



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**GIDA İŞLETMELERİNDE ÇALIŞAN İŞÇİLERİN BURUN
FLORASINDA ENTEROTOKSİJENİK
STAPHYLOCOCCUS AUREUS'LARIN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ebru Didem ÖZAK

**Danışman
Prof. Dr. Mustafa ALIŞARLI**

**Samsun
Eylül - 2015**



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**GIDA İŞLETMELERİNDE ÇALIŞAN İŞÇİLERİN BURUN
FLORASINDA ENTEROTOKSİJENİK
STAPHYLOCOCCUS AUREUS'LARIN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ebru Didem ÖZAK

**Samsun
Eylül - 2015**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ebru Didem ÖZAK tarafından Prof. Dr. Mustafa ALIŞARLI Danışmanlığında hazırlanan Gıda İşletmelerinde Çalışan İşçilerin Burun Florasında Enterotoksijenik *Staphylococcus aureus*'ların Belirlenmesi başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 17/9/2015 tarihinde yapılan sınav ile Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Mustafa ATASEVER
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

Üye : Prof. Dr. Mustafa ALIŞARLI
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

Üye : Doç. Dr. Göknur TERZİ GÜLEL
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

Üye :
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

Üye :
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

.... / /

Unvanı Adı SOYADI
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŐEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım süresince bilgi ve deneyimleri ile bana her zaman destek olan danışman hocam sayın Prof. Dr. Mustafa ALIŞARLI'ya ve tez projemin (PYO VET-1904.11.008) gerçekteştirilmesinde maddi destek sağlayan Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine, sonsuz teőekkürlerimi sunarım. Ayrıca Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında görev yapan Doç. Dr. GöknuTerZİ GÜLEL'e, Yrd Doç. Dr. Gökhan İNAT'a, Yrd Doç. Dr. Ali GÜCÜKOğLU'na Doç. Dr. Özgür ÇADIRCI'ya, Arş. Gör. Tolga UYANIK'a tez çalışmam süresince yardımlarından dolayı teőekkür ederim. Ayrıca her zaman, her şekilde desteğini ve güvenini yanımda hissettiğim sevgili eşim Prof. Dr. Ahmet Özak'a sonsuz teőekkürler.....

ÖZET

GIDA İŞLETMELERİNDE ÇALIŞAN İŞÇİLERİN BURUN FLORASINDA ENTEROTOKSİJENİK *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*'LARIN BELİRLENMESİ

Amaç: Bu çalışmanın amacı gıda işleklerinde alışan personelin *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığının konvansiyonel ve moleküler yöntem ile saptanması ve elde edilen izolatların sahip oldukları enterotoksin tiplerinin belirlenmesidir.

Materyal ve Metot: Çalışmada 9 farklı işletmede (4 et işletmesi, 3 süt işletmesi, 2 yemekhane) çalışan 100 personelin burun mukozasından örnekler alındı. Örneklerden *S. aureus* izolasyon ve identifikasyonunda konvansiyonel yöntem kullanıldı. Konvansiyonel yöntem ile *S. aureus* olduğu belirlenen izolatlar, moleküler olarak *Staphylococcus* spp. spesifik 16SrRNA ve *S. aureus* spesifik *nuc* geninin kullanıldığı PCR yöntemi ile doğrulandı. İzolatların sahip oldukları enterotoksin tiplerinin belirlenmesinde ELİSA metodu kullanıldı.

Bulgular: Yapılan konvansiyonel analizler sonucunda gıda işleklerinde çalışan 100 personelin 38'inden 91 *S. aureus* izolatu elde edildi. Moleküler olarak bu izolatların 79 (% 86)'unun *S. aureus* spesifik *nuc* genine sahip olduğu belirlendi ve bu izolatlar *S. aureus* olarak identifiye edildi. Moleküler analizler sonucu sadece yemekhanede çalışan kadın personellerden (n=1) *S. aureus* identifiye edilemedi. Enterotoksin analizi sonucu 18 personelden elde edilen 33 izolatu değişik tiplerde enterotoksin oluşturma yeteneğine sahip olduğu belirlendi. Baskın enterotoksin tipinin A ve B olduğu belirlendi.

Sonuç: Çalışma sonucunda yerel gıda işleklerinde çalışan personellerin % 36'sında *S. aureus* saptanmıştır. Elde edilen veriler erkek personelin (%42,8) kadın personele (%20) göre *S. aureus* taşıyıcılığının daha fazla olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar özellikle gıda ile uğraşan işletmelerdeki personelin halk sağlığı açısından açık bir tehlike kaynağı olabileceğini ortaya koymaktadır. Elde edilen sonuçlar gıda işletmelerinde çalışan personellerin uzmanlar tarafından hijyen konusunda bilgilendirilme ve kendilerinden kaynaklanabilecek sağlık riskleri hakkında bilinçlendirilme gerekliliğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Gıda işlekleri; *nuc*; PCR; *S. aureus*; Taşıyıcılık

Ebru Didem ÖZAK (Yüksek Lisans Tezi)
Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Eylül-2015

ABSTRACT

DETERMINING ENTEROTOXİGENİC *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* FROM THE NASAL FLORA OF WORKERS IN FOOD PROCESSING PLANTS

Aim: The aim of this study is to comparatively determine the carriers of *S. aureus* within the working personnel of food processing plants by conventional and molecular methods and identifying the enterotoxin type from the obtained isolates.

Material and Method: Samples received from the nasal mucosa of 100 personnel working in 9 different workplaces (4 meat processing plants, 3 dairies, 2 mess halls) were evaluated. Conventional methods were used for the isolation and identification of *S. aureus* from the samples. The isolates that were found as *S. aureus* were identified in the molecular level by a PCR utilizing *Staphylococcus* spp. specific 16SrRNA and *S. aureus* specific *nuc* gene. ELISA method was performed to determine the enterotoxin types of the isolates.

Results: By the conventional analyses, 91 *S. aureus* isoates were acquired from the 38 personnel out of the 100 that worked in the food workshops. Seventy-nine (86%) of these isolates were found to possess the *S. aureus* specific *nuc* gene in a molecular level, confirming the isolates as *S. aureus*. Upon molecular analysis, *S. aureus* couldn't be identified from the female personnel working in mess halls (n=4). Enterotoxin analyses revealed that 33 isolates received from 18 personnel were able to produce different types of enterotoxins. The dominant types of enterotoxins were found A and B.

Conclusion: In our study, *S. aureus* was detected in 36% of the personnel working in local food processing plants. The data gathered provided that male personnel (42.8%) are more prone to being a *S. aureus* carrier than female personnel (20%). These results show that personnel working in food related facilities could be a direct threat to public health. The personnel working in such facilities must be informed about hygiene and educated about the health risks that could originate from themselves.

Keywords: Carrier; Food processing plants; *nuc*; PCR; *S. aureus*

Ebru Didem ÖZAK (Master Thesis)
Ondokuz Mayıs University - Samsun, September-2015

SİMGELER ve KISALTMALAR

aw: Wateractivity-Su aktivitesi

BHIB: Brain Hearth Infusion Broth

BPA: Baird-Parker Agar

coa: Koagulaz A

Dk: Dakika

DNA: Deoxyribonucleic Acid

EIA: Enzyme Immunoassay

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

Gr: Gram

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

Kob: Koloni Oluşturma Birimi

ml: Mililitre

NaCl: Sodium Clorid- Sodyum Klorür

OD: Optik Değer

PBB: Purple Broth Base

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RIA: Radioimmunoassay

SE: Stafilokokal Enterotoksinler

spa: Protein A

TBE: Tris/Borate/EDTA

TSA: Tryptone Soya Agar

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

µg: Mikrogram

µl: Mikrolitre

Ç NDEK LER	
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
S MGELER VE KISALTMALAR	vi
Ç NDEK LER	vii
1.G R	1
2.GENEL B LG LER	2
2.1. Tarihçe.....	2
2.2. Stafilokokların Sınıflandırılması ve Genel Özellikleri.....	3
2.3. Stafilokokal Enterotoksinler.....	4
2.3.1. Stafilokokal Enterotoksinlerin Olu umuna Etki Eden Faktörler.....	6
2.4. Stafilokokal Enterotoksinleri Saptama Yöntemleri.....	7
2.5. <i>S. aureus</i> ve bula ma.....	9
2.5.1. nsan.....	9
2.5.2. Mezbahalar.....	11
2.5.3. Gıda i letmelerinde Çalı ma Giysileri.....	11
2.6. Gıda i letmelerinde Kullanılan Malzemeler.....	11
2.7. i letme ve Ekipmanların Temizlik ve Dezenfeksiyonu.....	11
3. MATERYAL VE METOT	12
3.1. MATERYAL.....	12
3.1.1. Örneklerin Toplanması	12
3.1.2. Örneklerde Enterotoksijenik <i>S. aureus</i> Su larının Belirlenmesinde Kullanılan Kitler, Kimyasallar ve Hazırlanı ları.....	13
3.2. METOT.....	15
3.2.1. Örneklerden <i>S. aureus</i> zolasyonu.....	15
3.2.2. <i>S. aureus</i> 'un Fenotipik dentifikasyonu.....	16
3.2.3. <i>S. aureus</i> 'un PCR ile Do rulanması.....	19
3.2.4. <i>S. aureus</i> zolatlarında Bazı Toksin Tiplerinin ELISA Tekni i ile Belirlenmesi.....	20
4. BULGULAR	21
4.1. <i>S. aureus</i> zolatlarının Konvansiyonel dentifikasyonu.....	21
4.2. <i>S. aureus</i> zolatlarının Moleküler dentifikasyonu.....	22

4.3. <i>S. aureus</i> zolatlarında Bazı Toksin Tiplerinin EL SA ile Belirlenmesi.....	24
5. TARTI MA.....	28
6. SONUÇ VE ÖNER LER.....	33
KAYNAKLAR.....	35
ÖZGEÇM	45



1. GİRİŞ

Gıda nedenli rahatsızlıklar genel anlamda patojenik mikroorganizmalar ve mikrobiyal toksinler ile kontamine olmuş gıdaların yenmesinden oluşmakta ve daha çok gastrointestinal semptomlarla seyretmektedir. Birleşmiş Milletler Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün tahminlerine göre rapor edilen gıda kaynaklı hastalık ve zehirlenmeler, gerçek verilerin gelişmekte olan ülkelerde % 1'i, gelişmiş ülkelerde ise % 10'u kadardır ve bu raporların büyük çoğunluğu toplu zehirlenmeler ile elde edilmektedir. Gıda kaynaklı enfeksiyonlar izole bir sporadik vaka olarak görülebilir veya daha az sıklıkla ortak kontamine gıdadan kaynak alan birden fazla kişiyi etkileyen bir salgın şeklinde karşımıza çıkabilir (Halkman ve Doğan, 2000).

Gıda kaynaklı hastalıkların oluşumunda önemli risk faktörlerinden birisi de gıda sektörü çalışanlarıdır (Angelillo ve ark., 2000; Ayçiçek ve ark., 2004; Lues ve Tonder, 2007). Gıdanın yapımı, taşınması, paketlenmesi, korunması ve buna benzer birçok aşamada kişisel ve sektörel olarak gerekli önemlerin alınmaması sonucunda insan sağlığı açısından çok ciddi tehlikeler olabilmektedir. Gıda sektörü çalışanları arasında kişisel hijyen eksikliği gıda kaynaklı hastalıkların oluşumunda önemli bir yardımcı faktör olarak yer almaktadır (Wang ve ark., 2007).

Gıda kaynaklı sindirim sistemi rahatsızlıklarına neden olan mikroorganizmalardan bazılarının enfeksiyon yolu ile mi yoksa intoksikasyon şeklinde mi etkili oldukları konusundaki araştırmalar devam etmektedir. Yapılan araştırmalar sonucunda uygun koşullarda üreyen, toksin üreten ve bu toksinlerin gıda yolu ile vücutta intoksikasyona neden olan en önemli iki bakterinin *Clostridium botulinum* ve *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) olduğu bildirilmektedir (Angelillo ve ark., 2000; Bilgehan, 2000)

Staphylococcaceae familyasından olan *Staphylococcus* insanlarda birçok enfeksiyonlara neden olan bir bakteridir. Ortam şartlarına dayanıklı olduklarından dolayı doğada çok yaygın bir dağılıma sahiptir. İnsanlarda enfeksiyon yapan patojen stafilokokların kaynağı yine insanlar olarak bildirilmektedir (Hacıbektaşoğlu, 1993). Stafilokoklar doğal olarak burun ve boğaz florasında, ciltte apseleri yaralarda, sivilcelerde, insan ve hayvan dışkılarında yoğun olarak bulunur. Bu etken aynı zamanda gıdalarda ve gıda işletmelerinde, elle gıda hazırlayanlarda, hastane personeli ve hastane

ortamlarında da yaygın olarak bulunur. Nazal stafilocoklar, taşıyıcılarla çevreye yayılarak tehlike oluşturur. Taşıyıcı olan ve özellikle gıda sektöründe bizzat elleriyle gıda hazırlayanlar stafilocok nedenli besin zehirlenmelerinin önemli kaynağıdır (Hacıbektaşoğlu, 1993; Vural, 1993; Bilgehan, 2000; Tunail, 2000).

Stafilocoklar insan ve hayvanlarda birçok enfeksiyonun ve insanlarda oluşabilen stafilocokal intoksikasyonların etkenidir. Stafilocokal enfeksiyon, koagulaz pozitif ve koagulaz negatif stafilocok tarafından oluşturulabilmektedir. Bununla beraber stafilocokal gıda intoksikasyonunun predominant etkeni *S. aureus*'tur (Oliver ve ark, 2005; Kılıç, 2007).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Stafilocoklar ilk kez 1878 yılında Robert Koch tarafından tanımlanmıştır, 1880 yılında Ogston tarafından “mikrokoklar, aktiviteleri düşük ve yayılma alanları sınırlı olduğunda yüzeysel süpüratif inflamasyona yol açan, ancak etkinlikleri daha fazla olursa ve yayılma imkanı bulurlarsa septisemi ve pyemi oluşturan mikroorganizmalardır” şeklinde tanımlanmıştır (Şardan, 2000; Kılıç, 2007).

