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella typhimurium* Canlı Kalma Olasılığı. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi, 9 (1); 99-114.
- Yaygın, H. ve Milci, S. 2006. Peynirlerden Kaynaklanan *Staphylococcus aureus* Zehirlenmesi. (24-26 Mayıs 2006) Türkiye 9. Gıda Kongresi Bildirisi, Bolu.
- Yüce, A. 1992. İzmir Yöresindeki Mandıralardan Alınan Çiğ Sütlerde *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* aranması. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, (basılmamış), 101 s, İzmir.

**Ek 1. Staphylococcus türlerinin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri (Anonymous 1994)**

Türler	Koloni büyüklüğü	Koloni Pigmenti	Anaerobik Gelişme	Aerobik Gelişme	Stafilokogulaz	Clumping factor	Isıya-dayanımlı nükleaz	Hemolisin	Katalaz	Oksidaz	Alkalın Fosfataz	Arginine ariamidase	Pyrrolidonyl ariamidase	Ornithine decarboxylase	Urease	B-Glucosidase	B-Glucuronidase	B-Galactosidase	Arginine utilization	Acetoin production	Nitrate reduction	Esculin hidrolizi	Novobiosine duyarlı	Polymyxin B duyarlılık	D-Trehaloz	D-Mannitol	D-Mannoz	D-Turanoz	D-Ksiloz	D-Seelobiyoz	L-Arabinoz	Maltoz	alfa Lactoz	Sucrose	N-Acetylglucosamine	Raffinöz	
<i>S. anaerobius</i>	-	-	(+)	+	+	-	+	+	-	-	+	ND	ND	ND	ND	-	-	-	ND	-	-	-	-	ND	-	ND	-	ND	-	-	-	+	-	+	-	-	
<i>S. arlettae</i>	d	+	-	+	-	-	-	+	-	-	(+)	-	-	-	-	ND	+	d	-	-	-	-	+	ND	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	d	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	
<i>S. auricularis</i>	-	-		(+)	-	-	-	-	+	-	-	+	d	-	-	-	-	(d)	d	-	(d)	-	-	-	(+)	-	-	(d)	-	-	-	(+)	-	d	-	-	
<i>S. capitis</i>	-	-	(+)	+	-	-	-	(d)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	d	d	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	
<i>S. caprae</i>	d	-	(+)	+	-	-	-	(d)	+	-	(+)	-	d	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	(+)	d	+	-	-	-	(d)	+	-	-	-		
<i>S. carnosus</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	d	+	+	-	-	-	-	-	-	d	-	ND	-
<i>S. caseolyticus</i>	-	d		+	-	-	ND	-	+	+	-	ND	+	-	-	-	-	-	d	-	+	ND	-	-	d	-	-	-	-	-	-	+	+	d	ND	ND	
<i>S. chromogenes</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	d	-	+	d	-	-	+	-	+	-	-	+	+	d	+	d	-	-	-	-	d	+	+	d	-
<i>S. coagulans</i>	d	-	+	+	+	-	+	(+)	+	-	+	-	ND	-	ND	ND	ND	ND	+	+	+	-	-	ND	-	d	+	-	-	-	-	-	-	d	d	ND	-
<i>S. cohnii</i>	d	-	d	+	-	-	-	(d)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	+	-	+	d	(d)	-	-	-	-	(d)	-	-	-	-	
<i>S. delphini</i>	+	-	(+)	+	+	-	-	+	+	-	+	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	+	-	+	ND	-	ND	-	(+)	+	ND	-	ND	-	+	+	+	+	ND	ND
<i>S. epidermidis</i>	-	-	+	+	-	-	-	(d)	+	-		-	-	(d)	+	(d)	-	-	d	+	+	-	-	+	-	-	(+)	(d)	-	-	-	+	d	+	-	-	
<i>S. equorum</i>	-	-	-	(+)	-	-	-	(d)	+	-	(+)	-	-	-	+	ND	+	d	-	-	+	d	+	ND	+	+	+	d	+	(d)	+	d	d	+	d	-	
<i>S. felis</i>	+	-	+	+	-	-	-	(d)	+	-	+	ND	ND	ND	+	-	-	+	+	-	+	ND	-	ND	+	+	+	ND	-	-	-	-	+	d	+	-	
<i>S. gallinarum</i>	+	d	(+)	+	-	-	-	(d)	+	-	(+)	-	-	-	+	+	d	d	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d	+	+	+
<i>S. haemolyticus</i>	+	d	(+)	+	-	-	-	(+)	+	-	-	-	+	-	-	d	d	-	+	+	+	-	-	-	+	d	-	(d)	-	-	-	+	d	+	+	-	
<i>S. hominis</i>	-	d	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	d	d	d	-	-	-	d	-	-	+	-	-	-	+	d	(+)	d	-	
<i>S. hyicus</i>	+	-	+	+	d	-	+	-	+	-	+	-	-	-	d	d	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	
<i>S. intermedius</i>	+	-	(+)	(+)	+	d	+	d	+	-	+	-	+	-	+	d	-	+	d	-	+	-	-	-	+	(d)	+	d	-	-	-		d	+	+	-	
<i>S. kloosii</i>	d	d	-	+	-	-	-	(d)	+	-	d	-	d	-	d	d	d	d	-	d	-	d	+	-	+	+	-	-	(d)	-	d	d	(d)		-	-	

Ek 1 *Staphylococcus* türlerinin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri (devam)

