



T.C.

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**İSTANBUL İLİNDE AÇIKTA SATILAN DONDURMALARIN
KOAGÜLAZ POZİTİF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* YÖNÜYLE
İNCELENMESİ**

ELİF EDE

BESLENME ve DİYETETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. SİNE ÖZMEN TOGAY

İSTANBUL - 2016

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmanın başlangıcından bitimine kadar bilgi birikimlerini ve yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Sine Özmen TOGAY'a, İstanbul Medipol Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı Başkanım Sayın Prof. Dr. Muazzez GARİPAĞAOĞLU'na, mikrobiyolojik analizlerin gerçekleştirilmesinde katkılarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Harun AKSU'ya, mikrobiyoloji laboratuvarında yardımlarını esirgemeyen Dyt. Fatma KOÇ'a, lisans ve yüksek lisans öğrenimi boyunca benden manevi destek ve yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşım Dyt. Elif Bilge ÇAĞLAYAN'a, eğitimimin her aşamasında bana yol gösteren, beni destekleyen aileme, tez verilerimin toplanmasında bana özellikle yardımcı olan babam Abdulkadir EDE'ye teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	i
BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR	iii
KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ	vi
RESİM VE TABLOLAR LİSTESİ	vii
1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER.....	6
4.1. Tarihçe.....	6
4.2. Stafilokokların Sınıflandırılması ve Genel Özellikleri.....	7
4.3. Stafilokokal Enfeksiyonlar	10
4.4. Stafilokokal Enterotoksinler	12
4.5. <i>Staphylococcus aureus</i> Kaynaklı Gıda Zehirlenmesi.....	13
5. MATERYAL VE METOT	16
5.1. Materyal.....	16
5.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i> İzolasyon ve Sayımında Kullanılan Besiyerleri..	16
5.1.1.1. Baird-Parker (BPA) Agar Base	16
5.1.1.2. Tryptic Soy Agar	17
5.1.1.3. Tryptic Soy Broth.....	17
5.1.1.4. Mannitol Salt Phenol-Red Agar	18
5.1.1.5. DNaz Test Agar	18
5.1.1.6. Orsab Oxoid Agar	19
5.1.1.7. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)	19
5.1.1.8. Bactident Coagulase	19
5.1.1.9. Serum Fizyolojik (SF).....	20
5.2. Metot	20
5.2.1. Dondurma Örneklerinden <i>Staphylococcus aureus</i> İzolasyonu ve Sayımı	20
5.2.1. <i>S. aureus</i> İzolatlarına Uygulanan Biyokimsal Testler	21
5.2.1.1. Gram Boyama	21

5.2.2.2. Koagülaz Testi	22
5.2.2.3. Katalaz Testi.....	23
5.2.2.4. DNaz test.....	24
5.2.2.5. Mannitol Salt Phenol Red Agar’da Üreme Testi	25
5.2.2.6. Metisilin Direnci Testi	26
6. BULGULAR	27
7. TARTIŞMA	35
8. SONUÇ	41
9. KAYNAKLAR	43
10. ÖZGEÇMİŞ	50



KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ

AADSS : Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

BPA: Baird Parker Agar

DNaz: Deoksiribonukleaz

EDTA: Ethylenediaminotetraacetic Acid

g: Gram

H₂O₂ : Hidrojen Peroksit

HCl: Hidroklorik asit

HK-MRSA: Hastane Kökenli MRSA

Kob: Koloni Oluşturan Birim

MRSA: Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus*

NB: Nutrient Broth

NCBI: National Center for Biotechnology Information

SE: Stafilokok Kaynaklı Enterotoksinler

SF: Serum Fizyolojik

TK-MRSA: Toplum Kökenli MRSA

TSA: Triptik Soy Agar

TSB: Triptik Soy Broth

µg: Mikrogram

RESİM VE TABLOLAR LİSTESİ

Resim 5.1 Baird Parker Agar’da Üreyen <i>Staphylococcus aureus</i> Görüntüsü.....	21
Resim 5.2. Gram Boyama <i>Staphylococcus aureus</i> Pozitif Görüntüsü.....	22
Resim 5.3 Koagülaz Testi Pozitiflik Görüntüsü.	23
Resim 5.4 Katalaz Testi Pozitiflik Görüntüsü.....	24
Resim 5.5 Dnaz Testi Pozitiflik Görüntüsü.	25
Resim 5.6 Msa’da Pozitif Ve Negatif <i>Staphylococcus aureus</i> Görüntüsü.....	26
Rresim 5.7 Orsab’da Pozitif Ve Negatif <i>Stapylococcus aureus</i> Görüntüsü.....	26
Tablo 6.1: Peynirlerin İlçelere Ve Türüne Göre İncelenmesi	27
Tablo 6.2. İncelenen Dondurma Örneklerinde Tespit Edilen <i>S. aureus</i> Sayısı.....	28
Tablo 6.3. Dondurma Örneklerinin <i>S. aureus</i> Yüğü Açısından Türk Gıda Kodeksine Uygunluk Durumu	31
Tablo 6.4: Baird Parker Agar’da Üreyen <i>S. aureus</i> ’ların İlçelere Göre Dağılımı	31
Tablo 6.5: İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları	31
Tablo 6. 6. Dondurma Örneklerinden Elde Edilen <i>S. aureus</i> İzolatlarının Biyokimyasal Test Sonuçları	32

1. ÖZET

İSTANBUL İLİNDE AÇIKTA SATILAN DONDURMALARIN KOAGÜLAZ POZİTİF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* YÖNÜYLE İNCELENMESİ

Bu çalışmanın amacı İstanbul ilinde açıkta satılan dondurma örneklerinde koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus* varlığının araştırılmasıdır. Bu amaçla Ağustos – Eylül 2015 tarihleri arasında İstanbul ilinin Beykoz, Ümraniye, Üsküdar, Sarıyer ve Beşiktaş ilçelerinin farklı noktalarından toplam 101 adet açıkta satılan dondurma örneği toplanmıştır. İzolatlar DNaz, katalaz, koagülaz enzim aktiviteleri ve metisiline direnç özellikleri yönünden incelenmiştir.

Kültürel ekim yöntemiyle analiz edilen 101 örneğin 66 (% 65,3)'sında *S. aureus* tespit edilmiştir. Ayrıca 101 örneğin 35'inin (% 34,6) *Staphylococcus aureus* sayısı bakımından 2009/68 numaralı, 27456 sayılı Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne uygun olmadığı belirlenmiştir.

Staphylococcus aureus içeren örneklerden elde edilen 94 adet izolatın 61'inin (% 64,8) koagülaz testinde pozitif reaksiyon verdiği, 81'inin (% 86,1) katalaz pozitif reaksiyon verdiği, 21'inin (% 22,3) DNaz pozitif olduğu, 18'inin (% 19,1) metisiline dirençli olduğu yapılan çalışmalar sonucunda tespit edilmiştir.

Sonuç olarak İstanbul ilinde çeşitli ilçelerden alınan ve açıkta satılarak tüketime sunulan dondurmaların yeterli mikrobiyolojik kriterlere sahip olmadığı ve toksijenik *S. aureus* yönüyle risk taşıdığı tespit edilmiştir. Özellikle çocuklar tarafından çokça tüketilen dondurmaların uygun olmayan mikrobiyolojik koşullarda üretimi veya kontaminasyona uğraması halk sağlığı açısından risk oluşturmaktadır. Dondurma üretim aşamalarında kullanılan hammadde, alet, ekipman ve personel hijyenine gerekli özenin gösterilmesi, HACCP, GMP, GHP kurallarının uygulanması gerektiği kanatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Dondurma, *Staphylococcus aureus*, koagülaz, DNaz metisilin direnci.

2. ABSTRACT

THE EXAMINATION OF UNPACKAGED ICE-CREAM RETAILED SAMPLES IN ISTANBUL CITY ASPECT OF COAGULASE POSITIVE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

The aim of this study was to evaluate the incidence of *Staphylococcus aureus* in unpackaged ice cream retailed samples in Istanbul. For that purpose total of 101 unpackaged ice-cream samples which were collected from different manufactures in district of Istanbul where are Beykoz, Umraniye, Uskudar, Sariyer and Besiktas between August 2015 to September 2015. Isolates tested for the DNase, catalase, coagulase enzyme activities and methicillin resistance properties.

Staphylococcus aureus is determined in 66 (65,3%) of total 101 samples using cultural method. *S. aureus* contamination rate of 35(34,6%) out of 101 ice-cream samples exceeded the corresponding Turkish Food Codex (anouncement number 2009/68, numbered 27456) maximum limits of Microbiological Criteria Announcement.

Totally 94 of *Staphylococcus aureus* strains were isolated from the ice cream samples and it was found that 61 (64,8%) of the strains were coagulase positive, 81 of them (86,1%) were catalase positive, 21 of them (22,3%) were DNase positive and 18 of them (19,1%) had methicillin resistance.

The results of this study indicate that unpackaged ice-cream sold at retail in different districts of Istanbul doesn't have adequate microbiological criterias. Ice-creams which are commonly consumed especially in children, produced inadequate microbiological conditions and contaminated may poses serious risks in terms of food safety and public health. Therefore it was concluded that necessary hygienic measures especially in terms of raw material, personal hygiene, and disinfection of equipments in the ice-cream production stages should be taken and HACCP, GMP and GHP regulations should be implemented. Key Words: Ice-cream, *Staphylococcus aureus*, coagulase, catalase, DNase, Methicillin resistance.

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Beslenme; büyüme ve gelişmenin sağlanması, yaşamın sürdürülmesi ve sağlığın korunması için besin öğelerinin vücuda alınması ve vücutta kullanılmasıdır. Besinler, beslenme için gerekli olan karbonhidrat, yağ, protein, vitaminler, su ve mineralleri sağlamaktadır Baysal (1).

Günümüzde özellikle gelişmiş ülkelerde, insan çok çeşitli besin bulma olanağına sahiptir. Bu besinler, içerdikleri karbonhidrat, yağ, protein, vitamin ve mineraller bakımından ve görünüş ve lezzet yönünden 5 grupta toplanabilmektedir. Bunlar; sebze ve meyve grubu, süt ve süt ürünleri, et ve et ürünleri, tahıllar, yağ ve şeker grupları şeklinde sıralanabilmektedir Baysal (1).