Rosenberg 1884'te stafilocokları saf kültür olarak ilk üreten ve onların karakteristikleri üzerinde ilk laboratuvar çalışmalarını yapan kişidir. Stafilocokları bir soy olarak düşünmüş ve katı ortamlarda beyaz ve portakal renkli kolonilerin ürediğini gözlemlemiştir. Bu soyun alt türleri olarak pigmentasyona dayalı iki tip stafilocok tanımlamıştır. Portakal renkli koloni oluşturan mikroorganizmaları *S. pyogenes aureus*, beyaz koloni oluşturanları ise *S. pyogenes albus* olarak adlandırmıştır. Sonradan limon renkli koloni pigmentasyonu veren *S. pyogenes citreus* eklenmiştir. Winslow 1920 yılında, stafilocokları *Micrococaceae* familyasına dahil etmiştir. Evans'ın glikozu anaerobik fermente edebilme yeteneklerini 1957 yılında belirlemesi ile *Staphylococcus* isminde ayrı bir soy olarak sınıflandırılmıştır (Şardan, 2000; Kılıç, 2007).

Daha sonraları Winslow ve Winslow tarafından ikinci tür olan *S. epidermidis* öne sürülmüştür. *S. aureus* 1972'ye kadar bilinen tek türdür ve *S. epidermidis* ile arasındaki temel fark, koagulaz üretimine dayanmaktadır. Üçüncü tür olan *S. saprophyticus* 1974'te stafilocoklara eklenmiştir. Tür sayısı 1980'de 13, 1984'te ise 20

olmuştur. *S. intermedius* ve *S. hyicus* hariç yeni türlerin tamamı koagulaz negatiftir (Şardan, 2000; Kılıç, 2007).

2.2. Stafilokokların Sınıflandırılması ve Genel Özellikleri

Stafilokoklar Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin baskısında *Staphylococcaceae* familyasında yer alırlar. *Staphylococcus* türleri Gram pozitif, fakültatif anaerob, spor oluşturmeyen, hareketsiz ve katalaz pozitif bakterilerdir. Bu sınıflandırmaya göre bu cins içinde 49 tür ve 26 alt tür bulunmaktadır (Garrity, 2001).

S. aureus, başta sıcaklık uygulaması olmak üzere mikroorganizmaların indirgenmesine yönelik tüm uygulamalara karşı yüksek bir duyarlılık göstermesine rağmen, insanlarda zehirlenmeye neden olan ve sıcaklığa dayanıklı enterotoksinler üretmektedirler. Stafilokokal enterotoksinler (SE) molekül ağırlığı 26900-29600 Da arasında değişim gösteren, yapısında fazla miktarda lizin, tirozin, aspartik asit ve glutamik asit bulunduran tek zincirli proteinlerdir (Yagın ve Milci, 2006). Birçok enfeksiyona (cilt ve doku enfeksiyonları, bakteriyemi, toksik şok sendromu, endokardit gibi) ve gıda zehirlenmesine neden olan *S. aureus* suşları için doğal rezervuar insandır (Demir ve ark., 2003). *S. aureus* sağlıklı insanların derisinde %50-30 ve burun deliklerinde %20 oranında saptanabilen saprofitik bir bakteridir (Tomi ve ark., 2005).

Stafilokoklar insan ve hayvanlarda hastalıklara neden olan bakterilerdir. Deride iltihaplı yaralar yaparlar, lohusa humması, menenjit, septisemi ile beraber gıda zehirlenmelerine de neden olurlar. Ayrıca, stafilokokların mastitis nedeni olduğu 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 ishale neden olmaktadır. Hayvan bakıcıları ve sağımcılar aracılığıyla bu mikroorganizmalar direk insanlara da geçebilir. Özellikle *S. aureus* süt işletmeleri açısından önemli bir bakteridir. (Tunail ve Kösker, 1989). Fakültatif anaerob karakter gösterir. Seçici olmayan besiyerlerinde düz, parlak, dairesel konveks koloniler oluşturur. %10'a kadar olan NaCl konsantrasyonlarında iyi üreme göstermesine rağmen %15NaCl konsantrasyonunda üreme zayıftır. Optimum olarak 30-40°C'de ve 7-7.5pH'da üremektedir (Demir ve Karapınar, 2000). *S. aureus*'lar teknolojik işlemler sonucunda da canlı kalabilirler. Eğer gıdada daha önce enterotoksin oluşmuş ise bu toksin ısı işlem 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 (a_w)>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 ve ark., 2001). Tellürit, civa klorür, sodyum azid gibi kimyasal maddelere ve neomisin, polimiksin gibi bazı antibiyotiklere de direnç göstermektedirler (Tunail, 2000). Anaerob ortamda birçok karbohidratı metabolize ederek asit oluşturlar fakat arabinoz, sellobiyoz, dekstrin, inositol, rafinoz ve ksilozdan asit oluşturmazlar. *S. aureus*'u diğer türlerden ayıran özellikleri anaerobik ortamda glikozu fermente etmeleri ve K-toksin oluşturmalarıdır (Atıcı, 1999).

2.3. Stafilokokal Enterotoksinler

S. aureus tarafından üretilen enterotoksinler dünyadaki gıda zehirlenmelerinin en yaygın sebebidir (Rasooly ve Rasooly, 1998; Gilligan ve ark., 2000). Enterotoksinler stafilokokların 10^6 kob/g veya daha yüksek sayıya ulaşması sırasında sentezlenen bir ekzotosindir (Cowell ve ark., 2002; Sağun ve Alişarlı, 2003). Stafilokokal enterotoksinler (SE) emetik özellikte olup, insanlardaki stafilokokal gıda zehirlenmeleri olgularının etkenidirler. SE'ler biyolojik aktiviteleri ve yapısal ilişkileri bakımından pirojenik toksin süperantijen ailesinin üyeleri olarak sınıflandırılmışlardır (Omoe ve ark., 2002). Ayrıca yeni tanımlanan gen sekansları ile *sek*, *sel*, *sem*, *sen*, *seo*, *sep*, *seq*, *ser*, *seu* genlerinin yapıları belirlenmiştir (Leterle ve ark., 2003; Omoe ve ark., 2003; Orwin ve ark., 2003). Yeni tespit edilen bu genlerle ilgili yapılardan, tam olarak test edilememekle birlikte, bazılarının emetik aktivitesinin olmadığı belirtilmiştir (Omoe ve ark., 2003).

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 eritrosit, lökosit, hepatositler ve insan diploit fibroblastları üzerinde sitotoksik etki gösterenler "hemolizin"ler 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) 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 ve Stone, 1995). Stafilokokal enterotoksinler molekül ağırlığı 26900-29600 Da arasında değişim gösteren, yapısında fazla miktarda lizin, 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 dk ısıtma işlemi ile toksinlerin aktivitelerini %50 oranında korudukları ancak 121°C'de 1-2 dk ısıtma işlemi 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 dk olarak da verilebilmektedir (Tunail, 2000). Enterotoksinler, ilk defa 1914'de Barber'ın stafilokokal mastitisli bir ineğin sütünü içmesiyle ortaya çıkan, mide bulantısı semptomu gösteren akut gastrointestinal enfeksiyon oluşumuyla fark edilmiş, fakat 1930'lu yıllarda Duck tarafından kanıtlanana kadar ne olduğu tam olarak anlaşılamamıştır. Enterotoksinler aslında ekzotoksin özelliğindedir ve sindirim sistemini etkilediklerinden bu isimle anılırlar. Stafilokok enterotoksinleri, insan beynindeki kusma merkezini uyararak kusmaya neden olduklarından aynı zamanda nörotoksin etkisi de gösterirler (Marth ve Halpindohnalek, 1989). Enterotoksinler suşa özgü olmakla beraber, bir suş birden fazla toksin üretebilmektedir. Toksik şok sendromu'na neden olan ve 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. 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, enterotoksinin 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, 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 ishali 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" denilen bakterilerin yeterli hücre yoğunluğuna ulaşması ile bağlantılı, bakteriler arası sosyal davranış (iletişim) biçimlerinden birisi olduğu belirlenmiştir (Bilge ve Karaboz, 2005).

2.3.1. Stafilokokal Enterotoksinlerin Oluşumuna Etki Eden Faktörler

Kontaminasyon Düzeyi: *S. aureus*'un kontamine gıdada 1.0 µg'dan daha az oluşturduğu toksin miktarı stafilokokal intoksikasyon semptomlarının görülmesine neden olur. Zehirlenmeye neden olan toksin miktarı tartışma konusu olup toksin tipi

minimal doz üzerinde etkilidir. Bu toksin düzeyine *S. aureus* sayısı 100.000 kob/g-ml'den fazla olduğunda ulaşır. Bir diğer deyişle *S. aureus* sayısı 10^5 kob/g-ml olan gıdalar kesinlikle risklidir. Bununla beraber, gıdadaki *S. aureus* sayısının az olması gıdanın güvenli olduğunu göstermez (Tükel ve Doğan, 2000).

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

Su Aktivitesi (a_w), Sıcaklık: Enterotoksin D oluşturabilen 4 farklı *S. aureus* suşunun, 37°C'de NaCl ile oluşturulan değişik su aktivitesi değerlerinde, Brain Hearth Infusion Broth (BHIB)'ta 6 günlük inkübasyondan sonra 0.86 ve daha düşük değerlerde SED oluşturabildiği bildirilmiştir (Ewald ve Notermans, 1988). Notermans ve Heuvelman (1983), BHIB'de a_w (0.99-0.87), pH (4.0-7.0) ve sıcaklık (8-30°C) parametrelerini kullanarak yaptıkları çalışmada, a_w 0.85 değerinde pH 4.3 veya 8°C'de bakteriyel üreme saptanamadığını, 12°C'de a_w 0.90 veya 0.93 değerinde, pH <5.5 ile kombine edildiğinde üreme saptayamadıklarını bildirmişlerdir. SEA üretiminin bakterinin üreyebildiği tüm koşullar altında gerçekleştiği, SEB üretiminin ise a_w 0.96 değerinde tüm sıcaklık koşullarında gerçekleştiği bildirilmiştir. 0.93 a_w değerinde ise SEB üretiminin güçleştiği, SEC ve SEF üretimine ise a_w ve sıcaklığın etkili olduğu bildirilmiştir. SEC ve SEF üretiminin 0.93 a_w değerinde nadiren gözlemlendiği bildirilmiştir. *S. aureus*'un üremesi için gerekli optimum sıcaklık 37°C iken enterotoksin üretimi için optimum sıcaklık 40-45°C arasında değişmektedir (Erol ve İşeri, 2004).

Rekabetçi Özellik: Stafilokoklar karışık kültürlerde diğer mikroorganizmalar tarafından kolay baskılanır. *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* önemli baskılayıcı bakteriler olarak bildirilmektedir. Bunun yanında *E. coli*, *Pseudomonas*, *Serratia* ve *Aerobacter* türleri de *S. aureus*'un üremesi üzerine baskılayıcı etki gösterirler (Ekici ve ark., 2008).

2.4. Stafilokokal Enterotoksinleri Saptama Yöntemleri

Gıdalarda enterotoksinlerin saptanması, insanlarda hastalık oluşumuna neden olacak düzeyde enterotoksin miktarı ile orantılıdır ve bu miktar 100-200 ng'dır (FDA,

2001). Stafilokokal enterotoksinlerin saptanması üzerine immunolojik ve serolojik birçok analiz yöntemi geliştirilmiştir. İmmunolojik analiz yöntemleri duyarlı ve spesifik olup enterotoksinlerin spesifik olarak identifiye edilmesi esasına dayanır.

Raddioimmunoassay (RIA), kültür filtratları ve gıda ekstraktlarında enterotoksinlerin saptanması için geniş oranda kullanılmaktadır. Bu metot antikor moleküllerin üzerindeki bağlanma bölümlerine, örneklerde işaretlenmemiş bu toksin ile standart radyoaktif işaretlenmiş toksinin yarışması esasına dayanır. Genel olarak hızlı (3-4 saat) ve 1-10 ng/g düzeyinin altında toksinleri saptayabilen bir yöntemdir. Dezavantajları ise non-spesifik reaksiyonlar, yüksek oranda purifiye enterotoksin gerektirmesi, antijenik epitopların işaretlenmesi esnasında mümkün olabilecek advers etkiler, radyoizotopların kısa yarılanma ömrü, radyonulidlerin insan sağlığına zararları ve pahalı saptama cihazlarına gereksinim olması olarak bildirilmektedir (Brett, 2006). Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) veya Enzyme Immuno Assay (EIA) uzun zamanlardan beri antijen ve antikorların saptanmasında kullanılmaktadır. ELISA, RIA'ya benzer olarak duyarlı ve hızlıdır. Enzim aracılığı ile kromojenik substratların katalizlenmesi ve göz ile değerlendirilmesi esasına dayanır ELISA testi için gerekli ekipman birçok laboratuvarında bulunabilir ve enzim-antikor konjugatları aktivitelerini kaybetmeden -20 °C'de uzun bir periyotta saklanabilir (Çırak, 1999; Brett, 2006).

Moleküler teşhis yöntemleri, gelişmekte olan teknolojinin mikrobiyoloji alanında sunduğu önemli yeniliklerden biridir. Moleküler teşhis tekniklerine her geçen gün bir yenisinin eklenmektedir ve bu da farklı amaçlarla yürütülen bilimsel çalışmalara büyük yarar sağlamaktadır. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), moleküler biyoloji ve genetik alanında geniş bir kullanıma sahip olan moleküler teşhis yöntemlerinden birisidir (Adıgüzel ve ark., 2011). PCR, bakteri, virüs, mantar, protozoon ve parazit gibi hastalık etkenlerinin teşhisinde kullanılmasının yanı sıra, mikrobiyal çalışmalar, adli tıp ve genetik hastalıkların tanısında da kullanılmaktadır. *S. aureus*'un identifikasyonunu sağlayan moleküler yöntemlerin çoğu PCR tabanlıdır. Eskiden kullanılan testler ile identifikasyon için amplifikasyon ürünlerinin Southern blotting ile belirlenmesi gerekmekte iken (Brown ve ark., 2005); günümüzde türe spesifik hedef bölgelerin amplifikasyonu için düzenlenmiş, protein genleri gibi hedef bölgeler içeren hedef oligonükleotid çeşitliliği geliştirilmiştir. Koagulaz (*coa*), protein A (*spa*) ve yüzey ilişkili fibrinojen bağlayan protein genleri gibi genler *S. aureus*'un identifikasyonunda

önemli olarak kabul edilmektedir. Bunların dışında termostabil nükleazı kodlayan *nuc* geni (Wilson ve ark., 1991; Brakstad ve ark., 1992), enterotoksin genleri (Johnson ve ark., 1991; Wilson ve ark., 1991; Tsen ve Chen 1992; Becker ve ark., 1998), *tst* geni (şok sendromu) (Johnson ve ark., 1991), exfoliatif toksin A ve B (Johnson ve ark., 1991), 16S-23S rDNA gen bölgesi (Saruta ve ark., 1997) ve 23S rDNA (Straub ve ark., 1999) geni *S.aureus*'un identifikasyonunda hedef alan genler olarak bildirilmektedir. Ticari olarak bulunan real time PCR son yıllarda kullanılmakta olup, hedef DNA'nın kantitasyonunu sağlamaktadır (Hein ve ark., 2001).