Türler	Koloni büyüklüğü	Koloni Pigmenti	Anaerobik Gelişme	Aerobik Gelişme	Stafilokoağulaz	Clumping factor	Isiya-dayamıklı nükleaz	Hemolisin	Katalaz	Oksidaz	Alkalın Fosfataz	Arginine arylamidase	Pyroglutonyl arylamidase	Ornithine decarboxylase	Urease	B-Glucosidase	B-Glucuronidase	B-Galactosidase	Arginine utilization	Acetoin production	Nitrate reduction	Esculin hidrolizi	Novobiosine duyarlı	Polymyxin B duyarlılık	D-Trehaloz	D-Mannitol	D-Mannoz	D-Turanoz	D-Ksiloz	D-Seelobiyoz	L-Arabinoz	Maltoz	alfa Lactoz	Sucrose	N-Acetylglucosamine	Raffinoz		
<i>S. lentus</i>	-	d		(+)	-	-	-	-	+	+		-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	(+)			+	d	d	d	+	d	+		
<i>S. lugdunensis</i>	d	d	+	+	-	(+)	-	(+)	+	-	-	-	+	+	d	+	-	-	-	+	+	-	-	d	+	-	+	(d)	-	-	-	+	+	+	+	+	-	
<i>S. muscae</i>	-	-	+	+	-	-	-	(+)	+	+	-	+	-	ND	-	-	ND	ND	-	-	-	+	-	-	ND	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	ND	-	
<i>S. pasteurii</i>	d	d	+	+	-	-	-	(d)	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	d	d	d	-	-	ND	+	d	-	(d)	-	-	-	(d)	d	+	-	-		
<i>S. piscifermentans</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	ND	ND	+	+	-	(d)	+	-	+	d	-	ND	+	d	-	-	-	-	-	-	d	d	d	ND	-
<i>S. saccharolyticus</i>	-	-	+		-	-	-	-	-	-	-	d	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	+	ND	-	ND	-	-	(+)	ND	-	-	-	-	-	-	ND	-	
<i>S. saprophyticus</i>	+	d	(+)	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	d	-	+	-	+	+	-	+	-	+	d	-	+	-	-	-	+	d	+	d	-		
<i>S. schleiferi</i>	-	-	+	+	-	+	+	(+)	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	(+)	+	+	+	-	-	-	d	-	+	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	
<i>S. sciuri</i>	+	d	(+)	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	(d)		(d)	+	d	(d)	(d)	+	d	-	
<i>S. simulans</i>	+	-	+	+	-	-	-	(d)	+	+	-	(d)	-	+	+	-	d	+	+	+	d	+	-	-	-	d	+	d	-	-	-	-		+	+	+	-	
<i>S. urealyticum</i>	+	d	(+)	+	-	-	-	(d)	+	+	-	+	-	d	-	+	+	+	+	-	d	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	(+)	+	-	d	-	
<i>S. ureolyticus</i>	-	(d)	(+)	+	-	-	-	(d)	+	+	-	-	-	(d)	-	+	-	-	-	+	d	+	-	-	ND	-	+	+	-	-	-	-	+	(d)	+	-	-	
<i>S. warneri</i>	d	d	+	+	-	-	-	(d)	+	+	-	-	-	-	+	+	d	-	d	+	d	-	-	-	+	d	-	(d)	-	-	-	(+)	d	+	-	-		
<i>S. xylosus</i>	+	d	d	+	-	-	-	-	+	+	-	d	-	d	-	+	+	+	+	-	d	d	d	+	-	+	+	+	d	+	-	d	+	d	+	+	-	

d : bazı suşlar pozitif, bazıları pozitif ; ND : eksik veya yetersiz bilgi ; + : %90-100 pozitif ; - : %90-100 negatif

## Ek 2. İstatistik Analiz

### Tek Yönlü Varyans Çözümlemesi

Descriptives ; BIODAT ; Test of Homogeneity of Variances

#### Descriptives

BIODAT

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1.00	24	692308.6	1623639	331423.9	6706.118	1377911	900.0	7950000.0
2.00	24	63100.000	251856.0	51409.889	-43249.5	169449.5	150.0	1240000.0
3.00	24	665.017	1085.480	221.573	206.658	1123.375	9.2	4600.0
Total	72	252024.5	986650.3	116277.9	20173.098	483876.0	9.2	7950000.0

#### Test of Homogeneity of Variances

BIODAT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7.683	2	69	.001

#### ANOVA

BIODAT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.0E+12	2	3.5E+12	3.904	.025
Within Groups	6.2E+13	69	9.0E+11		
Total	6.9E+13	71			

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: BIODAT

LSD

(I) BESİYERİ	(J) BESİYERİ	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	2.00	629208.625*	273842.8	.025	82907.217	1175510
	3.00	691643.608*	273842.8	.014	145342.2	1237945
2.00	1.00	-629208.6*	273842.8	.025	-1175510	-82907.2
	3.00	62434.983	273842.8	.820	-483866	608736.4
3.00	1.00	-691643.6*	273842.8	.014	-1237945	-145342
	2.00	-62434.983	273842.8	.820	-608736	483866.4

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Yeliz KONAÇ  
Doğum Yeri : İstanbul  
Doğum Tarihi : 26.07.1978  
Medeni Hali : Bekâr  
Yabancı Dili : İngilizce

### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Yıldırım Beyazıt Anadolu Lisesi / 1989-1996  
Lisans : Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi  
Bölümü / (1998-2002)  
Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda  
Mühendisliği Anabilim Dalı 2002-2006

### Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Pınar Süt Mamulleri Sanayi A.Ş / 2004-(halen devam ediyor)