Süt ve süt ürünlerine özellikle fosfor ve kalsiyum başta olmak üzere bazı önemli mineraller, protein ve riboflavin gibi bazı B grubu vitaminlerin kaynağı olarak bakıldığında halk sağlığı açısından önemi anlaşılmaktadır. Süt proteinlerinin vücutta büyüme ve gelişmeye katkısı, doku farklılaşmalarındaki etkisinin yanında kalsiyum emilimi ve immün fonksiyonlar üzerine olumlu etkilerinin olduğu, kan basıncı ve kanser riskini azalttığı, vücut ağırlığının kontrolünde etkin olduğu, diş çürüklerine karşı koruyucu olduğu bilinmektedir Yılmaz (2).

Dondurma; süt yağsız kurumaddesi, yağ, şeker, emülgatör, stabilizatör, renk ve lezzet veren maddelerden oluşan karışımın farklı düzenlerde işlenmesiyle elde edilen kompleks, fizikokimyasal yapıya sahip besleyici değeri yüksek bir süt ürünüdür Akbulut ve Kınık (3). Dondurma, bütün dünyada her yaştaki milyonlarca insan tarafından sevilerek tüketilen serinletici bir gıdadır. Dondurma, tüketicilere vermiş olduğu yeme zevkinin yanı sıra vitaminler ve kalsiyum başta olmak üzere birçok minerali içermesi nedeniyle çok sağlıklı ve besleyici bir tatlıdır Konar (4).

Dondurmayla ilgili yazılı ilk belgelere 1769 yılında İngiltere’de yayımlanan bir dergide rastlanılmıştır Kerr (5), Smith,(6). Dondurmanın tarihi yaklaşık 3000 yıl öncesine dayanmakta, ülkemizde ise ilk defa 1900’lü yılların başlarında Kahramanmaraş’ta ve İstanbul’da üretilmeye başlanmıştır Yöney (7).

Dondurma çoğunlukla yaz aylarında tüketilen bir besindir. Tüketim mevsimi nedeniyle önemli patojenlerin üremesine uygun bir ortam oluşturmaktadır. Dondurmanın mikrobiyel kalitesi halk sağlığı açısından büyük bir önem taşımaktadır. Dondurma yapımı sürecinde uygulanan yetersiz pastörizasyon, kontamine olmuş hammadde ve katkı maddelerinin kullanımı, alet ve ekipman, ortam havası, çalışan personel, kullanılan su, ambalaj materyalleri, dağıtım ve piyasaya arz edilmesi esnasında uygun koşulların sağlanamaması nedeniyle mikroorganizmalarla kontaminasyon oluşabilmektedir Ahmed ve ark. (8). Dondurmalar besin zehirlenmesine neden olmakta ve halk sağlığı sorunları arasında önemli bir yer tutmaktadır Erol ve ark. (9).

Ülkemizde çiğ sütlerde hijyenik kalite şartlarının düşük olduğu bilinen bir gerçektir. Bu sebeple hijyenik kalitesi yeterli olmayan çiğ süttten ya da yetersiz pastörizasyon uygulanmış süttten elde edilecek olan dondurmanın pastörizasyon işlemi yeterli olmadığı zaman hijyenik kalitesinin yetersiz olması ve enfeksiyon kaynağı oluşturması kaçınılmaz bir durumdur. Çünkü çiğ süt *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Bacillus anthracis*, *Listeria monocytogenes*, *Toxoplasma gondii*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, Herpes virüsler ve Hepatit A virüsü gibi zoonotik etkenleri içerebilmektedir Tunail ve Köşker (10), Anonim(11), Tunail (12).

Çeşitli ülkelerde hijyen indikatörü olan bazı mikroorganizmaların dondurmalarda bulunma düzeyleri üzerine yapılan araştırmalar sonucunda en sık rastlanılan mikroorganizmalar; *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Enterobacter cloacea*, daha az sıklıkla, *Y. enterocolitica*, *Shigella spp.*, *Brucella spp.*, *Aeromonas caviae*, *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus zymogenes* türleri ile Enterobacteriaceae familyasına ait çeşitli türler; *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter*, ve *Hafnia* da dondurmalarda bulunabilmektedir. En sık rastlanılan mikroorganizmaların başında geldiği için besinlerde *Staphylococcus aureus* varlığının araştırılması büyük bir önem taşımaktadır Nickerson ve ark. (13), Warke ve ark. (14), Rodriges Alvarez ve ark. (15), Gilliant ve ark. (16).

Stafilokokal gıda zehirlenmeleri enterotoksijenik stafilokoklar tarafından gıdalarda oluşturulan enterotoksinlerin alınması sonucu şekillenen intoksikasyonlardan biridir. *Staphylococcus aureus* enterotoksijenik stafilokoklar içerisindeki en önemli türdür. Enterotoksijenik stafilokoklar en fazla kırmızı et, kanatlı eti, balık eti ve ürünleri ile süt ve ürünleri gibi proteince zengin hayvansal gıdalarda bulunmaktadır Erol (17). Başta hayvansal gıdalar olmak üzere değişik gıdalar stafilokokal gıda zehirlenmelerine sebep olmaktadır. Hayvan kökenli pişirilmiş veya az pişirilmiş gıdalardan sığır, domuz, hindi ve tavuk eti, özellikle süt tozu ve peynir olmak üzere süt ürünleri, etli patates salatası ve diğer et salataları, balık ve yumurta, kremalı pasta ürünleri ayrıca süt, şeker ve yumurtadan yapılan dondurulmuş soslar bunların başında gelmektedir Bergoll (18). Enterotoksijenik *S. aureus* suşlarının gıdada 10^6 kob/g veya kob/mL düzeyine ulaşmaları ya da bu düzeyi geçmeleri sonucunda zehirlenme belirtilerinin ortaya çıkabilmesi için yeterli miktarda toksin oluşabilmektedir Erol (19).

Üretimi ve muhafazası uygun olmayan çiğ süttten üretilen gıdalar, çeşitli enfeksiyonlara ve özellikle stafilokokal intoksikasyonlara yol açarak halk sağlığı için tehdit oluşturmakta ciddi miktarda ekonomik kayıplara neden olabilmektedir. Çiğ süttün farklı süre ve sıcaklıklarda bekletilmesi, bakteriyolojik yükü ve toksin oluşumunu etkilemektedir. Dondurma da ana maddesi süt olan bir gıda olduğu için süttün taşıdığı riskleri taşımaktadır İnal (20).

Bu çalışmada, İstanbul ilindeki farklı satış noktalarından temin edilen açıkta satılan dondurma örneklerinde gıda güvenliği açısından intoksikasyon riski taşıyan koagülaz pozitif *S.aureus* varlığının ve yaygınlığının saptanması amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Tarihçe

Stafilokoklar, 1878 yılında Robert Koch tarafından tanımlanmış ve 1884 yılında yapılan sınıflandırmada Micrococcaceae familyası içerisinde ayrı bir soy olarak yer almıştır Götz ve ark. (21). Yeni sınıflandırma sisteminde Staphylococcaceae familyası içerisinde yer almaktadırlar. National Center for Biotechnology Information (NCBI) tarafından yapılan son sınıflandırmaya göre ise *Staphylococcus* cinsi içerisinde 49 tür olduğu belirlenmiştir. Bu türlerin büyük bir kısmının zararsız olduğu ve enfeksiyonlara yol açmadığı ileri sürülmektedir Gillaspy ve Iandolo (22). Bunların aksine, bu familyada yer alan bazı türler ise konakçı hücre ve dokularına yerleşerek enzim ve toksin üretmek suretiyle çeşitli hastalıklara ve toksikasyonlara neden olabilmektedir. Bu türlerden gıda mikrobiyolojisi yönünden en önemli patojen türün *S. aureus* olduğu bilinmektedir . Ayrıca insan ve hayvan enfeksiyonları ile gıda kaynaklı hastalıklarda en çok *S. aureus* izole edilmiş olması sebebiyle çalışmalar daha çok bu tür üzerinde yoğunlaşmıştır Zell ve ark. (23).

S. aureus, ilk olarak 1880 yılında, İskoç cerrah Sir Alexander Ogston tarafından diz eklemindeki bir apseden izole edilmiştir. Ogston, stafilokokların mikroskop altında üzüm salkımına benzeyen yığınlar şeklinde görüldüğünü tespit etmiştir. Mikroorganizmanın ismi Yunanca üzüm salkımı anlamına gelen “staphyle” ve tane anlamındaki “coccus” kelimesinden türemiştir. Alman doktor Friedrich Julius Rosenbach’ın 1884 yılında bu bakteriyi *S. aureus* olarak isimlendirmiştir. Bunun nedeni saf kültürden izole ettiği bakteriyi kolonilerin rengine göre Latince’de altın anlamına gelen “aurum” kelimesinden türeterek isimlendirmesidir Henry (24).

Stafilokokların temel kaynağını insan ve hayvanlar oluşturmaktadır. Stafilokoklar, doğal olarak insan ve hayvanların normal deri ve mukoza florasında bulunmaktadır. *S. aureus* patojen bir mikroorganizma olmasına karşın sağlıklı insanların burun mukozası ve deri florasında doğal olarak bulunmaktadır. Gıdaların stafilokoklarla kontamine olmasında en önemli etken insanlardır ve mastitisli hayvanlardan sağlanan sütler, kontamine olmuş hayvansal gıdalar da stafilokok kontaminasyonunda büyük önem

taşımaktadır. Stafilocoklar aynı zamanda hava ve su da dahil olmak üzere insan ve hayvansal organizma ile temas edebilecek ortamlarda bulunabilmektedir Erol (19).