2.5. *S. aureus* ve Bulaşma

2.5.1. İnsan

İnsan ve bazı hayvan türlerinde deri ve mukozalarda *S. aureus* kolonileri bulunmaktadır. İnsanlarda birçok bölgede yerleşim gösterirken burun boşlukları *S. aureus*'un en sık rastlandığı bölgedir. Gıda işletmelerinde çalışan personel, gıdaların en önemli kontaminasyon kaynaklarından biridir. Özellikle eğitim düzeyi düşük ve hijyen bilinci gelişmemiş kişiler gıda maddelerine daha yoğun olarak mikroorganizma bulaştırırlar. Bazı insanlar çeşitli hastalıkların taşıyıcısıdır. Bu kişiler doğal bulaştırıcı olarak etkili olurken, bazıları da hastalığı geçirip iyileşmesine rağmen hastalık sonrası belirli dönemlerde hastalığı bulaştırmaya devam ederler (Longree, 1972). Çalışan bir personelin dakikada 10^3 - 10^4 kob seviyesinde mikroorganizma yayabileceği belirtilmektedir (Aran, 1993). Bu personelden gıdalara mikroorganizma bulaşmada 3 ana bölge önemlidir. Bunlar; 1. Deri, 2. Ağız, burun, boğaz, gözler ve kulaklar 3. Sindirim kanalı olarak belirtilmektedir.

Özellikle ağız, burun, boğaz gibi bölgelerin nemli ve ılık olması *S. aureus* gibi patojenlerin üremesinde uygun bir ortamdır. Eğer sinüzitis, grip gibi rahatsızlıklar söz konusuysa *S. aureus* yaygınlığı daha yüksek olur. Personel hijyeni ile ilgili bir çalışmada Kaya ve Metintaş (1995) gıda işlerinde çalışan 181 kişide burun ve boğaz bölgelerinden *S. aureus* izole etmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada gıda ile ilgili işlerde çalışan kişilerde burun deliklerinde enterotoksijenik *S. aureus* taşıdığı belirlenmiştir. Bu kişilerden izole edilen 207 suşun 55'i (%26,6) A (SEA), B (SEB), C (SEC), D (SED) veya E (SEE) tipi stafilokokkal enterotoksin üretilmiştir. 18 suş (%8.7) SEA üretirken, 14 suş (%6.8) SEC, 13 suş (%6.3) SED, 9 suş (%4.3) ise SEB ve SEE

oluşturmuştur. Bu sonuçlar ile tüketiciler risk altında olduğu vurgulanmıştır (Adesiyun, 1986).

S. aureus burun yolu ile taşınması ve stafilokokal hastalıklarla ilişkili ilk rapor 1931 yılında Danbolt tarafından bildirilmiştir (Wertheim ve ark., 2005). Burun yolu ile taşınan *S. aureus* ile enfeksiyonlar arasında ilişki burunda izole edilen *S. aureus* zincirleri ile enfeksiyonda izole edilen zincirle aynı faj ya da genotipe sahip olması ile belirlenmiştir.

S. aureus ve nazal taşıyıcılık ile ilgili yapılan birçok çalışmalarda, tek nasal kültürde kesitsel çalışmalarda taşıyıcı olup olmadığı araştırılmıştır. Bununla beraber *S. aureus* taşıyıcılığı persistent, intermitent taşıyıcılık ve taşımayanlar olarak 3 gruba ayrılmıştır. Bazı çalışmalarda ise persistent ve intermitent olarak ayırım yapmıştır. Bu ayırımı yapmanın önemi olarak persistent taşıyıcıların *S. aureus*'u yüksek miktarda taşıması ve enfeksiyon oluşturma riskinin arttığı belirlenmiştir (Wertheim ve ark., 2005).

S. aureus'un burun yolu ile taşınma mekanizması çok çeşitlidir. Yapılan bir çalışmada gönüllü katılımcılara *S. aureus* inoküle edildikten sonra hiç taşımamış olanlarda hemen elemine edilirken, persistent taşıyıcılar orijinal burunda bulunan zincirleri seçip diğerleri elemine olduğu belirlenmiştir (Nouwen ve ark., 2004).

Bir insanın nasal taşıyıcı olabilmesi için gerekli dört önkoşul bulunmaktadır: 1- burun mukozasının *S. aureus* ile temas halinde olmalıdır, 2- nasal hücrelerde bulunan reseptörlere bağlanması gereklidir, 3- *S. aureus* immun sistem engelini aşması gerekmektedir, 4- *S. aureus* üremeye başlaması gerekmektedir (Wertheim ve ark., 2005).

S. aureus'un burun yolu ile taşınması yaş, sağlık durumu, ekonomik yapı ve ülkelere göre değişiklik gösterse de, bu faktörlerle sınırlı kalmayan global bir olaydır. Amerika Birleşik Devletleri'nde insanların % 26-32'sinde *S. aureus* taşıyıcılığı saptanmıştır (Sivaraman ve ark., 2009). Bu verilerin yanısıra Türkiye ve Malezya'da ise bu oranların sırasıyla % 10 ve % 25 olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda burun yolu ile *S. aureus* taşınması, geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerde gelişmiş ülkelere göre daha fazla olduğu anlaşılmıştır. Bunun nedeni olarak ise gelişmiş ülkelerde personel hijyeninin üst düzeyde olması ve patojenlerle karşılaşma oranının çok düşük

olması sonucunda test edilen subjelerde patojen temizliğinin azalması ile ilişkilendirilmiştir (Al-Rawahi ve ark., 2008).

2.5.2. Mezbahalar

Üzerinde *S. aureus* bulunan hayvanların kesim sırasında bulaşma olasılığı yüksektir. Hayvanların kesimi sonrasında hayvan derisi ile *S. aureus* çevreyede yayılabilmektedir. Kontamine veya enfekte olan mezbaha çalışanları da etken bulaştırmada etkili olmaktadır. Bunlara ek olarak enfekte etlerde kullanılan aletlerin sağlıklı etler işlenirken kullanılmasında bir başka bulaşma yoludur (Wendlandt, 2013).

2.5.3. Gıda İşletmelerinde Çalışma Giysileri

Çalışanların giysileri en önemli kontaminasyon kaynağıdır. Temiz çalışma giysileri çok az sayıda mikroorganizma içerirken, kullanıma bağlı olarak kontamine olabilmektedirler. Bunun sonucunda da önemli bir kontaminasyon aracı haline gelirler. Yassien (1992), gıda servisi veren kurumlarda yaptığı araştırmada incelenen çalışma giysilerinde koliform ve fekal koliform bakterilerle birlikte *E. coli* izole ettiğini bildirmiştir.

2.6. Gıda İşletmelerinde Kullanılan Malzemeler

Gıda üretiminde kullanılan ekipmanların üretildiği malzeme, tasarımı ve yerleştiriliş şekli gıda hijyeninin, kalitesinin ve çalışanların güvenliğinin sağlanması açısından büyük önem taşır. Bu ekipmanların taşınması gereken özellikler ulusal ya da uluslararası standartlara uygun olmalıdır. Kullanım amacına uygun olmanın yanı sıra, gıdalarla temas eden ekipmanlar toksik madde içermemeli ve tasarımları etkin temizlik ve dezenfeksiyona uygun olmalıdır. Ekipmanlarda ulaşılması zor girintilerin olmaması, köşe ve kenarların yuvarlatılmış olması, temizlik ve dezenfeksiyonda kullanılan solüsyonların gıda ile teması olan her noktaya rahatlıkla ulaşılabilmesi gerekir (de Jonge ve ark., 2010).

2.7. İşletme ve Ekipmanların Temizlik ve Dezenfeksiyonu

Gıda hijyeninin sağlanmasında işletmenin ve ekipmanların temizlik ve dezenfeksiyonu büyük öneme sahiptir. İşletmelerin üretim sırasında ve sonunda uygulanması gereken temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerini yazılı talimatlar haline getirmesi, bu işlemlerden sorumlu personelin eğitilmesi, temizlik ve dezenfeksiyon için

gerekli ekipman ve sarf malzemelerini temin etmesi gerekir. Temizlik ve dezenfeksiyon işlemleri gıda ile temas eden tüm ekipman yüzeylerini, zemini ve duvarları kapsamalıdır. Gıda ile temas ettikten sonra ekipmanların yüzeyinde kalan organik maddeler (protein, yağ, karbonhidrat), inorganik maddeler (mineral maddeler, tuzlar) ve mikroorganizmalardan oluşan kalıntıya “kir” denir. İşletmelerde üretim bittikten sonra bu yüzeylerin bir sonraki kullanıma hazır hale getirilmesi için önce temizliğinin yapılması sonra dezenfekte edilerek mikroorganizmalardan arındırılması gerekir (Aksu, 1999)

Weese ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmada *S. aureus* bulaşmasında kesimhanelerde ya da et işleme tesislerinde insanların etkili olduğu bildirilmiştir. Botswana’da 200 gıda çalışanında yapılan araştırmada 115 kişide *S. aureus* tespit edilmiştir (Loeto ve ark., 2007).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Örneklerin Toplanması

Bu çalışmada Samsun ilinde faaliyet gösteren 9 adet gıda işletmeleri Ocak 2012-Temmuz 2012/Ağustos 2012-Şubat 2013 tarihleri arasında 2 kez ziyaret edilmek sureti ile örnekler alındı. Bu işletmelerde çalışan kadın (30) ve erkek (70) personelin burun florasında Enterotoksijenik *S.aureus*’ların belirlenmesi için toplam 100 adet burun svap örneği alındı (Tablo 1). Örneklerin alınmasında steril pamuklu svaplar kullanıldı. Steril pamuklu svaplar personelin her iki burun deliğinin ön kısmına, septum mukozasına 10-15 sn süre ile nazıkçe sağa ve sola doğru çevrilerek sürülmesi suretiyle alındı. Daha sonra svapların pamuklu uç kısımları, içerisinde 9 ml 0.1’lik steril peptonlu su bulunan tüplere kırılmak suretiyle aktarıldı. Tüm örnekler en kısa süre içerisinde soğuk zincir altında laboratuvara getirilerek, izolasyon amacıyla işleme alındı (Bankolé ve ark., 2012)

Tablo 1. İşletmelere göre örnek alınan personel sayısı (n: İşletme sayısı)

	Erkek	Kadın
Et İşletmesi (n=4)	23	10
Süt İşletmesi (n=3)	32	16
Yemekhane (n=2)	15	4
Toplam (n=9)	70	30

3.1.2. Örneklerde Enterotoksijenik *S. aureus* Suşlarının Belirlenmesinde Kullanılan Kitler, Kimyasallar ve Hazırlanışları

Peptone Water (%0,8'lik): 8gr pepton ve 8,5g NaCl tartılarak, 1000ml distile suda çözündürüldü, pH değeri 7.0 ± 0.2 olarak ayarlandı ve su banyosunda 95°C 'de eritildi. Cam tüplere 9'ar ml konularak otoklavda 121°C 'de 15 dk steril edildi. Tamamen soğutulduktan sonra 4°C 'de muhafaza edildi.

Baird-Parker Agar (BPA, Merck): Besiyerinden 63g tartıldı ve 1000ml distile suda çözündürüldü, pH değeri 6.8 ± 0.2 olarak ayarlandı ve su banyosunda 95°C 'de eritildi. Daha sonra besiyeri otoklavda 121°C 'de 15 dk steril edildi. Otoklavdan çıkan besiyeri 45°C 'ye kadar soğutuldu ve manyetik karıştırıcıda yavaşça karıştırılırken üzerine önceden oda sıcaklığına getirilmiş 50ml yumurta sarısı – tellurit emülsiyonu ilave edildi. Steril plastik petrilere döküldü ve 4°C 'de muhafaza edildi.

Tryptone Soya Agar (TSA Merck): Besiyerinden 40g tartıldı ve 1000ml distile suda çözündürüldü, pH değeri 7.3 ± 0.2 olarak ayarlandı ve su banyosunda 95°C 'de eritildi. Daha sonra besiyeri otoklavda 121°C 'de 15 dk steril edildi. Otoklavdan çıkan besiyeri 50°C 'ye kadar soğutuldu. Steril plastik petrilere döküldü ve 4°C 'de muhafaza edildi.

Brain Hearth InfusionBroth (BHIB, Merck): Besiyerinden 37g tartıldı ve 1000ml distile suda çözündürüldü, pH değeri 7.4 ± 0.2 olarak ayarlandı ve cam tüplere 10'ar ml konularak otoklavda 121°C 'de 15 dk steril edildi. Tamamen soğutulduktan sonra 4°C 'de muhafaza edildi.

Liyofilize Tavşan Plazması (Bactident Coagulase, Merck 1.13306): EDTA ilave edilmiş liyofilize tavşan plazmasıdır. Steril distile su ile sulandırılarak kullanıldı.

Koyun Kanlı Agar (%5, Salubris, Türkiye): Steril %5'lik koyun kanlı agar satın alındı ve son kullanma tarihine kadar 4°C'de muhafaza edilerek kullanıldı.

Hidrojen Peroksit (H₂O₂) (Merck, 8597): Ticari %30'luk H₂O₂'den 3ml alındı ve 27ml distile su ile karıştırıldı ve %3'lük H₂O₂ solüsyonu elde edildi.

Purple Broth Base (Diagnostic BD 211558): Besiyerinden 15.02 g tartıldı ve 1lt distile suda çözüldürüldü. pH 6.8 ± 0.2'e ayarlandıktan sonra cam tüplere 9'ar mL paylaştırıldı ve otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildikten sonra soğutuldu ve 4°C'de muhafaza edildi.

Mannitol Solüsyonu (Merk, 5980): Mannitol'dan 0.5g tartılarak, 100ml distile su içinde %0.5 oranında hazırlandı. Hazırlanan bu solüsyonlar 0.45µm por genişliğine sahip selüloz asetat enjektör ucu ile filtre edildi. Daha sonra bu solüsyon 9ml PBS içeren cam tüplere 1 ml ilave edildi.

Glikoz Solüsyonu (Sigma 158968): Glikoz şekerinden 0.5g tartılarak 100ml distile su içinde %0.5 oranında hazırlandı. Hazırlanan bu solüsyonlar 0.45µm por genişliğine sahip selüloz asetat enjektör ucu ile filtre edildi. Daha sonra bu solüsyon 9ml PBS içeren cam tüplere 1 ml ilave edildi.