4.2. Stafilocokların Sınıflandırılması ve Genel Özellikleri

Stafilocoklar Gram pozitif, küre şeklinde, 0.5-1.5 µm çapında, sporsuz, genellikle kapsülsüz, fakültatif anaerob özellikte bakterilerdir. Optimal üreme sıcaklıkları 30-37°C' aralığındadır. Anilin boyaları ile iyi boyanırlar. Cinse ait bir özellik olarak bu küreler kümeler oluşturarak üzüm salkımı şeklinde görünürler. Stafilocokların bu görünüşlerine daha çok katı kültürlerden hazırlanan preparatlarda rastlanmaktadır. Sıvı besiyerlerinden hazırlanan preparatlarda kümeler pek görülmez. Fazla dağıtılarak hazırlanan preparatlarda etken küçük kümeler, kısa zincirler, ikişerli gruplar veya tek tek halinde görülebilmektedir. Katı besiyerinde stafilocoklar 24-48 saat içinde bol miktarda üremekte ve genellikle 1-2 mm çapında yuvarlak, konveks ve parlak koloniler oluşturmaktadır. Özellikle patojen olan *S. aureus* kolonilerinde pigment oluşumu ve hemoliz görülebilmektedir. Kolonilerin rengi beyaz ve limon sarısı arasında değişiklik göstermektedir. Patojen stafilocoklar kültürlerde +4 °C'de 2-3 ay, -20°C'de 3-6 ay canlı kalabilmekte, 60°C'ye ise 30 dakika dayanabilmektedir. Sodyum klorürün % 9'luk konsantrasyonlarına ve sakkaroz toleranslıdır ve % 2'lik fenolde 15 dakikada inaktive olmaktadır Bilgehan (25).

Stafilocok türleri koagülaz, katalaz, DNaz, lesitinaz gibi çeşitli enzimlere sahiptir. Tüm stafilocoklarda katalaz enzimi bulunmaktadır. Toksik hidrojen peroksidi (H₂O₂), toksik olmayan oksijen ve suya ayrıştıran bir enzimdir. Stafilocokların ayırt edilmesinde kullanılan bir identifikasyon testidir. Koagülaz enzimi ise bir patojenite kriteri olarak bilinmekte ve *Staphylococcus* türleri koagülaz pozitif ve negatif olmak üzere iki grupta değerlendirilebilmektedir. Koagülaz enzimi fibrinojeni fibrine çevirerek plazmayı koagüle etmektedir. Oluşan fibrin ağı bakteriyi fagositozdan korumaktadır. Koagülaz-negatif *Staphylococcus* türleri de *in vitro* ve *in vivo* koşullarda polimer yüzeylere yapışarak üreyebilmektedir. Başka bir enzim olan hyaluronidaz enzimi patojen *Staphylococcus* türlerinin yaklaşık % 90'ında bulunmakta ve bağ dokudaki hyaluronik asidi parçalayarak bakterinin doku içinde

yayılmasını sağlamaktadır. Fibrinolizin enzimi patojen *Staphylococcus*'ların fibrin pıhtılarını eritmesini sağlamaktadır. Penisilinaz enzimleri penisilinin beta laktam halkasını parçalayarak penisiline dirençliliği sağlamaktadır. Bu bakteri türleri ayrıca, DNaz, termonükleaz, lipaz gibi patojenite ile ilgili enzimlere de sahiptirler Aybay ve ark. (26) .

Bazı *Staphylococcus* türleri *in vitro* veya *in vivo* koşullarda kapsül oluşturabilmektedir. *S. aureus*'un tüm hücreleri birbirine benzerlik gösteren, sporsuz, hareketsiz ve kapsülsüz koklardır. *S. aureus* izolatlarının çoğunda sarı pigment ve beta-hemoliz görülmektedir. Kanlı agarda 18-24 saatlik inkübasyon sonrasında opak, düzgün yüzeyli, konveks koloniler şeklinde üremektedir. *S. aureus*'un hücre duvarında immunoloji ve teşhiste önemli olan Protein-A maddesi bulunmaktadır. Peptidoglukan tabakasına kovalent olarak bağlanmış bu madde bakteriyi fagositoza karşı korumaktadır. Hücre duvarında peptidoglukan ve sitoplazmik membran ile bağlantısı bulunan teikoik asit adlı polisakkarit de bulunmaktadır Ünal ve Akhan, (27).

1960 yılında stafilokoklar tarafından üretilen penisilini parçalayan enzimlere (penisilinaz) dayanıklı semisentetik bir penisilin olan metisilin geliştirilmiştir. Bu sayede, stafilokok infeksiyonlarının tedavisinde ikinci büyük başarı kazanılmıştır. Metisilinin geliştirilmesinden bir yıl sonra (1961), stafilokoklarda metisilin direnci tanımlanmıştır. 1970'li yılların sonu ile 1980'li yılların başlarından itibaren de metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşlarında çoklu antibiyotik direnci ortaya çıkmaya başlamıştır Boyce (28).

Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) hastane kaynaklı enfeksiyonlarda önemli bir etkindir. 1990'lı yıllardan itibaren görülmeye başlayan toplum kökenli MRSA (TK-MRSA) suşları bazı ülkelerde önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir Salgado (29). TK-MRSA'nın genetik ve klinik özellikleri bakımından hastane kökenli MRSA (HK-MRSA)'dan farklılık göstermektedir. Özellikle daha önceden sağlıklı olduğu bilinen kişilerde ağır enfeksiyonlara sebep olması ve HK-MRSA suşlarına göre antibiyotiklere daha duyarlı olması açısından farklılık göstermektedir Rybak(30), Salgado (29)). TK-MRSA'nın neden olduğu hastalık spektrumu toplumdaki metisiline duyarlı *S. aureus* suşlarınıninkilere benzemektedir. En sık gözlenen klinik durumlar

fronkül, karbonkül ve apse şeklinde kendini gösteren deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarıdır Rybak (30).

TK-MRSA enfeksiyonları için risk faktörlerine bakıldığında kalabalık ortamlarda bulunanlarda ve düşük sosyoekonomik düzeyi olanlarda riskin daha fazla olduğu bilinmektedir. Askerler, sporcular, bakımevlerindeki çocuklar, gemiciler, mahkumlar risk gruplarından bazılarıdır Özgüven (31).

AADSS (Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi) 2008 verilerine göre MRSA oranları ülkeden ülkeye farklılık göstermektedir. Slovenya, Avusturya ve Lüksemburg'da MRSA oranı %10'un altında; Çekoslovakya, Belçika, Fransa, Macaristan, Almanya, İsviçre ve Polonya'da %10 - %25 arasında; Hırvatistan, İngiltere, İrlanda, İtalya, İspanya, Romanya, Kıbrıs, Yunanistan ve Türkiye'de % 25 üzerinde MRSA oranı tespit edilmiştir. Portekiz ve Malta'da bu oran % 50'lere ulaşmakta; Kuzey Avrupa ülkelerinde ise % 2'nin altında seyretmektedir Stefani ve ark. (32)

Türkiye'de MRSA enfeksiyonları özellikle beşeri hekimler tarafından yıllardır takip edilmektedir ve giderek yaygınlaşmaktadır Erdem (33). Bu sebeple MRSA varlığının araştırılması büyük bir önem arz etmektedir.

Hayvanlarda MRSA ilk defa 1972 yılında ineklerden izole edilmiştir. Ardından 1987 yılında kedilerden, 1988 yılında köpeklerden de izole edilmiştir Leonard (34). Günümüze kadar olan süreçte at, köpek, kedi, inek, koyun, tavuk, domuz, tavsan, gibi çiftlik hayvanları ve evcil hayvanların yanı sıra, kaplumbaga, yarası, deniz aslanı, fil, kemiriciler ve yabani hayvanlarda da MRSA kolonizasyonu ve buna bağlı MRSA enfeksiyonu bildirilmiştir Lee (35). 1993 yılında ABD'de atlarda MRSA salgını görülmüş ve bu salgın sonraki yıllarda Japonya, Avusturya, İngiltere, İrlanda'da da tespit edilmiştir Baptiste ve ark. (36). Yapılan araştırmalarda domuz yetiştiriciliği yapılan çiftliklerde MRSA'ya yaygın olarak rastlanması domuzların bu çiftliklerde çalışan kişiler için risk kaynağı olabileceği görüşünü desteklemiştir. Ayrıca, enterotoksin genlerine sahip MRSA suşlarının insanlarda gıda zehirlenmelerine neden olarak TK-MRSA enfeksiyonları için risk oluşturduğu da bildirilmiştir Duijkeren ve ark. (37)

Süt sığırcılığı yapılan işletmelerde, stafilocoklar ineklerde mastisitlere neden olmakta ve bunun sonucunda ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Mastitis kontrol programlarının yapılmadığı işletmelerde stafilocokların neden olduğu mastitislerin prevalansı %50'lere kadar çıkmaktadır. Mastitislerin tedavisinde penisilin, tetrasiklin ve aminoglikozid grubu antibiyotiklerin yaygın olarak kullanıldığı ve mastitisli inek sütlerinden izole edilen stafilocok suşlarında bu antibiyotiklere karşı direncin arttığı bildirilmektedir Arda (38).

MRSA taşıyan hayvanların ve bu hayvanların sütlerinin tüketilmesi halk sağlığı açısından risk oluşturmaktadır.

4.3. Stafilocokal Enfeksiyonlar

Stafilocoklar insanlarda yüzeysel deri ve mukoza enfeksiyonlarından, ciddi sistemik enfeksiyonlara kadar değişen çok çeşitli hastalıklara neden olmaktadır. İnsanlardaki stafilocok enfeksiyonlarının oluşumuna neden olan başlıca etken olarak *S. aureus* görülmektedir. *S. aureus* dışında fırsatçı patojenler olarak *S. epidermidis* ve *S.saprophyticus* sıklıkla enfeksiyon oluşumuna neden olmaktadır Akgün (39).

S. aureus doğal olarak en fazla burun ve boğaz boşluğunu örten mukoz dokuda bulunmaktadır. Buradan pek çok yere yayılmakta ve deride, en çok da ellerde, kollarda ve yüzde bulunmaktadır. İnsan ve hayvanların dışkılarında, apseli yaralarda, sivilce ve çibanlarda yoğun olarak bulunmaktadır. Boğaz kültürlerinde ortamın dominant florası arasında *S. aureus* da bulunmaktadır ve buradan izole edilen suşların % 20'sinin enterotoksin oluşturduğu belirlenmiştir Anonim (40).

İnsan savunma mekanizması, mikroorganizmanın sayısı ve virülensi, deri ve mukoza bütünlüğünün bozulması enfeksiyon oluşumunu etkileyen faktörlerdir. Deri yanıkları, travmatik yaralar hazırlayıcı faktörlerdir. Damar içi protez ve plastik katater uygulamaları ile bakteriyemi gelişebilmektedir. Burun florasında stafilocok taşıyanlar önemli enfeksiyon kaynağıdır. Bakteri hava yoluyla ve temasla bulaşmaktadır. Taşıyıcılar deri ve nazofarinkslerinde bulunan stafilocokları yiyeceklere bulaştırarak, besin zehirlenmesine neden olabilmektedir Bilgehan (41).

Stafilokoklar en yaygın olarak lokalize deri enfeksiyonları, yaygın deri döküntülü enfeksiyonları, solunum sistemi enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları ve stafilokokal besin zehirlenmesine neden olmaktadır Akgün (39).

Yapılan araştırmalar gıda kaynaklı enfeksiyonların üçte birinin bakteriyel etkenlerin oluşturduğunu ortaya koymuştur. *Salmonella* spp bu etkenler arasında ilk sırada yer alırken *Staphylococcus aureus* ikinci sırada yer almaktadır Bhatia, (42).

Sağlıklı kişilerde stafilokokal besin zehirlenmesi intoksikasyona yol açmaktadır, bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde ise ciddi enfeksiyonlara ve epidemik kontaminasyona yol açabilmesi bakımından önem taşımaktadır Çakıcı ve ark., (43).

Gelişmiş ülkelerde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, dünyada görülen gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyonların meydana gelmesinde hayvan kaynaklı olguların önemli bir rol oynadığı ortaya konmuştur. Kanatlı hayvanların yetiştirildiği kümesler; kesim, işleme, paketlenme, muhafaza ve dağıtım gibi aşamalarda, tavuk ve hindi etlerinin hijyenik olmayan koşullarda işlem görmesine bağlı olarak *S. aureus* gibi patojen bakterilerle kontaminasyonu gerçekleşmekte ve halk sağlığı bakımından risk oluşturmaktadır İşeri (44).

Stafilokoklar, memelilerin ve kuşların pek çok çeşidinde yaygındır. Gıda üretiminde kullanılan inek, koyun, keçi gibi geviş getiren rezervuar hayvanların deri ve mukozalarında da *S. aureus* bulunmaktadır. Çiğ et, sucuk, çiğ süt gibi gıdalardaki kontaminasyon *S. aureus* taşıyıcısı veya *S. aureus* enfeksiyonu sebebiyle (mastitis vb.) hayvansal kökenlidir Loir ve ark., (45). Subklinik mastitisten sıklıkla elde edilen bu bakteriler süt ve süt ürünlerinin kontaminasyonuna yol açmaktadır Normanno G. ve ark., (46). Ülkemizde yoğun olarak süt ve süt ürünleri üretimi yapılmaktadır. Yapılan bu üretimin büyük bir kısmı küçük işletmelerde ve mandıralarda yapılmaktadır. Peynir mikroflorasının, yapımı sırasında kullanılan süt ve peynirin olgunlaşma süresine bağlı olarak değiştiği bilinmektedir. Özellikle çiğ süttten elde edilen peynirler halk sağlığı açısından büyük riskler oluşturmaktadır. Mastitisli hayvandan elde edilmiş kontamine süttten çiğ olarak üretilen ve olgunlaşma sürecini tamamlamayan peynirler enfeksiyon ve intoksikasyon açısından risk oluşturmaktadır. Bu üretim koşullarından dolayı süt

ve süt ürünleri kaynaklı enfeksiyon ve gıda zehirlenmelerinin riski artmaktadır Yücel Ve ark. (47).

4.4. Stafilokokal Enterotoksinler

Staphylococcus aureus suşları tarafından üretilen enterotoksinler dünyada gıda zehirlenmelerinin en yaygın sebebi olarak nitelenmektedir Gilligan ve ark. (48). Molekül ağırlıkları 26-30 kDa olan stafilokokal enterotoksinler (SE) tekli polipeptit zincirlerden oluşmaktadır (SE). Yapılarında fazla miktarda lizin, asparjin ve glutamik asit bulunmaktadır. Enterotoksinler, suda kolay çözünmekte ve izoelektrik nokta pH değeri 7.0-8.6 arasında bulunmaktadır. Stafilokokal enterotoksinlerin proteolitik enzimlere (pepsin, tripsin, kimotripsin, papain vb.), düşük pH değerine ve relatif yüksek ısıya (100C°de 30 dk) direnç özellikleri, gıda zehirlenmelerindeki riski artırmaktadır. Enterotoksinlerin ısıya olan direnci, enterotoksinin tipi, gıdanın türü ve besi ortamının pH değeri ile tuz konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir. Enterotoksinlerin; SEA, SEB, SEC (*Staphylococcus aureus* enterotoksin C1 ve C2), SED, SEE ve *Staphylococcus aureus* enterotoksin F (SEF) olmak üzere 7 immünolojik tipi bulunmaktadır. *S. aureus* suşlarının % 35-50'sinin bu toksinleri üretebildikleri saptanmıştır Mandell (49).

Genel olarak enterotoksijenik *S. aureus*'ların gıdada 10⁶ kob/g veya kob/mL düzeyine ulaşmaları ya da bu düzeyi geçmeleri sonucu zehirlenme belirtilerinin ortaya çıkabilmesi için yeterli miktarda toksin oluşabilmektedir. Toksinlerin oluşumunda suşun tipi, gıdanın kompozisyonu, sıcaklık, diğer fiziksel ve kimyasal parametreler ile inhibitörlerin varlığı rol oynamaktadır Erol (19).

Enterotoksinlere gıdalardan en fazla süt ve süt ürünlerinde rastlanmaktadır. Sütte en yaygın olarak SEA, SEB, SEC, SED, SEE serotipleri bulunur. Genellikle kontamine süt ve süt ürünlerinin tüketilmesiyle bu enterotoksinler alınmaktadır Erol, (17).

Sütlerde ve mandıra ürünlerinde bulunan enterotoksinler düşük konsantrasyonlarda (0.5- 0.75 ng/mL) dahi gıda zehirlenmesine yol açabilmektedir. Bu sebeple gıda zehirlenmesine neden olan *S. aureus*'un izolasyonu ve toksininin belirlenmesi için güvenilir, hızlı, basit ve hassas analitik bir metodun kullanılması gerekmektedir. Enterotoksinlerin belirlenmesinde çeşitli ticari hızlı test kitleri (TRANSIA,

RIDASCREEN, RPLA, TECRA, VIDAS) kullanılmaktadır Betley and Mekalanos, (50).

4.5. *Staphylococcus aureus* Kaynaklı Gıda Zehirlenmesi

İlk stafilocokal gıda zehirlenmesi vakasının 1884 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) görüldüğü bildirilmiştir. Filipinli çiftçilerde 1914 yılında mastitisli ineklerden sağılan sütün tüketilmesi sonucu, stafilocokal gıda zehirlenmesi tespit edilmiştir. Şüpheli süt örneğinde önemli miktarda stafilokok belirleyen araştırmacılar, bu sütü kendileri de tüketerek gıda zehirlenmesi belirtilerinin doğruluğunu kanıtlamışlardır Minor, 1976 (51).

İntoksikasyonun klinik belirtilerinin görülmesinde 100 gram gıda için en az 100 ng stafilocokal enterotoksin çeşitlerinden birinin bulunmasının yeterli olduğu bildirilmiştir. Stafilocokal gıda zehirlenmeleri, enterotoksin oluşumundan sonra gıdanın ısıtılma işlemine tabi tutulması veya ısıtılma işleminden sonra kontaminasyona bağlı enterotoksin oluşumunu takiben gıdaların tüketilmesi sonucunda oluşmaktadır İşeri, 2009 (44).

Stafilocokal gıda zehirlenmeleri önceden oluşturulmuş toksinlerin yenmesinden sonra kısa bir inkübasyon süresinin ardından (2-6 saat) bulantı, kusma, karın ağrısı ve ishal ile karakterize edilmektedir. Yaşlılar genç bireylere göre gıda kaynaklı gastroenteritlere daha çok duyarlılık gösterirler. Akut stafilocokal gıda zehirlenmesi çok nadir durumlarda komplikasyonları nedeniyle ölümle sonuçlanmaktadır. Stafilocokal enfeksiyonların stafilocokal gıda zehirlenmesi semptomlarına nasıl sebep oldukları hakkında çok az şey bilinmektedir. Muhtemelen abdominal visera ile temaslarının sonucu vagus ve semptomatik sinirler aracılığı ile kusma merkezi uyarılmaktadır Loir (45). Stafilocokal gıda zehirlenmesi kontamine besinlerle oluşmuş zehirlenmelerin yılda %14-20'sini oluşturarak akut besin zehirlenmeleri arasında ikinci sırada yer almaktadır. Amerika'da *S. aureus*'a bağlı rapor edilmeden görülen besin zehirlenmelerinin yaklaşık 185.000 kişiyi etkilediği tahmin edilmektedir Jones (52).

Ülkemizde saptanan besin zehirlenmelerinden sıklıkla *E. coli*, *Salmonella*, stafilokok, streptokok ve *B. cereus* türleri sorumludur Arslan (53).

Önceki yıllarda gıda kökenli bütün stafilokokal gıda zehirlenmelerine koagülaz pozitif *S. aureus* suşlarının neden olduğu düşünülmüş ve bu sebeple yapılan çalışmalar koagülaz ve termonükleaz üreten *S. aureus* suşlarının varlığının saptanması ve sayısının belirlenmesi üzerine odaklanmıştır. Günümüzde *S. aureus* suşlarının birçoğunun enterotoksin üretmediği ve koagülaz negatif *S. aureus* suşlarının bazılarının ise enterotoksin oluşturabildiği yapılan çalışmalar sonucu belirlenmiştir. Stafilokokal gıda zehirlenmesi riski, bakteriyel gelişmenin ve/veya toksin oluşumunun azalması ile büyük ölçüde azaltılabilmektedir. Bu konuda alınabilecek en etkili önlemlerden biri ısıl işlemin diğeri ise dopolama koşullarının uygun şartlarda olmasını sağlamaktır. Gıdada $10^5 - 10^6$ kob/g *S. aureus* varlığı enterotoksin oluşumu için "toksik düzey" olarak kabul edilmektedir. Ayrıca gıdada *S. aureus* bulunması o gıdanın stafilokokal gıda zehirlenmelerine neden olacağı anlamına gelmeyeceği gibi tersine olarak gıdada *S. aureus* bulunmaması o gıdanın stafilokokal gıda zehirlenmelerine neden olmayacağına dair güvence vermemektedir. Isıl işlem başta olmak üzere yapılan çeşitli uygulamalar *S. aureus* hücrelerini öldürebilmekte, fakat daha önceden oluşmuş enterotoksini tahrip edemeyebilmektedir Bergdoll (54).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada çiğ süt örneklerinde tespit edilen *Staphylococcus aureus* sayısı ile, SEA, SEC enterotoksin bulunması arasında pozitif bir ilişki tespit edilmiştir Yılmaz, (2).