Staphytec (Oxoid DR 850): Biyokimyasal testler sonucunda *S. aureus* olduğu düşünülen izolatların doğrulanmasında kullanıldı

Lizostafin (Sigma, L7386, St. Louis, MO, USA): 100mg/ml

Proteinase K (Sigma, P6556): 100 mg/ml

Tris HCl (Mermert, Germany): 0,1 M, pH 7,5

Taq DNA Polymerase (Sigma, D4545)

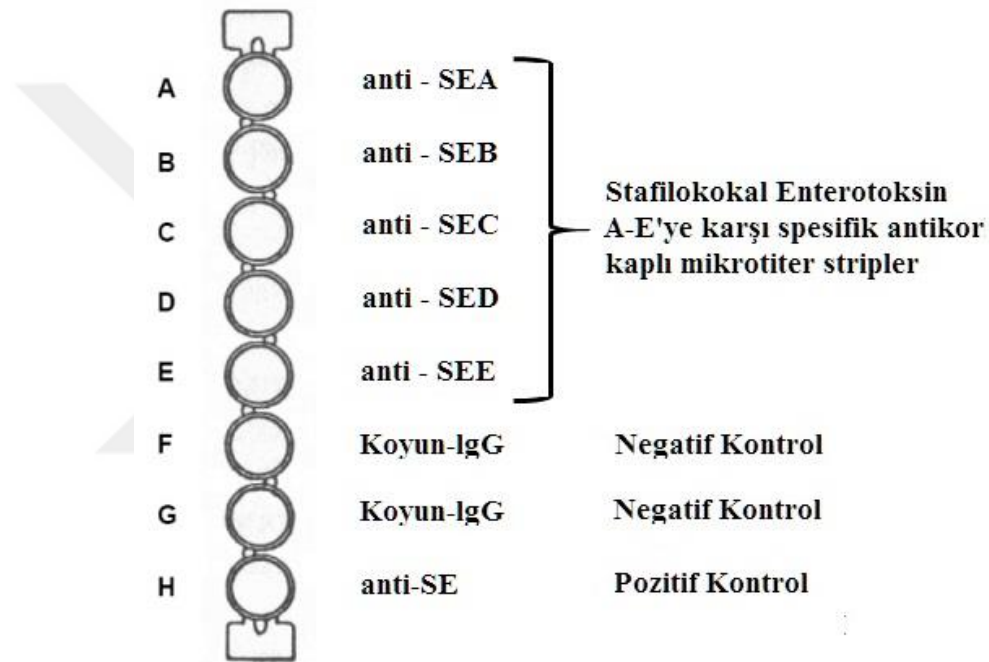
dNTP Mix (Sigma, D7295)

TBE Solüsyonu (Gibco 10X TBE, 15581-044, NY-USA): 10X konstantrasyonda olan buffer solüsyonundan 100ml alınarak 1lt'ye tamamlandı ve analizler için 1X konstantrasyonda kullanıldı.

Etidium Bromide (Gene Choice, Applichem A1152, 10 mg/ml, GmbH): Kullanıma hazır olarak temin dilen Etidium Bromide solüsyonundan 100ml agaroz için 6µl alındı ve agaroz içine karıştırıldı.

Agarose (Sigma, A9539): Temiz bir erlen mayer içerisine 1.5 g agaroz tartıldı ve 100ml 1X TBE ile sulandırıldı. Daha sonra mikrodalga fırında eritildi ve 50°C'ye kadar soğutulmuş içerisinde 6µl Etidium Bromide eklendi. Son olarak elektroforez küvetine dökülerek soğuması için bekletildi.

Ridascreen Set A, B, C, D, E (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany. Art. No:R4101): Test kitinin düzeneği Şekil 1.'de verilmiştir. *S. aureus* izolatlarının enterotoksin oluşturma yeteneğinin ELISA tekniği ile belirlenmesi 3.2.4. bölümünde açıklanmıştır.



Şekil 1. Ridascreen ticari test kitinin düzeneği.

3.2. Metot

3.2.1. Örneklerden *S. aureus* İzolasyonu

Labaratuvara getirilen örneklerden *S. aureus* izolasyonu ve identifikasyonunda izlenen yol Şekil 2'de verilmiştir. Buna göre laboratuvara getirilen örnekler ilk önce vortekslenmek suretiyle homojen hale getirildi ve tüplerden 0.1ml alınarak BPA'ya yayma plak yöntemiyle ekimleri yapıldı. Plaklar 37°C'de 24-48 saat süre ile aerob ortamda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında üreme saptanan plaklarda üreyen şüpheli tipik (siyah, koyu kahverengi, konveks, kenarları düzgün ve lesitinaz pozitif)

ve/veya atipik kolonilerden örnekleme yoluyla 5 kadar koloni seçilerek, TSA'ya alındı. 37°C'de 24 saat aerob ortamda inkübe edildi (ISO 6888-1).

3.2.2. *S. aureus*'un Fenotipik İdentifikasyonu

Koagulaz pozitif stafilocokların saptanması için katı besiyerlerindeki izolatlar BHIB'lara geçilerek 24 saat 37°C'de aerob ortamda inkübasyona bırakıldı. Liyofilize tavşan plazması 3 ml steril distile su ile rehidratize edildikten sonra, steril koagulasyon tüplerine plazma konularak üzerine BHIB'da üremiş olan kültür süspansiyonundan ilave edildi. Tüpler 37°C'de inkübasyona bırakıldı ve ilk 6 saat boyunca her saat koagulasyonun saptanması amacıyla kontrol edildi. Test sonucunda 3+ ve 4+ reaksiyon veren izolatlar koagulaz pozitif stafilocoklar olarak değerlendirildi. Koagulaz pozitif olarak değerlendirilen stafilocoklardan katalaz test için TSA'da üreyen kolonilerden 1-2 tane temiz bir lam üzerine alındı ve üzerine 2-3 damla %3'lük H₂O₂ damlatıldı. Sonrasında 1-2 sn içinde oluşan köpürme ve gaz çıkışı katalaz pozitif olarak değerlendirildi.

İzolatların mikroskopik muayenesi için gram boyama yapıldı. TSA besiyerinde üreyen kolonilerden 1-2 tane alkol ile temizlenmiş bir lam üzerine alındı. Daha sonra steril fizyolojik tuzlu su ile homojen hale getirilerek lam üzerine yayıldı. Oda sıcaklığında kurutulduktan sonra üç defa alevden geçirilerek tesbit edildi. Preparatlar sırasıyla 30 sn Kristal Viyole, 45 sn Lugol İyot, 30 sn alkol ve 30 sn Sulu Fuksin ile muamele edilerek kurutuldu. Hazırlanan preparatlar Olympus (CX 21) mikroskop ile 100X büyütmede immersiyon yağı ile incelendi. Mikroskopik bakım sonucunda mor renkli kok formunda olan bakteriler *Staphylococcus spp.* şüpheli olarak değerlendirildi.

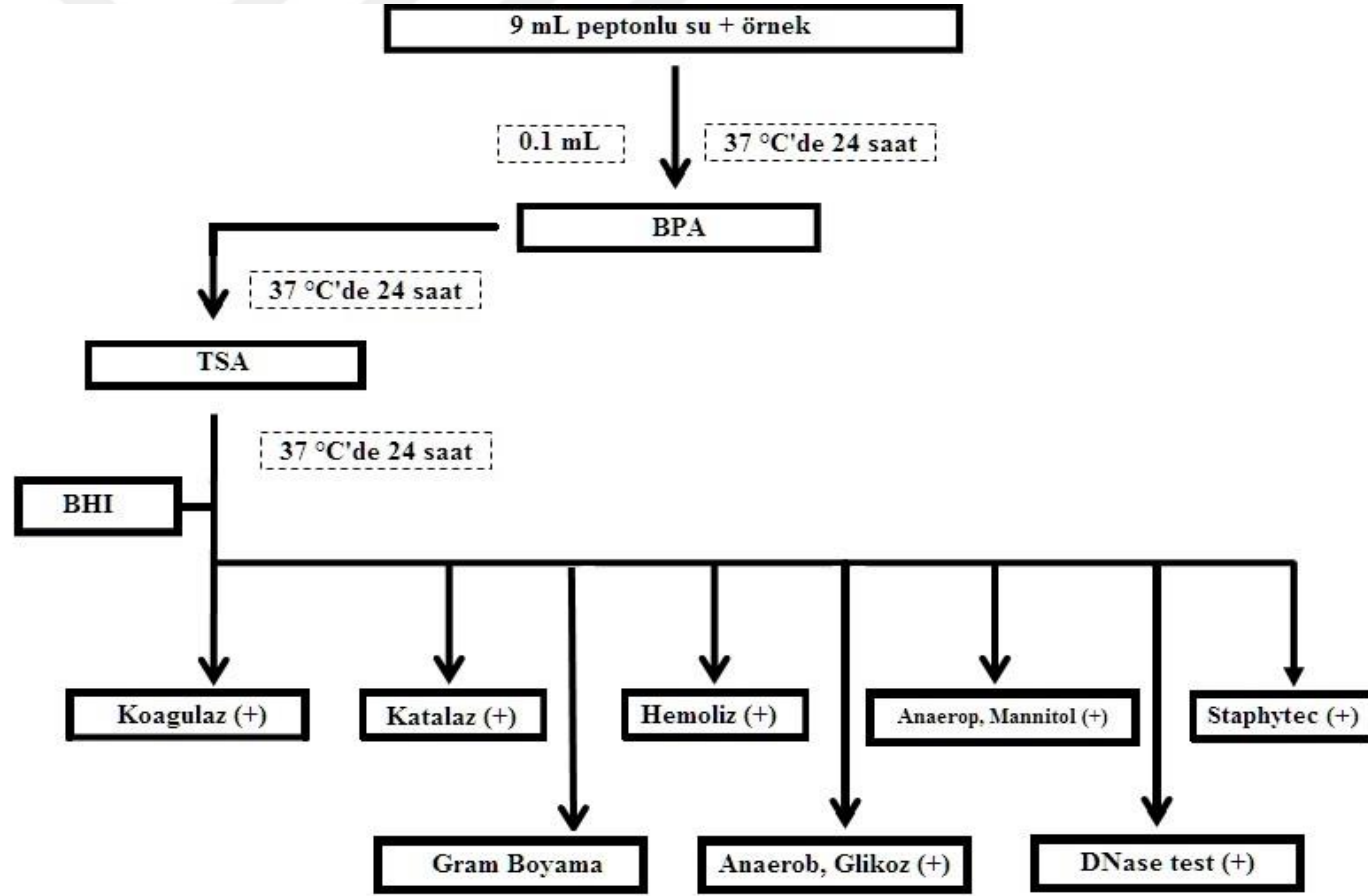
İzolatların makroskopik olarak değerlendirilmesi amacıyla %5'lik koyun kanı içeren kanlı agarda hemoliz özellikleri incelendi. TSA'da üreyen şüpheli *S. aureus* kolonilerinin tür ayrımları için % 5'lik koyun kanlı agara standart şuş (*S. aureus* ATCC 46300) ile birbirlerine paralel olarak ekimi yapıldı. Besiyeri 35°C'de 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda *S. aureus*'a doğru hafif genişleyen dar bir hemoliz bandının oluşumu pozitif kabul edildi ve *S. aureus* şüpheli olarak nitelendirildi. Ayrıca kanlı agarda oluşan β -hemoliz alanları da incelendi.

İzolatların DNase enzimi sentezleme özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan DNase testi için DNase Test Agar (Merck1.10449) kullanıldı. Şüpheli *S.*

aureus kolonilerinden yapılan standart ekimden ve inkübasyondan sonra besiyeri 1N HCl (Merck1.00317) asit ile kaplandığında DNase pozitif olan kolonilerin etrafında oluşan berrak zonlar değerlendirildi.

İzolatların karbonhidrat fermentasyon özelliklerinin tespit edilmesi amacıyla anaerob glikoz ve mannitol şeker testleri gerçekleştirildi. Glikozun anaerobik kullanım testi için steril tüplerde %0.5'lik glikoz ve mannitol içeren Purple Broth Base (Oxoid CM1013) hazırlandı. Şüpheli *S. aureus* kolonilerinden öze ile yapılan ekimlerden sonra üzerleri 25mm kalınlığında steril sıvı parafin ile kaplanarak 37°C'de inkübasyona alındı. *S. aureus* varlığı inkübasyon süresi sonunda tüpte anaerobik koşullarda asit üretimine bağlı olarak sarı renk oluşumu ile gözlemlendi.

Biyokimyasal testler sonucunda *S.aureus* olduğu düşünülen izolatların identifikasyonlarının doğrulanması amacıyla Staphytec (Oxoid DR 850) kullanıldı. (Baumgart ,1997; Lancette ve Tatini, 1992; Bridson, 2008).



Şekil 2. *S. aureus*'un izolasyonu ve tanımlama şeması

3.2.3. *S. aureus* izolatlarının PCR ile Doğrulanması

Çalışmada biyokimyasal testler sonucu *S. aureus* olarak tanımlanan veya şüpheli olarak tespit edilen izolatların PCR ile doğrulanması Brakstad ve ark. (1992) ile Maes ve ark. (2002)'nin bildirdikleri yöntemlere göre yapıldı. Çalışmada *Staphylococcus* spp. spesifik 16SrRNA ve *S. aureus* spesifik *nuc* geni için aşağıda belirtilen oligonükleotid primerler kullanıldı (Tablo 2). Çalışmada pozitif kontrol olarak *S. aureus* ATCC 46300, negatif kontrol olarak ise *E. coli* ATCC 25922 referans suşları kullanıldı.

Tablo 2. Kullanılan primer dizileri

Primer	Oligonükleotid dizisi	Amplikon büyüklüğü
Nuc-F	5'- AGCCAAGCCTTGACGAACTAA -3'	279 bp
Nuc-R	5'- GCGATTGATGGTGATACGGTT -3'	
16S rRNA-F	5'- AACTCTTATTAGGGAAGAACA -3'	756 bp
16S rRNA-R	5'- CCACCTTCCTCCGGTTTGTCACC -3'	

Çalışmada kullanılan izolatların DNA ekstraksiyonu Ünal ve ark. (1992)'nin belirlediği yöntem ile yapıldı. DNA ekstraksiyonu için, izolatlar BHIB bulunan tüplerde süspansiyon edildi. 37°C'de 18-24 saat aerob koşullarda inkübasyona bırakıldı. Sıvı kültürden 0,1ml eppendorf tüpüne alındı ve 16 000 g'de 30 sn santrifüj edildi. Daha sonra süpernatant atılarak dipte kalan tortu 50µl lizostafin (100µg/ml) içerisinde süspansiyon edildi. Elde edilen süspansiyon 37°C'de 10 dk inkübasyona bırakıldıktan sonra hücre süspansiyonuna 50µl proteinaz K (100µg/ml) ve 150µl buffer solüsyonu (0.1 M Tris, pH 7.5) ilave edildi. Tekrar 37°C'de 10 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından tüpler kaynar su banyosunda 5 dk tutuldu ve bu işlemin sonunda hemen buz üzerine alınan örnek, DNA olarak -20°C'de muhafaza edildi.