Stafilokokal gıda zehirlenmesi, enterotoksijenik stafilokoklar tarafından gıdada oluşturulan toksinlerin alimenter yolla alınması sonucu oluşmaktadır. Stafilokokal gıda zehirlenmesinde semptomlar 30 dakika ile 8 saatlik bir zaman arasında ortaya çıkmasına rağmen genellikle 2 ile 4 saat içinde görülmektedir. İntoksikasyon mide bulantısı, kusma, şiddetli kramplar, abdominal ağrı ve diyare ile karakterizedir. Kusma en yaygın görülen semptomdur. Baş ağrısı, baş dönmesi, genel halsizlik, nabızda zayıflık, yüzeysel solunum, şok ve enteritis daha az görülen diğer semptomlardır. Toksinlerin bağırsaktaki lokal sinir reseptörlerini uyarmasına bağlı olarak vagus ve sempatik sinirler üzerinden geçen impulsların beynin subkortikal kusma merkezine ulaşması sonucu emetik tepki oluşmaktadır. Stafilokokal gıda zehirlenmesinde en yaygın görülen ikinci semptom diyaredir. Stafilokokal enterotoksinlerin intestinal hücreler üzerine etkisi açık değildir ve bu yüzden kolera toksini veya *Escherichia coli*

enterotoksinleri gibi klasik enterotoksinlerden farklılık göstermektedir Halpin-Dohnalek ve Marth (55).

Stafilokokal gıda zehirlenmesi olgularında ölümün nadir görüldüğü ancak çocuklar ve yaşlılarda ölüm oranının % 0.03' - % 4.4 arasında değişebildiği bildirilmiştir. Sutherland ve Varnam (56).



5. MATERYAL VE METOT

5.1. Materyal

Bu çalışma kapsamında Ağustos – Eylül 2015 tarihleri arasında farklı işletmeler tarafından üretilen ve İstanbul ilinde açıkta satılan 101 adet dondurma örneği materyal olarak kullanılmıştır. Seçilen dondurma örnekleri İstanbul ilindeki Kavacık, Ümraniye, Üsküdar ve Beşiktaş ilçelerinde açıkta satış yapan işletmelerden temin edilmiştir. Dondurmalar satın alındıktan sonra buz akülerine yerleştirilerek laboratuvara getirilmiş, taşıma sürecinde soğuk zincirin korunmasına ve kontaminasyon riskinin oluşmamasına özen gösterilmiştir.

5.1.1. *Staphylococcus aureus* İzolasyon ve Sayımında Kullanılan Besiyerleri

5.1.1.1. Baird-Parker (BPA) Agar Base

Dondurma örneklerinden *S. aureus* izolasyonu ve sayımı için Baird Parker Agar (BPA, Merck 1.05406) besiyeri kullanılmıştır. Besiyerinin hazırlanmasında 58 g/L oranda besiyeri tartılarak distile su ile sulandırılmıştır. Elde edilen homojen karışım 121°C 'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra 45-50°C'ye soğutulurken Egg yolk-tellürit emülsiyon (Merck, 1.03785.0001) 50 mL/950 mL miktarında besiyerine eklenerek BPA hazırlanmış ve steril Petri kutularına 15 mL miktarda dökülerek katılaşması sağlanmıştır. Besiyerinin bileşimi aşağıda yer almaktadır.

Baird Parker Agar Base

Bileşen	Miktar
Pepton	10.0
Et özütü	5.0
Maya özütü	1.0
Sodyum privat	10.0
Glisin	12.0
Sodyum klorid	5.0
Agar	15,0
pH	6,8 ±0.2

Egg Yolk-Tellurite Emülsiyon

Bileşen	Miktar
Steril Egg Yolk (Yumurta Sarısı)	200 mL
NaCl	4,25 g
Maya ekstratı	1,0 g
Potasyum tellürit	2,1 g

5.1.1.2. Tryptic Soy Agar

Çalışmada elde edilerek stoklanan izolatların canlandırılmasında Tryptic Soy Agar (TSA, Merck 1.05458.0560) kullanılmıştır. 40,0 g/L oranında tartılarak sulandırılan besiyeri 121°C 'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir Besiyerinin içeriği aşağıda verilmiştir.

TSA (Tryptic Soy Agar)

Bileşen	g/L
Peptone from Casein	15,0
Peptone from Soymeal	5,0
NaCl	5,0
Agar Agar	15,0

5.1.1.3. Tryptic Soy Broth

Dondurma örneklerinden izole edilen tipik ve atipik *S. aureus* izolatlarının stok kültürüne alınmasında Tryptic Soy Broth (TSB, Merck, 1.05459.0500) besiyeri kullanılmıştır. Besiyeri 30,0 g/L oranında tartılarak sulandırılmış ve 121°C 'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir Besiyerinin içeriği aşağıda verilmiştir.

Tryptic Soy Broth

Bileşen	g/L
Pepton from casein	17,0
NaCl	5,0
Pepton from soymeal	3,0
D(+) Glucose	2,5
K ₂ HPO ₄	2,5

5.1.1.4. Mannitol Salt Phenol-Red Agar

İzolatların tanımlanması amacıyla uygulanan mannitol fermantasyonu testinde Mannitol Salt Phenol-Red Agar (Merck, 1.05404.0500) kullanılmıştır. Besiyeri 42,0 g/L oranında tartılarak sulandırılmış ve 121°C 'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir Besiyerinin içeriği aşağıda verilmiştir.

Bileşim	g/L
Pepton	10,0
Meat extract	1,0
NaCl	75,0
D(-) Mannitol	10,0
Phenol red	0,025
Agar-agar	12,0
pH	7,4±0,2'

5.1.1.5. DNaz Test Agar

İzolatların DNaz enzim aktivitelerinin belirlenmesinde DNaz Test Agar (Merck, 1.10449) besiyeri kullanılmıştır. Besiyeri 180,0 g/L oranında tartılıp sulandırılarak hazırlanmış ve 121°C 'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Besiyerinin içeriği aşağıda verilmiştir.

DNazTest Agar

Bileşim	g/L
Tryptose	20,0
NaCl	5,0
Deoxyribonucleic acid	2,0
Agar-agar	15,0
pH	7,3±0,2

5.1.1.6. Orsab Oxoid Agar

İzolatların metisiline direnç özelliklerinin belirlenmesi amacıyla Orsab Oxoid Agar besiyeri kullanılmıştır. 103,5 g/L oranında tartılıp sulandırılarak hazırlanan besiyeri 121°C 'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Oxacilin Resistance Screening Agar'ın hazırlanmasında her 500 mL Oxacilin Resistance Screening Agar için 1 şişe Orsab Selective Supplement, 2 mL distile su ile sulandırılarak kullanılmıştır. Besiyerinin bileşimi aşağıda yer almaktadır.

Oxacillin Resistance Screening Agar

Bileşim	g/litre
Peptone	11.8
Yeast Extract	9.0
Mannitol	10.0
Sodium chloride	55.0
Lithium chloride	5.0
Aniline Blue	0.2
Agar	12.5
pH	7.2 ± 0.2

Orsab Selective Supplement İçeriği

İçerik	Litre Başına
Polymxin B	50,000 IU
Oxacillin	2.0 mg

5.1.1.7. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

İzolatların katalaz enzim aktivitesinin belirlenmesi amacıyla % 30'luk hidrojen peroksit (Merck, 1.08597.1000) çözeltisi kullanılmıştır.

5.1.1.8. Bactident Coagulase

İzolatların koagülaz enzim aktivitesinin belirlenmesi amacıyla Bactident Coagulase (Merck, 1,13306.0001) kiti kullanılmıştır. Kit, EDTA ilave edilmiş liyofilize tavşan plazmasından oluşmaktadır.

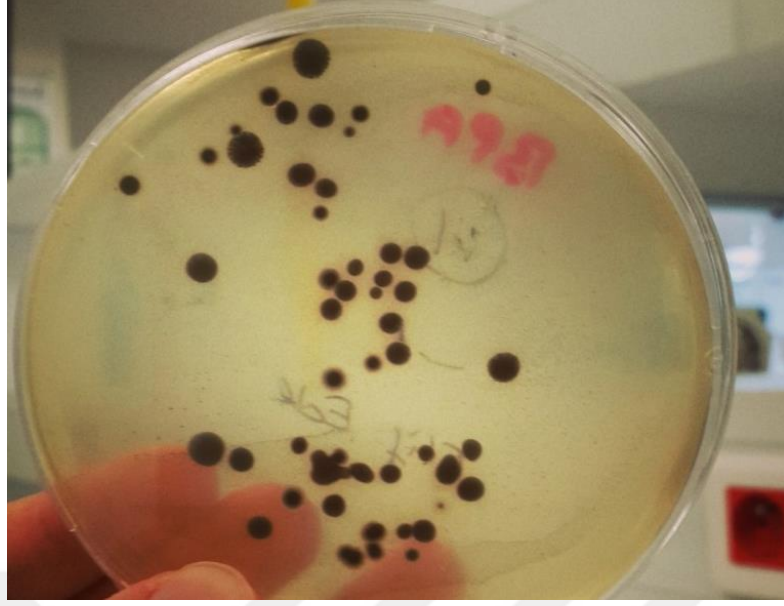
5.1.1.9. Serum Fizyolojik (SF)

Dondurma örneklerinin homojenizasyon ve dilüsyonunun yapılması amacıyla 9,0 g/L oranında tartılan NaCl, distile su ile sulandırılmış ve 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

5.2. Metot

5.2.1. Dondurma Örneklerinden *Staphylococcus aureus* İzolasyonu ve Sayımı

İstanbul’dan toplanan dondurma örnekleri steril stomacher torbaları içine aseptik koşullarda 10’ar gram tartılıp üzerine 90 mL steril serum fizyolojik (SF) eklenerek Stomacher cihazında (Interscience-BagMixer® 400) 1 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenizattan 1 mL miktarda örnek, 9 mL steril SF içine aktarılarak ileri dilüsyonlar gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan dilüsyonlardan egg yolk-tellürite içeren steril Baird Parker Agar (BPA) besiyeri yüzeyine 0,1 mL aktararak Drigalski özesi yardımıyla yayma plak yöntemi ile ekimler gerçekleştirilmiştir. Ekim yapılan Petri kutuları aerobik koşullarda 37°C’de 24-48 süreyle saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda BPA besiyerinde oluşan siyah renkli ve etrafında berrak ve mat zon bulunan koloniler tipik *S. aureus*, siyah renkli ve etrafında zon olmayan koloniler ise atipik *S. aureus* olarak değerlendirilerek sayıma alınmıştır. (Resim 5.1)



Resim 5.1. Baird Parker Agar'da üreyen *Staphylococcus aureus* koloni görüntüsü.

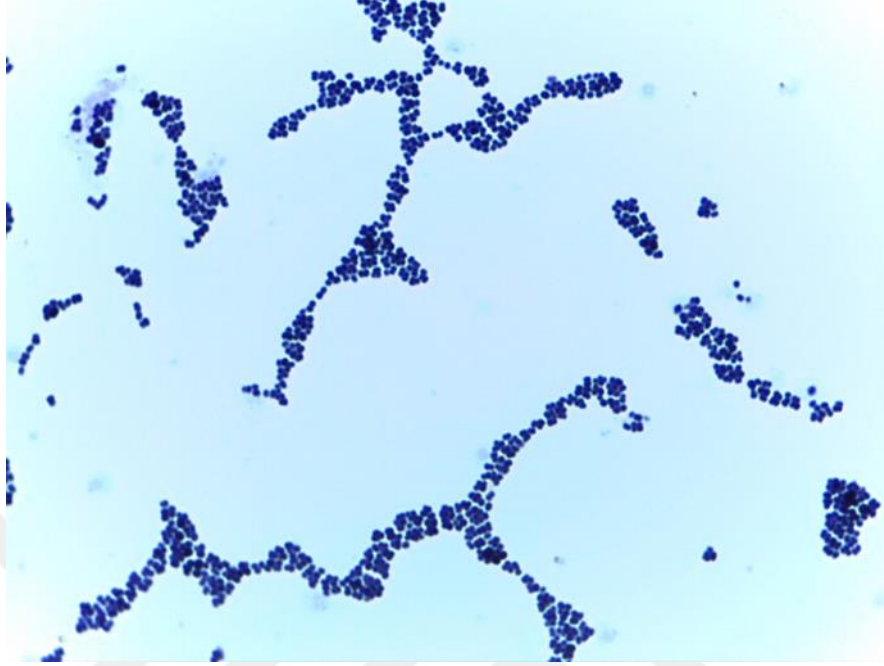
BPA besiyerinde gelişen tipik ve atipik *S. aureus* kolonilerinden 1 adet tipik, 1 adet atipik izole edilerek Tryptic Soy Broth (TSB) besiyerine aktarılmış ve 37⁰C'de 24 saat inkübasyon sonucu gelişen kültürler % 30'luk gliserol içeren ortama konularak - 20⁰C'de saklanmıştır.

5.2.1. *S. aureus* İzolatlarına Uygulanan Biyokimsal Testler

5.2.1.1. Gram Boyama

İzolatların Gram reaksiyonlarının ve mikroskopik morfolojilerinin belirlenmesi amacıyla Gram boyama tekniği uygulanmıştır Koneman ve ark. (56). İzolatların 24 saatlik aktif kültürleri bir lam üzerine damlatılan damıtık su içerisinde iyice homojenize edilmiş ve lam yüzeyine yayılmıştır. Preparat havada kurutulduktan sonra üç kez alevden geçirilerek tespit işlemi gerçekleştirilmiştir. Preparat kristal violet çözeltisi ile 1-2 dakika boyanmıştır. Boya dökülerek distile su ile yıkanmıştır. Daha sonra Gram İyot (lugol) çözeltisi 1-2 dakika uygulanmıştır. Preparatın üzerine alkol çözeltisi damlatılarak 15-30 saniye süreyle dekolorize edilmiştir. Distile su ile yıkanan preparat safranin çözeltisi ile 30 saniye süre ile boyanmıştır. Preparat distile su ile

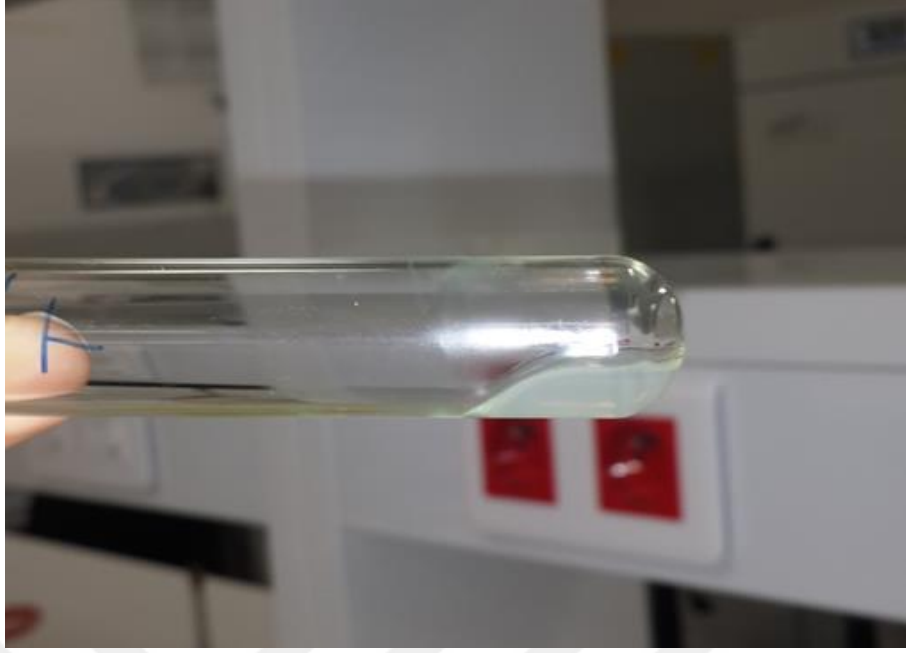
yıkanmış ve havada kurutularak immersiyon objektifinde (100X) incelenmiştir. Mor renge boyanmış bakteriler Gram-pozitif olarak değerlendirilmiştir.



Resim 5.2. Gram boyama *Staphylococcus aureus* pozitif görüntüsü

5.2.2.2. Koagülaz Testi

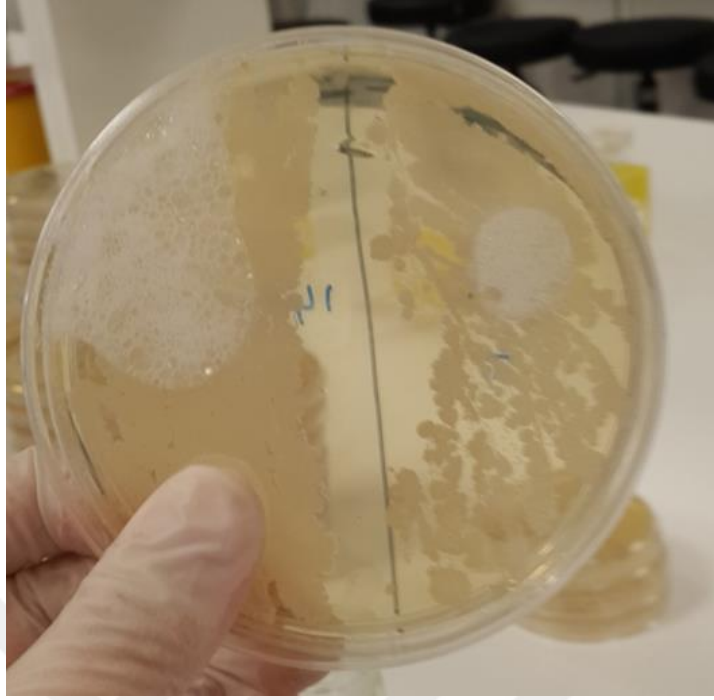
Koagülaz testi, toksijenik *S. aureus* suşlarının belirlenmesinde önem taşıyan bir deneydir. *S. aureus*'u diğer stafilokoklardan ayırt etmede en yaygın kullanılan ve genel olarak kabul gören bir tanı testidir. Tüp ve lam testi olarak uygulanabilmektedir Alen ve ark., (57). Bu çalışmada tüpte koagülaz testi kullanılmıştır. Dondurmadan izole edilen tipik ve atipik *S. aureus* izolatlarına tüpte uygulanan koagülaz testi için, tüplere 1/5 oranında sulandırılan EDTA'lı tavşan kan plazmasından 0.5 mL aktarılmıştır. Üzerine Tryptic Soy Broth besiyerinde canlandırılan izolatlardan 0.1 mL miktarda aktarılmıştır. Tüpler 37°C'de inkübasyona bırakılmış ve ilk 6 saat boyunca her saat koagülasyon saptanması amacıyla kontrol edilmiştir. Koagülasyon saptanmayan tüplerin 24 saat daha inkübasyonu sürdürülmüştür. Test sonucunda reaksiyon veren izolatlar koagülaz pozitif stafilokok (*Staphylococcus aureus*) olarak değerlendirilmiştir (Resim 5.3) York MK, (58). Bu testte pozitif kontrol amacıyla *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşu kullanılmıştır.



Resim 5.3 Koagülaz testi pozitif sonucu.

5.2.2.3. Katalaz Testi

Bu test mikroorganizmalar tarafından sentezlenen katalaz enziminin (hidrojenperoksit oksidoredüktaz varlığını) saptamak amacıyla yapılmıştır. Katalaz testi Gram pozitif stafilokokların, streptokokal üyelerden ayrımını sağlamaktadır Alen ve ark., 2006 (59). Elde edilen izolatlar Tryptic Soy Agar'a ekilerek aerobik koşullarda 37⁰C'de 24-48 saat inkübasyon sonucu canlandırılmış ve oluşan kolonilerin üzerine %3'lük hidrojen peroksik çözeltisinden (H₂O₂) 1 mL aktarılmıştır. Bakteriyel katalaz enziminin varlığında H₂O₂'nin oksijen ve suya dönüşmesi sonucunda oluşan hava kabarcıkları pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir York MK (60). (Resim 5.4).