Amplifikasyon amacıyla PCR karışımı hazırlandı. PCR karışımı toplam 5µl hacimde 1X PCR Buffer, 2mM MgCl₂, 0.25mM dNTP, 2.5U Taq-Polymerase, 0.6µM 16S rRNA primerleri, 0.4µM *nuc* primerleri, ve 5µl DNA olacak şekilde hazırlandı. PCR amplifikasyonu Thermal Cycler'da (Bio-Rad MJ mini Gradient CA - USA) 94°C'de 5 dk ön denatürasyonu takiben, 35 siklus 94°C'de 2 dk denatürasyon, 54°C'de 2 dk annealing (primer bağlanması) ve 72°C'de 1 dk ekstensiyon (uzama) ve 72°C'de 7 dk son uzama şartlarında gerçekleştirildi (Maes, 1992).

Elde edilen amplikonların elektroforez işlemi %2'lik agaroz içinde 90 volt akımda gerçekleştirildi. Elektroforez işlemi Bio-Rad PowerPac Basic Power Supply (CA-USA) güç kaynağı ve Bio-Rad Wide Mini Sub-Cell GT Cell (CA-USA) elektroforez tankında gerçekleştirildi. Elektroforez sonunda oluşan PCR ürünleri UV transilluminatör ile görüntülendi ve *nuc* geni için 279 bp ve 16S rRNA geni için de 756 bp'lik bantların görülmesi pozitif olarak değerlendirildi.

3.2.4. *S. aureus* izolatlarında bazı toksin tiplerinin ELISA tekniği ile belirlenmesi

İzolatların enterotoksin oluşturma yeteneği Ridascreen Set A, B, C, D, E (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany. Art. No: R4101) test kiti kullanılarak, kitte belirtilen yöntem uygun olarak yapıldı (Küplülü ve ark., 2002). Bu kapsamda aşağıda belirtilen işlemler sırasıyla uygulanmıştır:

1. Yatık TSA üzerinden alınan koloniler, içerisinde 10 ml Brain Heart Infusion Broth (Oxoid CM0225) bulunan tüplerde süspanse edilerek, sıvı kültür 37°C'de 18-24 saat aerob koşullarda inkübasyona bırakıldı.

2. Kültür solüsyonu 15°C'de 3500 g'de 5 dk süre ile santrifüj edildi ve por çapı 0,2µM olan steril filitreden süzülerek filitratlar elde edildi.

3. 12 örneğin analiz edilmesine uygun olarak tasarlanmış olan 96 kuyucuktan oluşan test kiti kullanıldı. Her sırası bir izolat için kullanılan mikrotiter pleytin A-G'ye kadar olan kuyucuklarına her bir izolata ait filtrattan 100µl ve H kuyucuğuna 100µl pozitif kontrol solüsyonundan konuldu. Daha sonra pleyt manuel olarak dikkatli bir şekilde sallanarak karıştırıldı ve oda sıcaklığında 24°C'de 1saat inkübasyona bırakıldı.

4. Kuyucuklardaki süspansiyonlar tekniğine uygun olarak boşaltıldı ve daha sonra her kuyucuk 300µl yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı. Kuyucukların yıkama solüsyonu ile yıkanması işlemi 4 kez tekrar edildi.

5. Her kuyucuğa 100µl enzim konjugat 1 ilave edildi ve pleyt manuel olarak dikkatli bir şekilde sallanarak karıştırıldı. Oda sıcaklığında 24°C'de 1saat inkübasyona bırakıldı. Kuyucuklardaki sıvılar tekniğine uygun olarak döküldü ve daha sonra her kuyucuk 300µl yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı. Kuyucukların yıkama solüsyonu ile yıkanması işlemi 4 kez tekrar edildi.

6. Her kuyucuğa 100µl enzim konjugat 2 ilave edildi ve pleyt manuel olarak dikkatli bir şekilde sallanarak karıştırıldı. Oda sıcaklığında 24°C’de 30 dk inkübasyona bırakıldı. Kuyucuklardaki sıvılar tekniğine uygun olarak boşaltıldı ve sonrasında her kuyucuk 300µl yıkama solüsyonu kullanılarak yıkandı. Kuyucukların yıkama solüsyonu ile yıkanması işlemi 4 kez tekrar edildi.

7. Her kuyucuğa 100µl kromojen (substrat) ilave edildi ve pleyt manuel olarak dikkatli bir şekilde sallanarak karıştırıldı. Karanlık ortamda oda sıcaklığında 24°C’de 15 dk inkübasyona bırakıldı.

8. Inkübasyon sonrasında her kuyucuğa 100 µl stop solüsyon ilave edildi ve pleyt manuel olarak dikkatli bir şekilde sallanarak karıştırıldı. Stop solüsyonu ilave ettikten sonra 450nm absorbans değerinde ELISA (Infinite F50, Tecan, Switzerland) cihazında değerlendirildi.

Analizin yapılışı sırasında sınır değerinin belirlenmesi için negatif kontrol F ve G kuvvetlerin Optik Değeri (OD) ortalaması alındı ve bu değere 0.15 eklenerek sınır değer bulundu. Pozitif kontrollerin OD’leri ≥ 1 olduğunda sonuçlar pozitif olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. *S. aureus* İzolatlarının Konvansiyonel İdentifikasyonu

Konvansiyonel mikrobiyolojik analizler sonucunda dört farklı et işletmesinde çalışan 23 erkek personelin 17’sinden (%74), 10 kadın personelin 2’sinden (%20), üç farklı süt işletmesinde çalışan 32 erkek personelin 8’inden (%25), 16 kadın personelin 4’ünden (%25), iki farklı yemekhanede çalışan 15 erkek personelin 6’sından (%40), 4 kadın personelin 1’inden (%25) *S. aureus* izole ve identifiye edildi. Sonuç olarak çalışmada örnekleme yapılan toplam 100 personelin 38’inde *S. aureus* saptandı.

Elde edilen *S. aureus* izolatlarının örnekleme yapılan personelin cinsiyetine göre dağılımı incelendiğinde, et işletmesinde çalışan 17 erkek personelden 46, 2 kadın personelden 6, süt işletmesinde çalışan 8 erkek personelden 15, 4 kadın personelden 5, yemekhanede çalışan 6 erkek personelden 18, 1 kadın personelden 1 *S. aureus* izolatının saptandı. Sonuç olarak örnekleme yapılan tüm işletmelerde çalışılan toplam 38 personelden 91 *S. aureus* izolatı elde edildi (Tablo 3).

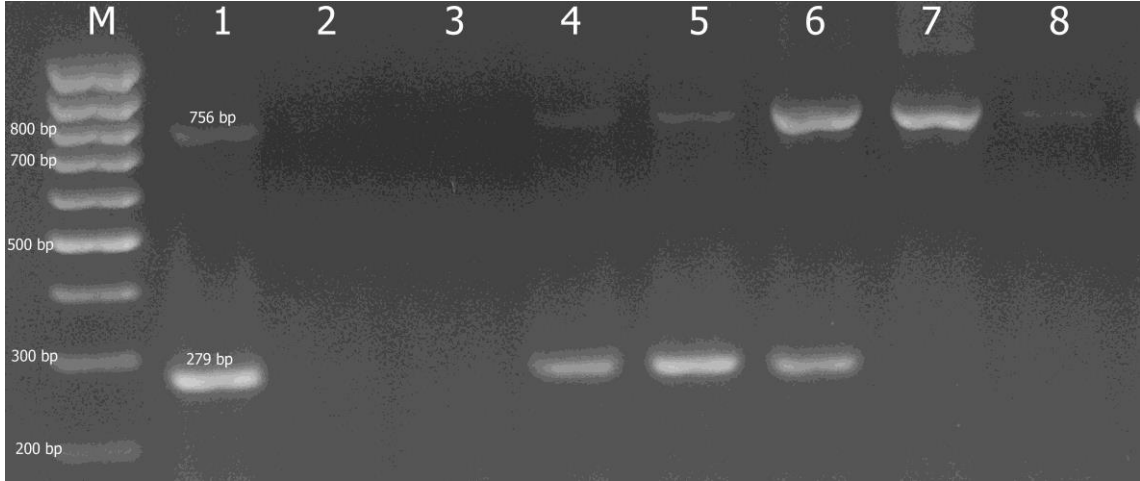
Tablo 3. Gıda işletmelerinde çalışan personelde bulunan *Staphylococcus spp.* ve *S. aureus* türü bakterilerin izolat bazında dağılımı

İşletme Tipi	Erkek				Kadın			
	<i>Staphylococcus spp.</i>		<i>S. aureus</i> *		<i>Staphylococcus spp.</i>		<i>S. aureus</i> *	
	Kişi	İzolat	Kişi	İzolat	Kişi	İzolat	Kişi	İzolat
Et işletmesi (n:4)	23	115	17	46	10	50	2	6
Süt işletmesi (n:3)	32	160	8	15	16	80	4	5
Yemekhane (n:2)	15	75	6	18	4	20	1	1
TOPLAM (n:9)	70	350	31	79	30	150	7	12

*(koagülaz +, DNase +, Şeker testleri +, Staphitect Plus +)

4.2. *S. aureus* İzolatlarının Moleküler İdentifikasyonu

Çalışma kapsamında konvensiyonel yöntemler ile *S. aureus* olarak identifiye edilen izolatların moleküler olarak doğrulaması amacı ile *S. aureus* spesifik *nuc* geni ve *Staphylococcus spp.* spesifik 16S rRNA geni varlığı PCR yöntemi ile araştırıldı. PCR sonucunda 279 bp'deki bantlar *nuc* geni 756 bp'deki bantlar 16S rRNA geni pozitif olarak kabul edildi (Şekil 3). Yapılan konvensiyonel analizler sonucunda 38 kişiden elde edilen toplam 91 izolattan PCR yöntemi ile 36 (%94) kişiden 79 (%86) izolatın *S. aureus nuc* genine sahip olduğu belirlendi ve bu izolatlar *S. aureus* olarak doğrulandı (Tablo 4,5). Ayrıca konvensiyonel olarak *S. aureus* olarak identifiye edilen tüm izolatların 16S rRNA geni'ne sahip oldukları belirlendi.



Şekil 3. 16S rDNA gen bölgesinin ve *nuc* geninin PCR’da belirlenmesi. M: 100 bp DNA ladder, 1: Pozitif kontrol, (*S. aureus* ATCC 43300), 2: Negatif kontrol (*E. coli* ATCC 25922), 3: 16s RNA ve *nuc* negatif izolat, 4-6: 16s RNA ve *nuc* pozitif *S.aureus* izolatları, 7-8: 16s RNA pozitif ve *nuc* negatif *Staphylococcus* spp. izolatları.

Tablo 4. Gıda işletmelerinde Fenotipik ve Genotipik olarak tespit edilen *Staphylococcus* spp. ve *S. aureus* türlerinin kişilere göre dağılımı.

	Fenotipik İdentifikasyon		Genotipik İdentifikasyon (<i>nuc</i> geni +)	
	Kişi (Erkek)	Kişi (Kadın)	Kişi (Erkek)	Kişi (Kadın)
Et işletmesi (n=4)	17	2	17	2
Süt işletmesi (n=3)	8	4	8	4
Yemekhane (n=2)	6	1	5	0
Toplam (n=9)	31	7	30	6

Tablo 5. Gıda işletmelerinde çalışan erkek ve kadın personelden tespit edilen *Staphylococcus* spp. ve *S. aureus* türü bakterilerin PCR yöntemi ile belirlenmesi

	Fenotipik İdentifikasyon		Genotipik İdentifikasyon (<i>nuc</i> geni +)	
	İzolat (Erkek)	İzolat (Kadın)	İzolat (Erkek)	İzolat (Kadın)
Et işletmesi (n=4)	46	6	44	4
Süt işletmesi (n=3)	15	5	13	5
Yemekhane (n=2)	18	1	13	0
Toplam (n=9)	79	12	70	9

4.3. *S. aureus* izolatlarında bazı toksin tiplerinin ELİSA ile belirlenmesi

PCR ile doğrulanan *S. aureus* izolatlarının enterotoksin oluşturma yeteneğini ELISA ile Ridascreen Set A, B, C, D, E (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany. Art. No: R4101) test kiti kullanılarak, üretici firma tarafından belirtilen yöntemle uygun olarak belirlendi (Küplülü ve ark., 2002). Çalışmada moleküler yöntemler 36 kişide *S. aureus* pozitif bulundu (Tablo 6). Bu kişilerden toplam 79 *S. aureus* izolatı elde edildi. Enterotoksin analizi sonucu 18 personel izole edilen 33 izolatın enterotoksin oluşturma yeteneğine sahip olduğu belirlendi. Baskın enterotoksin tiplerinin sırasıyla A (17 izolat), B (14 izolat) ve E (14 izolat) tipleri olduğu belirlendi. Ayrıca tüm işletmelerde çalışan kadın personelden elde edilen izolatların enterotoksin üretme yeteneğine sahip olmadıkları belirlendi (Tablo 7). Çalışma kapsamında *S. aureus* saptanan personel sayısının ve Enterotoksijenik *S. aureus* izolatlarının işletmelere göre dağılımı Tablo 8’de verildi. Et işletmesi ve yemekhanede bulaşma oranlarının yüksek olması *S. aureus*’un ubiquiter olduğu tezini doğrulamaktadır.