Resim 5.4 Katalaz testi pozitif sonucu.

5.2.2.4. DNaz test

Bu test, mikroorganizmaların ısıya dayanıklı olan deoksiribonuklease (DNaz) enzimini sentezleyebilme yeteneklerini ölçmede kullanılmaktadır. Enzim, hücre çekirdeklerinde bulunan deoksiribonukleik asidi (DNA) depolimerize ederek ayrıştırmaktadır. Ayrıca, *S. aureus*'ların DNaz enzimlerinin ısı karşısında termonukleaz stabilitesini ölçmede de yararlanılmaktadır. Stafilokoklarda DNaz üretimi patojeniteyi belirleyen en önemli faktörlerden biridir. DNaz testi patojen stafilokokları ayırmada kullanılan önemli bir testtir Smith (61). İzolatların patojenite potansiyellerinin doğrulanması amacıyla hazırlanan DNaz besiyerine canlandırılan kültürlerden inokülasyon gerçekleştirilmiş ve 37°C'de 24-48 saat aerobik koşullarda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda kolonilerin üzerine 1mL HCl çözeltisi aktarılmış ve kolonilerin etrafında berrak zon oluşturulan izolatlar DNaz pozitif olarak değerlendirilmiştir Murano (62) (Resim 5.5).

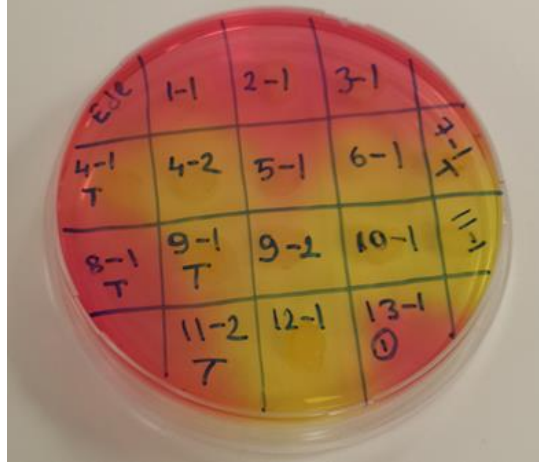


Resim 5.5 DNaz testi pozitif sonucu.

5.2.2.5. Mannitol Salt Phenol Red Agar'da Üreme Testi

Staphylococcus aureus türü mannitolü fermente edebilmektedir. Fenol kırmızısı indikatöründeki renk değişimi ile görülen, mannitol fermantasyonu stafilokok türlerinin tanımlanmasında kullanılmaktadır. Mannitol Salt Agar'ın bileşimindeki yüksek tuz konsantrasyonu refakatçi floranın gelişimini baskılamaktadır. Mannitol, *S. aureus*'un gelişimini desteklerken, aynı zamanda koloni etrafında fenol red indikatörü ile belirlenen sarı zon oluşumunu sağlamaktadır Chapman (63).

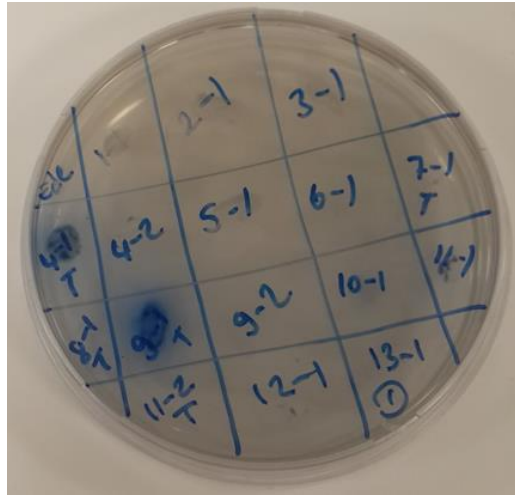
Hazırlanan Mannitol Salt Agar üzerine izolatların canlandırılan kültürlerinden inoküle edilmiş ve 37°C'de 24-48 saat aerobik koşullarda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda sarı parlak zonlu koloni oluşturan izolatlar mannitol pozitif *S. aureus*, renk değişimi, gözlenmeyen ve zayıf gelişenler ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Resim 5.6).



Resim 5.6 MSA’da pozitif ve negatif *Staphylococcus aureus* görüntüsü.

5.2.2.6. Metisilin Direnci Testi

Bu test tipik ve atipik *S. aureus*’un izolatlarının metisilin antibiyotiğine direnç özelliklerinin kontrolü amacıyla uygulanmıştır Hidron ve ark. (64). Hazırlanan Orsab Oxoid Agar besiyerine izolatların 24 saatlik aktif kültürlerinden inokülasyon gerçekleştirilmiştir. Petriler 37⁰C’de 24-48 saat aerobik koşullarda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda mavi koloni oluşturarak üreyen izolatlar metisiline dirençli olarak değerlendirilmiştir (Resim 5.7)



Rresim 5.7 ORSAB’da pozitif ve negatif *Stapylococcus aureus* görüntüsü.

6. BULGULAR

Bu çalışmada İstanbul ilinde farklı üretim birimleri tarafından açıkta satılarak tüketime sunulan 101 adet dondurma örneği koagülaz pozitif stafilokok varlığının saptanması amacıyla toplanmıştır. Dondurma satın alınan ilçeler ve dondurma çeşidi Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 6.1: Dondurmaların İlçelere ve Türüne Göre İncelenmesi (Adet)

İlçeler	Dondurma Örnekleri	Süt	Çikolata	Çilek	Limon	Vişne	Muz	Karamel
Beykoz	10	4	4					2
Ümraniye	23	5	5	2	5	1	1	4
Üsküdar	20	4	4	4	4			4
Sarıyer	20	4	4	4	4			4
Beşiktaş	28	8	6	5	5		1	3

Tablo 6.2. Dondurma örneklerinde tespit edilen *S. aureus* sayısı (log kob/g)

Örnek No	Örnek Yeri	Dondurma Çeşidi	<i>S. aureus</i> Sayısı
1	Beykoz	Sütlü	4,56
2	Beykoz	Çikolatalı	3,34
3	Beykoz	Karamelli	3,7
4	Beykoz	Sütlü	2,6
5	Beykoz	Çikolatalı	2,3
6	Beykoz	Karamelli	2
7	Beykoz	Çikolatalı	2
8	Beykoz	Sütlü	2,3
9	Beykoz	Çikolatalı	3,3
10	Beykoz	Sütlü	2,6
11	Ümraniye	Sütlü	3,6
12	Ümraniye	Çikolatalı	6,02
13	Ümraniye	Muzlu	3,51
14	Ümraniye	Karamelli	3,3
15	Ümraniye	Limonlu	3,7
16	Ümraniye	Vişneli	2,3
17	Ümraniye	Sütlü	2,4
18	Ümraniye	çikolataı	2,8
19	Ümraniye	Karamaelli	2
20	Ümraniye	Limonlu	<2
21	Ümraniye	Çilekli	2,7
22	Ümraniye	Sütlü	2,4
23	Ümraniye	Çikolataı	3,1
24	Ümraniye	Limonlu	<2
25	Ümraniye	Sütlü	<2
26	Ümraniye	Çikolataı	2
27	Ümraniye	Limonlu	<2
28	Ümraniye	Karamelli	2,7
29	Ümraniye	Sütlü	3,69
30	Ümraniye	Çikolataı	3,49
31	Ümraniye	Karamelli	3,34
32	Ümraniye	Limonlu	2,9
33	Ümraniye	Çilekli	<2
34	Üsküdar	Sütlü	2,8
35	Üsküdar	Çikolataı	3,5
36	Üsküdar	Karamelli	2,3
37	Üsküdar	Limonlu	2,3
38	Üsküdar	Çilekli	<2

Örnek No	Örnek Yeri	Dondurma Çeşidi	<i>S. aureus</i> Sayısı
39	Üsküdar	Sütlü	4,1
40	Üsküdar	Çikolatalı	5,9
41	Üsküdar	Karamelli	5,2
42	Üsküdar	Limonlu	2,3
43	Üsküdar	Çilekli	<2
44	Üsküdar	Sütlü	5,4
45	Üsküdar	Çikolatalı	3,3
46	Üsküdar	Karamelli	5,5
47	Üsküdar	Limonlu	<2
48	Üsküdar	Çilekli	2,9
49	Üsküdar	Sütlü	2
50	Üsküdar	Çikolatalı	<2
51	Üsküdar	Karamelli	<2
52	Üsküdar	Çilekli	<2
53	Üsküdar	Limonlu	2
54	Sarıyer	Sütlü	2,9
55	Sarıyer	Çikolatalı	<2
56	Sarıyer	Karamelli	2
57	Sarıyer	Çilekli	<2
58	Sarıyer	Limonlu	2
59	Sarıyer	Sütlü	2,6
60	Sarıyer	Çikolatalı	2,4
61	Sarıyer	Karamelli	<2
62	Sarıyer	Çilekli	<2
63	Sarıyer	Limonlu	<2
64	Sarıyer	Sütlü	<2
65	Sarıyer	Çikolatalı	2,4
66	Sarıyer	Karamelli	3,8
67	Sarıyer	Çilekli	<2
68	Sarıyer	Limonlu	<2
69	Sarıyer	Sütlü	4,5
70	Sarıyer	Çikolatalı	3,8
71	Sarıyer	Karamelli	3,1
72	Sarıyer	Limonlu	<2
73	Sarıyer	Çilekli	3,4
74	Beşiktaş	Sütlü	<2
75	Beşiktaş	Çikolatalı	3,6
76	Beşiktaş	Limonlu	2,4
77	Beşiktaş	Çilekli	<2
78	Beşiktaş	Sütlü	4,2