Tablo 6. Örnekleme yapılan işletmelerde *S. aureus* saptanan personel sayısı ve Enterotoksijenik *S. aureus* dağılımı

		Personel Sayısı	Konvansiyonel olarak <i>S.aureus</i> saptanan personel sayısı (%)	Moleküler olarak <i>S.aureus</i> saptanan personel sayısı (%)	ELİSA (%)*
Et İşletme (n:4)	E	23	17(74)	17(74)	10(43)
	K	10	2(20)	2(20)	0
Süt İşletme (n: 4)	E	32	8(25)	8(25)	4(12.5)
	K	16	4(25)	4(25)	0
Yemekhane (n: 2)	E	15	6(40)	5(33)	4(26)
	K	4	1(25)	0(0)	0
Toplam Erkek	E	70	31(45)	30(42)	18(25,7)
Toplam Kadın	K	30	7(23)	6(20)	0
Genel Toplam		100	38	36	18

*: Enterotoksijenik suş taşıyıcı kişi sayısı

Tablo 7. Stafilokokal Enterotoksin tiplerinin dağılımı

	Cinsiyet	Staphylococcus spp.	S. aureus	PCR	ELİSA					
		İzolot Sayısı	İzolot Sayısı	İzolot Sayısı	Enterotoksin İçeren Toplam İzolat Sayısı	Enterotoksin A İçeren İzolat Sayısı	Enterotoksin B İçeren İzolat Sayısı	Enterotoksin C İçeren İzolat Sayısı	Enterotoksin D İçeren İzolat Sayısı	Enterotoksin E İçeren İzolat Sayısı
Et işletmesi (n=4)	E	115	46	44	20	13	5	-	5	10
	K	50	6	4	-	-	-	-	-	-
Süt işletmesi (n=4)	E	160	15	13	6	2	5	1	-	1
	K	80	5	5	-	-	-	-	-	-
Yemekhane (n=3)	E	75	18	13	7	2	4	-	1	3
	K	20	1	-	-	-	-	-	-	-
Toplam Erkek	E	350	79	70	33	17	14	1	6	13
Toplam Kadın	K	150	12	9	-	-	-	-	-	-
Genel toplam		500	91	79	33	17	14	1	6	14

Tablo 8. *S. aureus* saptanan personel sayısının ve Enterotoksijenik *S. aureus* izolatlarının işletmelere göre dağılımı.

	Personel Sayısı	Konvansiyonel olarak <i>S.aureus</i>		Moleküler olarak <i>S.aureus</i>		ELİSA (%)		Enterotoksin tipleri	
		Kişi (%)	İzolat	Kişi (%)	İzolat	Kişi (%)	İzolat		
Et İşletme (n:4)	E	23	17(74)	46	17(74)	44	10(43)	20	3 izolat A 5 izolat B 2 izolat E 2 izolat A+D 5 izolat A+E 3 İzolat A+D+E
	K	10	2(20)	6	2(20)	4	0	0	0
Süt İşletme (n: 4)	E	32	8(25)	15	8(25)	13	4(12.5)	6	1 izolat A 2 izolat B 1 izolat A+B 1 izolat B+E 1 izolat B+C
	K	16	4(25)	5	4(25)	5	0	0	0
Yemekhane (n: 2)	E	15	6(40)	18	5(33)	13	4(26)	7	2 izolat A 2 izolat B 2 izolat B+E 1 izolat D+E
	K	4	1(25)	1	0(0)	0	0	0	0
Toplam Erkek	E	70	31(45)	79	30(42)	70	18(25,7)	33	17 izolat A (%51) 14 izolat B (%42) 14 izolat E (%42) 1 izolat C (%3) 6 izolat D (%18)
	K	30	7(20)	12	6(20)	9	0	0	0
Genel Toplam		100	38	91	36	79	18	33	33

Tablo 3. Gıda işletmelerinde çalışan personelde bulunan *Staphylococcus spp.* ve *S. aureus* türü bakterilerin izolat bazında dağılımı

İşletme Tipi	Erkek				Kadın			
	<i>Staphylococcus spp.</i>		<i>S. aureus</i> *		<i>Staphylococcus spp.</i>		<i>S. aureus</i> *	
	Kişi	İzolat	Kişi	İzolat	Kişi	İzolat	Kişi	İzolat
Et işletmesi (n:4)	23	115	17	46	10	50	2	6
Süt işletmesi (n:3)	32	160	8	15	16	80	4	5
Yemekhane (n:2)	15	75	6	18	4	20	1	1
TOPLAM (n:9)	70	350	31	79	30	150	7	12

*(koagülaz +, DNase +, Şeker testleri +, Staphlect Plus +)

4.2. *S. aureus* İzolatlarının Moleküler İdentifikasyonu

Çalışma kapsamında konvensiyonel yöntemler ile *S. aureus* olarak identifiye edilen izolatların moleküler olarak doğrulaması amacı ile *S. aureus* spesifik *nuc* geni ve *Staphylococcus spp.* spesifik 16S rRNA geni varlığı PCR yöntemi ile araştırıldı. PCR sonucunda 279 bp'deki bantlar *nuc* geni 756 bp'deki bantlar 16S rRNA geni pozitif olarak kabul edildi (Şekil 3). Yapılan konvensiyonel analizler sonucunda 38 kişiden elde edilen toplam 91 izolattan PCR yöntemi ile 36 (%94) kişiden 79 (%86) izolatın *S. aureus nuc* genine sahip olduğu belirlendi ve bu izolatlar *S. aureus* olarak doğrulandı (Tablo 4,5). Ayrıca konvensiyonel olarak *S. aureus* olarak identifiye edilen tüm izolatların 16S rRNA geni'ne sahip oldukları belirlendi.

5. TARTIŞMA

İnsan ve hayvanlarda çeşitli hastalıklara yol açabilen stafilokokların çoğu sıcak kanlı hayvanların derisinde, deri ile ilişkili bezlerin kanallarında ve mukozalarında bulunur. İnsanlardaki stafilokok enfeksiyonlarında öncelikli patojen stafilokok türü olarak *S. aureus* bildirilmektedir (Adams, 1995). Bundan başka fırsatçı patojenler olarak *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus* yer alır. Bunlardan *S. epidermidis*, deri ve mukoz membranların değişmeyen kalıcı flora elemanlarındanır. *S. saprophyticus* ise daha çok anaerob koşullarda üreyen, normal florada çok sık bulunmayan bir bakteridir (Aktaş, 2006). Stafilokok türleri içinde *S. aureus* gerek toksin üretimi gerek invazyon yeteneği, gerekse doku harabiyetine yol açması nedeniyle sağlam kişilerde de enfeksiyon oluşturabilen patojen stafilokok türüdür. Geçici flora bakterileri arasında yer almakla birlikte, insanların özellikle burun ve boğazlarına yerleşerek buralarda uzun süre kalabilir. Bu kişiler, bakterinin taşıyıcısıdır. *S. aureus* nazal ve nazofarinks taşıyıcılığının, incelenen popülasyona göre değiştiği, ırk, yaş, antibiyotik kullanımı ve hastane ortamında bulunmaktan etkilendiği bildirilmektedir (Kaya ve Metintaş, 1995; Wertheim ve ark., 2005). Çalışmada gıda işletmelerinde çalışanların *S. aureus* taşıyıcılığının ve enterotoksin içeriğinin araştırılması amaçlanmıştır.

S. aureus insan ve birçok hayvan türünün deri ve mukozalarında (özellikle burun mukozasında) kolonize olmaktadır. Bu etken aynı zamanda deri, perineum ve farinkste de bulunmaktadır. Ayrıca daha az olarakta gastrointestinal sistem, vajina ve aksillar bölgede (koltuk altı) gözlendiği bildirilmektedir (Wertheim ve ark, 2005). Bu çalışmada gıda işleklerindeki çalışanların burun boşluklarından alınan örneklerin konvansiyonel yöntemler ile yapılan analizlerinde örneklerin büyük çoğunluğunda *S. aureus* tespit edildi. Bu örneklerden konvansiyonel yöntemler ile *S.aureus* saptanan kişilerden elde edilen izolatların PCR ile analizi sonucu iki çalışmada *S.aureus* (Tablo 6) belirlenemedi. Bu bulgular *S. aureus*'un en sık görüldüğü yerin burun mukozası olduğunu bildiren Wertheim ve ark, (2005)'nın sonuçları ile paralellik göstermektedir. Konvansiyonel yöntemlerle *S.aureus* olarak tanımlanmış izolatların %86'sı identifikasyonda altın standart olarak kabul edilmekte olan PCR ile pozitif sonuç vermiştir. Bu sonuç konvansiyonel yöntemlerle yapılan identifikasyonlarda sıklıkla rastlanan yalancı pozitiflikten kaynaklandığını düşündürmüştür. Tüm izolatların

PCR'da *Staphylococcus* spp. spesifik sonuç vermesi de *Staphylococcus* türlerinin tür düzeyinde identifikasyonunda yalancı pozitiflik/negatiflik rastlanma olasılığını göstermektedir. Elde edilen bu sonuç, *Staphylococcus* türlerinin tür düzeyinde identifikasyonunda konvansiyonel yöntemler yerine PCR'ın tercih edilmesinin daha güvenilir olduğunu göstermektedir

Gıda işletmelerinde çalışanlar gıda güvenliği konusunda önemli rol oynamaktadır. Çalışanların, gıdanın üretimi, işlenmesi dağıtımı sırasında temas yoluyla *S. aureus* bulaştırıp gıda zehirlenmelerine neden oldukları ortaya konmuştur (Acco ve ark., 2003). Birçok çalışmada sağlıklı erişkin çalışanların *S. aureus* nazal taşıyıcılığı %19-55 arasında olduğu bildirilmiştir (Soto ve ark., 1996; Vander Bergh ve ark., 1999). Enfeksiyon gelişiminde risk oluşturan faktörlerden biri *S. aureus* taşıyıcılığıdır. Sağlıklı kişilerde *S. aureus* taşıyıcılığı başta burun olmak üzere perineum ve aksillar bölgede kolonizasyon şeklindedir. *S. aureus*'un nazal kolonizasyonu ise en sık, vestibulum nasi bölgesinde saptanır. *S. aureus*'un insan vücudunda kolonizasyon için tercih ettiği bölgeler spesifik bazı faktörlerin yanı sıra sebaceöz ve apokrin bezlerden zengindir. Burun, yanak, alın, göbük, meme altı, kasık, ön kol, el, boğaz, aksilla, perineum ve perianal bölge kolonizasyonunun görülebildiği sahalardır. Bunlardan taşıyıcılıkta ve yayılmada önemli olanlar burun, perineum, aksilla, el ve boğazdır. Gıdaların *S. aureus* ile kontaminasyonunda nazal taşıyıcılık önemli bir risk faktörü olup, stafilokokal intoksikasyonların sıklıkla yetersiz ve uygun olmayan personel hijyenine bağlı olarak şekillendiği belirtilmektedir (Wertheim ve ark., 2005). *S. aureus*'un nazal taşıyıcılık prevalansı ve insidansı araştırılan topluluklara göre değişiklik göstermektedir. Bu oran %19-55 arasında değişebilmektedir. Nazal taşıyıcılığı etkileyen faktörler hastanede uzun süre yatış, diabetes mellitus, hemodializ, kronik ambulator periton dializ, damar içi ilaç kullanımı alışkanlığı, *S. aureus*'un oluşturduğu cilt enfeksiyonu varlığı ve HIV enfeksiyonu olarak özetlenebilir. Bunların dışında, *S. aureus*'un hücre duvarında bulunan lipoteikoik asit ve bazı yüzey proteinleri ayrıca, viral enfeksiyonlar arasında burun epiteline adherensin artması, bazı HLA tipleri, nazal anomaliler, yaş, ırk, genetik yapı, immünolojik durum, kadınlarda hormonal durum gibi durumlarda taşıyıcılığı etkileyen faktörlerdendir (Altemeier ve ark., 1981; Hollis ve ark., 1995). Kolonizasyon ve taşıyıcılıkta en önemli bölge ön burun delikleri ve çevresidir. Taşıyıcıların vücut florasında bulunan MRSA rezervuarının burun olduğu kabul edilmektedir. Ön burun

taşıyıcıların 2/3'sinde arka burun boşluğunda da taşıyıcılık mevcuttur (Herold ve ark., 1998). Yapılan çalışmada çeşitli gıda işletmelerinde, yapılan taramalar sonucunda *S. aureus* nazal taşıyıcılık oranı % 36 olarak belirlendi ve bu oran diğer çalışmalar ile paralellik gösterdi (Al Bustan ve ark., 1996; Acco ve ark., 2003; Andre ve ark., 2009).

Burun mukozasında *S.aureus* taşıyıcılığını araştıran birçok makale bulunmaktadır. Bu makalelerde hastane çalışanları, riskli hasta grupları, restoran çalışanları ve uçakta servis yapan personelde burun mukozasında *S. aureus* taşıyıcılığı araştırılmıştır (Hacıbektaşoğlu ve ark., 1993; Al Bustan ve ark., 1996; Vanden Bergh ve ark., 1999; Cespedes ve ark., 2002; Acco ve ark., 2003; Gülbandılar, 2009). Bu araştırmaların sadece bir kaçında personelin cinsiyet ayrımı yapılmıştır. Vander Berg ve ark. (1999) Hollanda'da tıp fakültesinde birçok anabilim dalı personeline yaptığı araştırmada erkek kadın oranını 0.8 olarak bildirmiştir. Cespedes ve ark. (2002) hastane ve hastane dışı çalışanlarda *S. aureus* burun taşıyıcılığı erkeklerde % 69.8 kadınlarda ise % 30 olarak belirlemiştir. Mainous ve ark. (2006) Amerika'da yaptıkları geniş çaplı araştırmada *S. aureus* burun taşıyıcılığını kadınlarda % 28, erkeklerde ise % 37 olarak yayımlamıştır. Bu çalışmaların hiçbirinde kadın ve erkek çalışan oran farkının nerden kaynaklanabileceği belirtilmemiştir. Yapılan çalışmada da örnek alınan tüm işletmelerde kadın personelin erkek personele göre düşük oranda *S.aureus* taşıdığı saptanmıştır. Bu durumun kadın çalışanların tüm işlemler sırasında genel ve özel hijyene dikkat etmesinden kaynaklanabileceği düşünülmele birlikte kadınlar tarafından sıklıkla kullanılan kozmetik ürünlerindeki olası alkolün rolü olduğu kabul edilebilir.

Stafilokoklar heryerde bulunabilen mikroorganizmalar olup, hava, su, toz, toprak ile gıda ve gıda işletmelerinde kullanılan alet ve ekipmanlarda, insan ve hayvanlarda da sıklıkla rastlanmaktadır. İnsan ve hayvanlar stafilokokların başlıca rezervuarı olup, özellikle stafilokoklarla kolonize kişiler etkenin çevreye ve gıdalara bulaşmasında etkin rol oynamaktadır. *S. aureus* patojen bir tür olmasına karşın insanların deri ve burun mukozalarında da bulunmaktadır. Etkenin sağlıklı insanların % 30-50'sinin burun mukozasından izole edildiği bildirilmektedir. Bu kapsamda gıda işletmelerinde çalışan kişilerin çıplak elle gıdalara dokunması ve gıdalara karşı aksırıp-öksürmeleri sonucunda kontaminasyon şekillenebilmektedir (Bremer ve ark., 2004; Jorgensen ve ark., 2005). Acco ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada meyve işletmesinde çalışan işçilerin burun mukozasında % 30 oranında *S.aureus*'a rastlamışlardır. Al

Bustan ve ark. (1996) Kuveyt'te restoran çalışanlarında yaptığı araştırmada *S.aureus* taşıyıcılığını % 26.6 olarak bulmuştur. Andre ve ark. (2009) süt işletmelerinde yaptığı çalışmada çalışanların burun mukozasındaki *S.aureus* bulunma oranı % 32.6 olarak bildirmiştir. Yapılan çalışmada yemekhane, et ve süt işleklerinden elde edilen *S.aureus* burun taşıyıcılığı oranı literatürdeki (Al Bustan ve ark. 1996; Acco ve ark. 2003; Andre ve ark. 2009) oranlarla uyumluluk göstermektedir. Çalışmada dikkati çeken bölüm ise süt işletmelerinde elde edilen oranın oldukça düşük olmasıdır. İşletmeler arasında farklılıkları karşılaştıran herhangi bir makaleye rastlanmamıştır. Süt işletmelerinde düşük oranda *S.aureus* bulunmasının nedeni olarak çalışanların hijyenik olarak sürekli temizlenmeleri, kadın çalışanlarının çok olması ve bunların erkeklere göre hijyen kurallarına daha fazla uymasına bağlanmıştır.

S. aureus mezofilik özelliğe sahip bir bakteri olmasına rağmen, bazı suşları 6.7 °C'nin altında da üreyebilmektedir. Genellikle 6.7-47.8 °C'ler arasında, optimal 35-37 °C arasında üreme göstermekle birlikte, 10-46 °C'ler arasında enterotoksin oluşturur. Toksin oluşumu için optimal sıcaklık 40-45 °C'ler arası olup, 25-30 °C'de de toksin oluşturabildiği saptanmıştır. 10 °C'de de düşük miktarlarda SEA, SEB, SEC ve SED oluşturduğu bildirilmiştir (Sutherland ve Varnam, 2007; Erol, 2007). Stafilokokal enterotoksinler (SE), emetik toksinlerdir ve insanlardaki stafilokokal gıda zehirlenme olgularının etkenidirler. SE'ler abdominal viserada yer alan hücre reseptörleri uyararak kusma refleksini başlatmaktadır. Stafilokokal intoksikasyonda ortaya çıkan gastrointestinal semptomların çoğunlukla yangısal medyatörlerin (histamin, lökotrien) serbest bırakılması ile ilişkili olduğu belirtilmektedir. Mast hücrelerinin bu yangısal medyatörlerin asıl kaynağı olduğu düşünülmektedir. SE'lerin mast hücrelerinin üzerinde bulunan reseptörlere bağlanması ile mast hücrelerinin aktive oldukları bulunmuştur (Lowy, 1998; Munson ve ark., 1998; Sutherland ve Varnam, 2007). SE'ler biyolojik aktiviteleri ve yapısal ilişkileri bakımından pirojenik toksin süperantijen ailesinin üyeleri olarak klasifiye edilmişlerdir. SE'ler antijenisite bazında temel olarak beş serolojik tipe ayrılırlar (SEA-SEE). Son yıllarda yeni tip SE'lerin mevcudiyeti rapor edilmiştir (SEG, SEH, SEI, SEJ, SEK, SEL, SEM, SEN, SEO) (Omoe ve ark., 2002). Ayrıca yeni tanımlanan gen sekansları ile *sek, sel, sem, sen, seo, sep, seq, ser, seu* genlerinin yapıları belirlenmiştir (Leterle ve ark., 2003; Omoe ve ark., 2003; Orwin ve ark., 2003). Yeni tespit edilen bu genlerle ilgili yapılardan, tam olarak test

edilememekle birlikte bazılarının emetik aktivitesinin olmadığı belirtilmiştir (Omoe ve ark., 2003).

Kuveyt'te çeşitli restoranlarda çalışan ve gıda ile temas halinde olan kişilerden alınan svap örnekleri *S. aureus* ve koagulaz negatif stafilocokların varlığı yönünden analize alınmış ve bu kişilerin stafilocokal intoksikasyon açısından olası bir risk oluşturup oluşturmadığı incelenmiştir. Bu kapsamda personelin el ve burun mukozasından alınan svap örneklerinden 32 *S. aureus* ve 142 koagulaz negatif stafilocok olmak üzere, toplam 174 stafilocok izolatu elde edilmiştir. *S. aureus*'un % 12.5; koagulaz negatif stafilocokların % 8 düzeyinde SEA, SEB ve SEC'yi tek başına ya da birlikte sentezledikleri ve izolatların en çok SEB'yi ürettikleri bulunmuştur (Udo, 1999). Fueyo ve ark. (2005), tarafından İspanya'da yapılan bir çalışmada, sağlıklı çalışanların burun mukozalarından ve peynir, krema, dondurma, kek, çiğ et ile ısı işlemi görmüş elle hazırlanmış gıdalardan izole ettikleri 269 *S. aureus* suşunu enterotoksin oluşturma yetenekleri yönünden incelemiştir. SEA ve SEC'nin en sıklıkla gözlenen toksinler olduğu bildirilmiştir. Burun mukozasından elde edilen izolatların % 23.9'u ve elle hazırlanmış gıdalardan elde edilenlerin % 26'sının stafilocokal enterotoksin oluşturabildiği saptanmıştır. Polledo ve ark. (1985) 300 gıda elleyicilerinde yaptığı çalışmalarda burun mukozalarında 36 (% 12) enterotoksijenik stafilocok saptamış ve A, B, C, D, E, A+D, B+C enterotoksinleri belirlemiştir. Yapılan bir çalışmada Kuveyt restoranlarında çalışanların burun mukozasında % 26.6 oranında *S. aureus* bulmuş ve bunlar içinde % 28 A, % 28.5 B, % 16.4 C ve % 3.5 D enterotoksine rastlamıştır (Al Bustan ve ark., 1996). Araştırmalar sonucunda en çok B enterotoksine rastlanmıştır (Hatakka ve ark., 2000; Soriano ve ark., 2002). Şili üniversitesinde gıda elleyicilerin burun, boğaz ve ellerinde yapılan incelemelerde en yüksek oranda enterotoksin B belirlenmiş bunu D izlemiştir (Soto ve ark., 1996). Yapılan çalışmada enterotoksin çeşitliliği oldukça fazladır. Bununla birlikte literatürde bildirildiği gibi % 50 oranında enterotoksin B belirlenmiştir. Enterotoksinlerin çoğu et işletmelerinde belirlenmiştir. Bunun nedeni olarak et işletmelerde çalışanların hijyenik kurallara uymaması, bozuk et, mide barsak içeriği ile temas etmeleri, kullandıkları malzemelerin yeterince temiz tutulmaması veya kullanılmaması olarak düşünülmüştür.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Gıda kökenli rahatsızlıklar genel anlamda patojenik mikroorganizmalar ve mikrobiyal toksinler ile kontamine olmuş gıdaların yenmesi ile oluşmakta ve daha çok gastrointestinal semptomlarla seyretmektedir.

Gıdanın yapımı, taşınması, paketlenmesi, korunması ve buna benzer birçok aşamada kişisel ve sektörel olarak gerekli önemlerin alınmaması sonucunda insan sağlığı açısından çok ciddi tehlikeler olabilmektedir. Gıda sektörü çalışanları arasında kişisel hijyen eksikliği gıda kaynaklı hastalıkların oluşumunda önemli bir faktördür.

Yapılan bu çalışmayla Ocak 2012-Temmuz 2012/ Ağustos 2012- Şubat 2013 tarihleri arasında Samsun ilinde faaliyet gösteren gıda işletmelerinden bir dönem boyunca (6 ay) 2 kez, burun florasından steril pamuklu svap kullanılarak toplam 100 (70 erkek, 30 kadın) örnek alındı.

Konvansiyonel mikrobiyolojik analizler sonucunda çalışma kapsamında incelenen 4 farklı et işletmesinden toplamda 52 (46 erkek, 6 kadın), üç farklı süt işletmesinden 20 (15 erkek, 5 kadın) ve iki farklı yemekhaneden 19 (18 erkek, 1 kadın) *S. aureus* izolatı saptandı. Sonuç olarak örneklemelerin yapıldığı tüm işletmelerde çalışan toplam 38 personelden 91 *S. aureus* izolatı elde edildi.

Elde edilen 91 izolatın PCR ile moleküler identifikasyonu sonucu bu izolatların 79'unun *S.aureus* spesifik *nuc* genine sahip oldukları belirlendi ve bu izolatlar *S. aureus* olarak idenrtifiye edildi. Moleküler olarak *S.aureus* olduğu doğrulanan izolatların enterotoksin oluşturma yeteneğini Ridascreen Set A, B, C, D, E (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany. Art. No: R4101) test kiti kullanılarak ELISA metodu ile üretici firma tarafından belirtilen yönteme uygun olarak belirlendi. İzolatların 33'ünün enterotoksin içerdiği saptandı. Çalışmada elde edilen dikkate değer bir bulgu ise kadınlardan izole edilen izolatlarda herhangi bir enterotoksin tipi varlığının saptanamamış olmasıdır. Bu durum özellikle, gıda ile uğraşan işletmelerde kadın personel istihdamının daha fazla oranda yapılması gerekliliğini ortaya çıkartmaktadır.

Çalışmamızda yerel işletmelerde çalışan personelde *S. aureus* saptanmıştır. Bu personelden alınan örneklerde erkek personelin (%42,8) kadın personele (%20) göre *S. aureus* taşıyıcılığı daha fazla olduğu belirlenmiştir. Elde edilen veriler örnekleme yapılan işletmelerde çalışan personelin hijyen kurallarına uymadığını göstermekle

birlikte, halk sağlığı açısından açık bir tehlike kaynağı olabileceğini düşündürmektedir. Gıda ile uğraşan işletmelerde çalışan personelin uzman kişiler tarafından hijyen konusunda bilgilendirilmeli ve kendilerinden kaynaklanabilecek sağlık riskleri hakkında bilinçlendirilmelidir. Ayrıca işletmelerin rutin olarak hijyen seminerleri düzenlenmesi ve personel taramalarının düzenli olarak yaptırılması önerilmektedir.

Çalışmamızda yerel işletmelerde *S. aureus* yönünden çalışan personelde sadece burun florası incelenmiştir. Gelecekte planlanan çalışmalarda hem *S. aureus* hemde diğer etkenlere karşı işletme personelinin el vb örnekleri ile çalışma alanları, tezgah vb. yerlerden de örnekler alınıp incelemelerin yapılması önerilmektedir.



KAYNAKLAR

- Acco M, Ferreira FS, Henriques JAP, Tondo EC. Identification of multiple strains of *Staphylococcus aureus* colonizing nasal mucosa of food handlers. Food Microbiology. 2003; 20 (5): 489–493.
- Adams MR, Moss MO. *Staphylococcus aureus*. In: Food Microbiology, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1995; 205-210.
- Adesiyun AA, Raji I, Yobe V. Enterotoxin production by strains of *Staphylococcus aureus* isolated from anterior nares of dining hall workers. Journal of Food Protection. 1986; 49: 955 - 957.
- Adıgüzel A, İnan K, Şahin, F, Arasoğlu, T, Güllüce M, Beldüz, AO, Barış, Ö. Pasinler kaplıcasından izole edilen termofilik bakterilerin moleküler farklılıkları. Turk. J. Biol. 2011; 35: 267-274.
- Aran N. Gıda endüstrisinde sanitasyon ve hijyen “Gıda Sanayiinde Mikrobiyoloji ve Uygulamaları” kitabı TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Yayın No: 124; 1993: 200-216.
- Aksu H, Kaya İ. Gıda sanayinde personel hijyeni. Gıda Mühendisliği Dergisi, 1999; 9: 15-19.
- Aktaş F. Stafilocokal enfeksiyonlar. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ders Notları, 2006.
- Al Bustan MA, Udo E, Chugh TD Nasal carriage of enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus* among restaurant workers in Kuwait City. Epidemiology and Infection. 1996; 116(3): 319-22.
- Al-Rawahi GN, Schreader AG, Porter SD, Roscoe DL, Gustafson R, Bryce EA. Methicillin-Resistant *staphylococcus aureus* nasal carriage among injection drug users: Six years later. J. Clin. Microbiol. 2008;46(2): 477-479.
- Altemeier WA, Lewis S, Brackett K. The versatile *Staphylococcus*. In: Macdonald A,Smith G. (eds.). The *Staphylococci*. Proceedings of the Alexander Ogston Centennial Conference. Aberdeen University Press. 1981; 125-148.

- Anderson PHR, Stone DM. Staphylococcal food poisonings associated with spray dried milk. J. Hyg. 1995; 53 (4): 387-397.
- Andre MC, Campos MRH, Borges LJ, Kipnis A, Pimenta FC, Serafini AB. Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from food handlers, raw bovine milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsed-field gel electrophoresis following SmaI digestion. Food Control. 2009; 19: 200-207.
- Angelillo IF, Viggiani NMA, Rizzo L, Bianco A. Food handlers and foodborne diseases: Knowledge, Attitudes, and Reported Behaviour in Italy. J. Food Protect. 2000; 63(3): 381-385.
- Atıcı G. 1999 *Staphylococcus aureus* 'un gelişimi üzerine sıcaklık, pH, SodyumKlorür 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, Mersin, 1999; 52.
- Ayçiçek H, Aydoğan H, Küçükarslan A, Baysallar M, Başustaoğlu AC. Assesment of the bacterial contamination on hands of hospital food handlers. Food Control, 2004; 15: 253-259.
- Bankolé HS, Dougnon TJ, Edoth PA, Dougnon TV, Legonou M, Klotoé JR, Loko F. Portage of Bacteria Responsible of Foodborne Illness in Scholarly Canteens (Republic of Benin). Advances in Microbiology, 2012; 2: 340-344.
- Becker K, Roth R, Peters G. Rapid and specific detection of toxigenic *Staphylococcus aureus*: use of two multiplex PCR enzyme immuno assays for amplification and hybridization of staphylococcal enterotoxigenes, exfoliative toxin genes, and toxic shock syndrome toxin 1 gene. J Clin Microbiol. 1998; 36: 2548-2553.
- Bilge F, Karaboz İ. İzmir'de piyasada açıkta satışı sunulan bazı gıdaların *Staphylococcus aureus* ve enterotoksinleri bakımından incelenmesi. Orta On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, <http://www.mikrobiyoloji.org/pdf /702050601.pdf>. 2005
- Bilgehan H. "Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları", İzmir 2000.

- Brakstad O, Aasbakk K, Maeland J. Detection of *Staphylococcus aureus* by Polymerase Chain Reaction Amplification of the nuc Gene. J Clin Microbiol. 1992; 7 (30): 1654-1660.
- Bremer PJ, Fletcher GC, Osborne C. *Staphylococcus aureus*. New Zealand Institute for Crop & Food Research Limited Private Bag 4704, Christchurch, New Zealand 2004.
- Bret MM. Kits for detection of food poisoning toxins produced by *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*. Methods in Biotechnology. 2006; 21(1): 91-98
- Brown DF, Edwards DI, Hawkey PM, Morrison D, Ridgway GL, Towner KJ. Joint Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy; Hospital Infection Society; infection control nurse association. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Journal Antimicrobial Chemotherapy. 2005; 56(6): 1000-1018
- Cespedes C, Miller M, Quagliarello B, Vavagiakis P, Klein RS, Lowy FD. Differences between *Staphylococcus aureus* isolates from medical and nonmedical hospital personnel. J Clin Microbiol. 2002; 40(7): 2594-7.
- Cowell NA, Hansen MT, Langley AJ, Graham TM, Bates JR. Outbreak of Staphylococcal enterotoxin food poisoning. Communicable Diseases Intelligence. 2002; 26: 4.
- Çırak MY. 1999. Enzyme linked Immunosorbent assay sistemleri. T. Klin. Tıp Bilim. 1999; 19: 242-248
- Demir M, Kaleli İ, Cevahir N, Mete E. Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan *Staphylococcus aureus* suşlarında antibiyotik direnci. Ankem Derg.2003; 17(1): 56-59.
- Demir NN ve Karapınar M. Süt ürünlerinde *Staphylococcus aureus*. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri 6. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı. Rebel yayıncılık, Tekirdağ. 2000; 78-85.

- de Jonge R, Verdier JE, Havelaar AH. Prevalence of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* amongst professional meat handlers in the Netherlands, March-July 2008. Euro Surveill. 2010; 18: 46.
- Ekici L, Telli R, Yetim H. Gıda kaynaklı enfeksiyon ve İntoksikasyon bakterileri-1. Gıda teknolojileri elektronik dergisi. 2008; 2: 29-42.
- Erol İ, İşeri Ö. Stafilokokal enterotoksinler. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 2004; 51: 239-245.
- Erol İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Pozitif Matbacılık. Ankara, 2007.
- Ewald S, Notermans S Effect of water activity on enterotoxin B production and growth of *Staphylococcus aureus*. Int J Food Microbiol. 1988; 6(1):25-30.
- Food & Drug (U.S.) Administration, Center for food safety & Applied nutrition, 2001 Chapter 13A: 1-26.
- Fueyo JM, Mendoza MC, Martin MC. Enterotoxins and toxic shock syndrome toxin in *Staphylococcus aureus* recovered from human nasal carriers and manually handled foods: epidemiological and genetic findings. Microb Infect. 2005; 7: 187-194.
- Garrity G, Boone D, Castenholz RW. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology New York, 2nd ed. Williams & Wilkins, 2001.
- Gilligan K, Shipley M, Stiles B, Hadfield TL, İbrahim S. 2000. Identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxins A and B genes by PCR-ELISA. Molekuler and Cellular Probes. 2000; 14: 71-78.
- Gülbandılar A. Kütahya yöresinde burun mukozasında *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığının ve antibiyotoik duyarlılığının araştırılması. Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi. 2009; 18: 1-6.
- Hacıbektaşoğlu A, Eyigün CP, Özsoy MF. "Gıda elleycilerinde" burun ve boğaz portörlüğü. Mikrobiyol Bült. 1993; 27: 62-70.
- Halkman AK, Doğan HB. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. 2. Baskı, Ankara, A.Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, 2000.

- Hatakka M, Björkroth KJ, Asplund K, Mäki-Petäys N, Korkeala HJ. Genotypes and enterotoxicity of *Staphylococcus aureus* isolated from the hands and nasal cavities of flight-catering employees. *Journal of Food Protection*. 2000; 63: 1487-1491.
- Hein I, Lehner A, Rieck P, Klein K, Brandl E, Wagner M. Comparison of different approaches to quantify *Staphylococcus aureus* cells by real-time quantitative PCR and application of this technique for examination of cheese. *Appl Environ Microbiol*. 2001; 67: 3122-3126.
- Herold BC, Immergluck LC, Maranan MC, Lauderdale DS, Leitch CD, Daum RS. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children with no identified predisposing risk. *JAMA*. 1998; 279:593-8.
- Hollis RJ, Barr JL, Doebbeling BN. Familial carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and subsequent infection in a premature neonate. *ClinInfect Disease*. 1995; 21: 328-32.
- ISO 6888-1: Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for the enumeration of coagulase positive Staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) by colony-count technique at 35 °C/37 °C. Part 1: Technique with confirmation of colonies, Geneva, Switzerland, 1999.
- Johnson WM, Tyler SD, Ewan EP, Ashton FE, Pollard DR, Rozee KR. Detection of genes for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the polymerase chain reaction. *J ClinMicrobiol*. 1991; 29: 426-430.
- Jorgensen HJ, Mork T, Hogasen HR, Rovik LM. Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in bulk milk in Norway, *J. Appl. Microbiol*. 2005; 99: 158-167.
- Kaya D, Metintaş S. Besin işleri ile uğraşan kimselerde *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığı. *Türk Hij. Den. Biy Derg*. 1995; 52(2):77-80.
- Kılıç S. Hindi etlerinden izole edilen koagulaz pozitif Stafilokokların enterotoksin oluşturma yeteneklerinin EIA (Enzyme Immuno Assay) yöntemiyle belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Yükek lisans Tezi. 2007; 64.

- Küplülü Ö, Sarımehtetoğlu B, Kaymaz Ş. Pastörize sütlerde Elisa tekniği ile stafilokokal enterotoksin varlığını belirlenmesi. Turkish Journal of Veterinary&Animal Science. 2002; 26: 631-637.
- Leterle C, Perelle S, Dilaser F, Fach P. Identification of a new putative enterotoxin SEU encoded by the egc cluster of *Staphylococcus aureus*. J. Appl. Microbiol. 2003; 95(1): 38-43.
- Loeto D, Matsheka MI, Gashe BA. Enterotoxigenic and antibiotic resistance determination of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food handlers in Gaborone, Botswana. J Food Prot. 2007; 70(12): 2764-8.
- Longree K. Quantity food sanitation. Wiley-Intersection, New York, John Wiley and sons Inc. 1972.
- Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. New England J Med. 1998; 339 (8): 520-532.
- Lues JFR, Tonder IV. The Occurrence of indicator bacteria on hands and aprons of food handlers in the delicatessen sections of aretail group. Food Control. 2007; 18: 326-332.
- Maes N, Magdalena J, Rottiers S, Gheldre Y, Struelens M J. Evaluation of a Triplex PCR Assay To Discriminate *Staphylococcus aureus* from Coagulase-Negative Staphylococci and DetermineMethicillin Resistance from Blood Cultures. J Clin Microbiol. 2002;4 (40): 1514-1517.
- Maniatis, T. Fritsch, EF, Sambrook, J. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, 1982. N.Y.
- Mainous AG, Hueston WJ, Everett JC, Diaz VA. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S. aureus* in the United States, 2001–2002 Ann Fam Med. 2006; 4(2): 132-137.
- Marth EH ve Halpindohnalek MI. Growth and production of enterotoxin-A by *Staphylococcus aureus* in cream. Journal of Dairy Science. 1989; 72: 2266-2275.

- Munson SH, Tremaine MT, Betley MJ, Welch RA. Identification and characterization of staphylococcal enterotoxin types G and I from *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun*. 1988; 66: 3337-3348.
- Notermans S and Heuvelman SC. Combined Effect of Water Activity, pH and Sub-optimal Temperature on Growth and Enterotoxin Production of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Food Science* 1983; 48: 1832-1835.
- Nouwen J, Boelens H, van Belkum A, Verbrugh H. Human factor in *Staphylococcus aureus* nasal carriage. *Infect Immun*. 2004; 72(11): 6685-8.
- Oliver SP, Jayarao BM, Almeida RA. Foodborne pathogens mastitis milk quality and dairy food safety. *NMC Annual Meeting Proceedings*. 2005: 1-26.
- Omoe K, Ishikawa M, Shimoda Y, Hu D L, Ueda S, Shingawa K. Detection of seg, seh and sei genes in *Staphylococcus aureus* isolated and determination of the enterotoxin productivities of *S. aureus* isolates harboring seg, seh or sei genes. *J. Clin. Microbiol*. 2002; 40: 857-862.
- Omoe K, Hu DL, Takahashi O, Nakane A, Shinagawa K. Identification and charecterization of a new staphylococcal enterotoxin related putative toksin encoded by two kinds of plasmids. *Infect. Immun*. 2003; 71: 6088-6094.
- Orwin OT, Fitzgerald J R, Leung DYM, Guitemez JA, Bohach GA, Schlievert PM. Characterization of *Staphylococcus aureus* enterotoxin L. *Infect. Immun*. 2003; 71: 6088-6094.
- Polledo JJ, García ML, Moreno B, Menes I. Importance of food handlers as a source of enterotoxigenic staphylococci. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg B*. 1985; 181(3-5): 364-73.
- Rasooly A, Rasooly R. 1998. Detection and analysis of Staphylococcal enterotoxin A in food by Western Immunoblotting. *International Journal of Food Microbiology*. 1998; 41: 205-212.
- Reginald W, Bennett RW, Lancette GA. *Bacteriological Analytical Manual Online*. Chapter 12 *Staphylococcus aureus*. <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-12.html> 2001

- Sağun E, Alişarlı M, Durmaz H. Farklı sıcaklıklarda muhafazanın çiğ öftede *Staphylococcus aureus*'un gelişimi ve enterotoksinüretimi üzerine etkisi. Türk J. Vet. Anim. Sci. 2003; 27: 839-845.
- Selçuk N. Beyaz peynir üretiminde starter kültür alavesinin, değişik salamura konsantrasyonlarının ve olgunlaşma sürelerinin *Staphylococcus aureus*'un çoğalmasına etkisi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum, Yüksek Lisans Tezi, 1991; 31.
- Sivaraman K, Venkataraman N, Cole AM. *Staphylococcus aureus* nasal carriage and its contributing factors. Future Microbiol. 2009;4(8):999-1008.
- Sutherland J, Varnam A. Enterotoxin-producing *Staphylococcus*, *Shigella*, *Yersinia*, *Vibrio*, *Aeromonas* and *Plesiomonas*. 384-415. In: CW Blackburn, PJ McClure (Eds), Foodborne Pathogens. CRC press, Washington, DC, 2007.
- Soriano JM, Font G, Molto JC, Males J. Enterotoxigenic *Staphylococci* and their toxins in restaurant foods. Trends in Food Science and Technology. 2002; 13: 60-67.
- Saruta K, Matsunaga T, Kono M, Hoshina S, Ikawa S, Sakai O, Machida K. Rapid identification and typing of *Staphylococcus aureus* by nested PCR amplified ribosomal DNA spacerregion. FEMS MicrobiolLett.1997; 146: 271-278.
- Soto A, Saldías ME, Oviedo P, Fernández M Prevalence of *Staphylococcus aureus* among food handlers from a metropolitan university in Chile. Revista Medica de Chile. 1996; 124(9): 1142-1146.
- Straub JA, Hertel C, Hammes WP. A 23S rDNA-targeted polymerase chain reaction-based system for detection of *Staphylococcus aureus* in meat starter cultures and dairy products. J FoodProt. 1999; 62: 1150-1156.
- Şardan YÇ. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* infeksiyonlarının epidemiyolojisi ve kontrolü. Hastane İnfek. Derg. 2000; 4: 205-207.
- Tomi NS, Kranke B, Graz EA. Psoriasis, atopik dermatit, eritrodermi hastalarında ve sağlıklı kontrol bireylerinde Stafilokokal toksinler. Jaad Türkçe Baskısı, 2005; 2(4): 254-259.

- Tsen HY, Chen TR. Use of the polymerase chain reaction for specific detection of type A, D and E enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in foods. Appl Microbiol Biotechnol. 1992; 37: 685-690.
- Tunail N, Köşker Ö. Süt Mikrobiyolojisi. Ankara Ü. Ziraat F. Yayın No:116, Ders Kitabı, Ankara, 1989.
- Tunail, N. 2000. Mikrobiyel enfeksiyonlar ve intoksikasyonlar. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaacılık Ltd., Ankara, 2000;181-184.
- Tükel Ç ve Doğan HB. 2000. *Staphylococcus aureus*. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını Sim Matbaacılık Ltd., Ankara, 2000; 357-366.
- Udo EE. Enterotoxin production by coagulase-negative staphylococci in restaurant workers from Kuwait City may be a potential cause of food poisoning. J Med Microbiol. 1999; 48: 819-823.
- Vanden Bergh MF, Yzerman EP, van Belkum A, Boelens HA, Sijmons M, Verbrugh HA. Follow-up of *Staphylococcus aureus* nasal carriage after 8 years: redefining the persistent carrier state. J Clin Microbiol. 1999; 37(10): 3133-40.
- Vural H, Öztan A. Effects of starter cultures on growth of *Staphylococcus aureus* in fermented meat products. Gıda. 1993; 18(4): 259-263.
- Wang S, Duan H, Zhang W, Li JW. Analysis of bacterial foodborne disease outbreaks in china between 1994 and 2005. FEMS Immunol. Med. Microbio. 2007; 51: 8-13.
- Weese JS, Avery BP, Reid-Smith RJ. Detection and quantification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clones in retail meat products. Lett Appl Microbiol. 2010; 51(3): 338-42.
- Wendlandt S, Schwarz S, Silley P. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Food-Borne Pathogen? Annu Rev Food Sci Technol. 2013; 4: 117-39.

- Wertheim HFL, Melles DC, Vos MC, Leeuwen W, Belkum A a, Verbrugh HA, Nouwen JL. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis.* 2005; 5: 751-762.
- Wilson IG, Cooper JE, Gilmour A. Detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in dried skimmed milk: use of the polymerase chain reaction for amplification and detection of staphylococcal enterotoxin genesent Band entC1 and the thermonuclease gene nuc. *Appl Environmental Microbiol.* 1991; 57: 1793-1798.
- Yassein N. Enteropathogenic *Escherichia coli* in a food-serving establishment. *Fleischwrit.* 1992; 72(5): 757-758.
- Yaygın H ve Milci S. Peynirlerden kaynaklanan *Staphylococcus aureus* zehirlenmesi. Türkiye 9. Gıda Kongresi Bildirisi, Bolu, 2006.
- Yüce A. İzmir yöresindeki mandıralardan alınan çiğ sütlerde *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* aranması. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir, Yüksek Lisans Tezi, 1992, 101.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Ebru Didem ÖZAK

Doğum Yeri: Muş

Doğum Tarihi: 23.08.1972

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum/Yıl): Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 1991-1995

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: OMÜ Terme Meslek Yüksek Okulu 2004-...

e-posta: ebrudidemozak@hotmail.com