Örnek No	Örnek Yeri	Dondurma Çeşidi	<i>S. aureus</i> Sayısı
79	Beşiktaş	Çikolatalı	5,2
80	Beşiktaş	Limonlu	<2
81	Beşiktaş	Çilekli	<2
82	Beşiktaş	Sütlü	<2
83	Beşiktaş	Çikolatalı	<2
84	Beşiktaş	Muzlu	<2
85	Beşiktaş	Sütlü	<2
86	Beşiktaş	Karamelli	<2
87	Beşiktaş	Sütlü	2,6
88	Beşiktaş	Çikolatalı	<2
89	Beşiktaş	Karamelli	2
90	Beşiktaş	Çilekli	<2
91	Beşiktaş	Limonlu	<2
92	Beşiktaş	Sütlü	<2
93	Beşiktaş	Çikolatalı	3,69
94	Beşiktaş	Sütlü	3,2
95	Beşiktaş	Çilekli	4,6
96	Beşiktaş	Limonlu	<2
97	Beşiktaş	Sütlü	4,4
98	Beşiktaş	Çikolatalı	4,2
99	Beşiktaş	Karamelli	4,6
100	Beşiktaş	Çilekli	<2
101	Beşiktaş	Limonlu	3,6
Ortalama ± SS			3,2 ± 1,0

Kültürel yöntemle analiz edilen 101 dondurma örneğinin 66 (% 65,3)'sında *S. aureus* üremesi tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda üreme gözlemlenen dondurma örneklerinde en düşük ve en yüksek *Staphylococcus aureus* yükü sırasıyla 2,0 ve 6,02 (ortalama 3,2±1,0) log kob/g düzeyinde bulunmuştur.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine göre (27456) dondurmalarda *S. aureus* sayısı en fazla 10^2 – 10^3 kob/g düzeyinde olabilmektedir. *S. aureus* yükü tespit edilen örneklerin 35'inin (% 34,7) 10^3 kob/g'dan daha yüksek miktarda *S. aureus* bulundurduğu ve mikrobiyolojik kriterler tebliğine uymadığı tespit edilmiştir. *S. aureus* yükü tespit edilen örneklerin 31'inin (%30,6) 10^2 – 10^3 kob/g düzeyi aralığında *S. aureus* içerdiği, 101 örneğin 35'inin (%34,7) ise *S. aureus* içermediği tespit edilmiştir (Tablo 6.3).

Tablo 6.3. Dondurma Örneklerinin *S. aureus* yükü açısından Türk Gıda Kodeksine uygunluk durumu

<i>S. aureus</i> yükü	Örnek Sayısı
<10 ² kob/g	35 (34,7)
10 ² -10 ³ kob/g	31 (30.6)
>10 ³ kob/g	35 (%34,7)

İstanbul ilinde Beykoz, Ümraniye, Üsküdar, Sarıyer ve Beşiktaş ilçelerinden temin edilen 101 adet dondurma örneğinin 66 (% 65,3)'sında Baird Parker Agar'da tipik ve atipik *Staphylococcus aureus* üremesi gözlenmiştir. (Tablo 6. 3)

Tablo 6.4. Baird Parker Agar'da üreyen *S. aureus*'ların ilçelere göre dağılımı

Örnek alınan ilçe	Örnek Sayısı n	Pozitif Örnek Sayısı (%)
Beykoz	10	10 (%100)
Ümraniye	23	18 (%78,2)
Üsküdar	20	14 (%70)
Sarıyer	20	11 (%55)
Beşiktaş	28	13 (%46,4)

Tablo 6.5. İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları

Testler	Pozitif Sonuç Gözlenen İzolat Sayısı (%)
Koagülaz	61(%64,8)
Katalaz	81(86,1)
DNaz	21(%22,3)
MSA	35(%37,2)
Metisilin direnci	18(%19,1)

Tablo 6. 6. Dondurma örneklerinden elde edilen *S. aureus* izolatlarının biyokimyasal test sonuçları

Sıra No	İzolat No	Örnek yeri	Tipik/Atipik	Koagülaz	Katalaz	DNAz	MRSA	MSA
1	1	Beykoz	Atipik	-	+	-	-	-
2	2	Beykoz	Atipik	-	+	-	-	-
3	3	Beykoz	Atipik	-	+	-	-	-
4	4-1	Beykoz	Tipik	+	+	+	+	+
5	4-2	Beykoz	Atipik	+	+	-	-	+
6	5	Beykoz	Atipik	+	+	-	-	+
7	6	Beykoz	Atipik	+	-	-	-	+
8	7	Beykoz	Tipik	-	+	+	-	+
9	8	Beykoz	Tipik	-	+	-	-	-
10	9-1	Beykoz	Tipik	+	+	+	+	+
11	9-2	Beykoz	Atipik	+	+	+	-	+
12	10	Beykoz	Atipik	+	+	-	-	+
13	11-1	Ümraniye	Atipik	-	+	-	+	+
14	11-2	Ümraniye	Tipik	-	-	-	-	+
15	12	Ümraniye	Atipik	+	+	-	-	+
16	13-1	Ümraniye	Atipik	+	+	-	-	-
17	13-2	Ümraniye	Tipik	+	+	-	-	-
18	14-1	Ümraniye	Tipik	+	+	+	-	-
19	14-2	Ümraniye	Atipik	+	+	-	+	+
20	15-1	Ümraniye	Tipik	+	+	-	-	+
21	15-2	Ümraniye	Atipik	+	+	-	-	+
22	16-1	Ümraniye	Atipik	+	+	-	-	+
23	16-2	Ümraniye	Tipik	+	-	-	-	+
24	17-1	Ümraniye	Tipik	+	-	-	-	+
25	17-2	Ümraniye	Atipik	+	+	-	+	-
26	18-1	Ümraniye	Tipik	-	+	-	-	+
27	18-2	Ümraniye	Atipik	+	+	+	-	+
28	19	Ümraniye	Atipik	+	+	-	-	-
29	21-1	Ümraniye	Tipik	+	+	-	-	+
30	21-2	Ümraniye	Atipik	+	+	-	-	+
31	22	Ümraniye	Atipik	+	+	-	+	+
32	23	Ümraniye	Atipik	+	+	+	+	+
33	26	Ümraniye	Atipik	+	+	+	-	+
34	28	Ümraniye	Atipik	+	+	+	-	+
35	29	Ümraniye	Atipik	+	+	+	-	-
36	30	Ümraniye	Atipik	+	+	+	-	-
37	31	Ümraniye	Atipik	+	+	+	-	-
39	34	Üsküdar	Atipik	-	+	-	-	+
40	35	Üsküdar	Atipik	-	+	-	-	-
41	36	Üsküdar	Atipik	-	-	-	-	-
42	37	Üsküdar	Atipik	-	+	-	-	+
43	39-1	Üsküdar	Tipik	+	+	-	-	+
44	39-2	Üsküdar	Atipik	-	+	-	-	-
45	40-1	Üsküdar	Atipik	-	+	+	-	-
46	40-2	Üsküdar	Tipik	-	+	+	+	+

Sıra No	İzolat No	Örnek Yeri	Tipik/Atipik	Koagülaz	Katalaz	DNaz	MRSA	MSA
47	41-1	Üsküdar	Atipik	+	+	-	-	+
48	41-2	Üsküdar	Tipik	+	-	-	-	+
49	42	Üsküdar	Atipik	+	+	-	-	+
50	44	Üsküdar	Atipik	+	-	-	-	-
51	45-1	Üsküdar	Atipik	+	+	-	-	+
52	45-2	Üsküdar	Tipik	+	+	-	+	+
53	46-1	Üsküdar	Tipik	+	+	-	-	+
54	46-2	Üsküdar	Atipik	+	+	-	-	+
55	48-1	Üsküdar	Tipik	+	+	-	-	+
56	48-2	Üsküdar	Atipik	-	+	+	+	+
57	49	Üsküdar	Atipik	-	+	-	-	-
58	53	Üsküdar	Atipik	-	+	-	-	-
59	54	Sarıyer	Atipik	+	+	--	-	-
60	56	Sarıyer	Atipik	+	+	+	-	+
61	58	Sarıyer	Atipik	+	+	-	+	+
62	59	Sarıyer	Tipik	+	+	-	-	+
63	60	Sarıyer	Tipik	+	+	-	-	+
64	65	Sarıyer	Tipik	+	+	-	-	+
65	66-1	Sarıyer	Tipik	+	+	-	-	-
66	66-2	Sarıyer	Atipik	-	-	-	-	-
67	69-1	Sarıyer	Tipik	+	+	--	-	-
68	69-2	Sarıyer	Atipik	-	-	--	-	+
69	70-1	Sarıyer	Tipik	-	+	-	+	-
70	70-2	Sarıyer	Atipik	-	+	+	-	-
71	71-1	Sarıyer	Tipik	-	+	-	-	+
72	71-2	Sarıyer	Atipik	+	-	-	-	-
73	73-1	Sarıyer	Tipik	+	+	-	+	-
74	73-2	Sarıyer	Atipik	-	+	-	+	+
75	75	Beşiktaş	Atipik	+	+	-	-	+
76	76-1	Beşiktaş	Tipik	+	+	-	-	+
77	76-2	Beşiktaş	Atipik	-	+	+	-	+
78	78-1	Beşiktaş	Tipik	+	+	+	+	+
79	78-2	Beşiktaş	Atipik	+	+	-	-	-
80	79-1	Beşiktaş	Tipik	+	-	-	-	-
81	79-2	Beşiktaş	Atipik	-	-	-	-	+
82	87	Beşiktaş	Atipik	+	+	-	-	+
83	89	Beşiktaş	Atipik	-	-	-	-	-
84	93-1	Beşiktaş	Tipik	-	+	+	+	+
85	93-2	Beşiktaş	Atipik	-	+	-	-	-
86	94	Beşiktaş	Tipik	-	+	-	-	-
87	95	Beşiktaş	Tipik	+	+	-	-	-
88	97	Beşiktaş	Tipik	+	+	-	-	+
89	98-1	Beşiktaş	Tipik	-	+	-	-	+
90	98-2	Beşiktaş	Atipik	+	+	-	-	+
91	99-1	Beşiktaş	Tipik	-	+	-	+	+
92	99-2	Beşiktaş	Atipik	+	-	-	-	-
93	101-1	Beşiktaş	Tipik	+	+	-	-	+
94	101-2	Beşiktaş	Atipik	-	+	+	+	+
	ATCC			+	+	+	+	+

S. aureus saptanan 66 örnekten izole edilen toplam 96 adet izolatin 58 (% 57,4)'inin atipik, 36 (%35,6)'sının tipik *Staphylococcus aureus* olduğu saptanmıştır, bu izolatlara ayrı ayrı koagülaz, katalaz, DNaz, metisilin direnci ve mannitol fermentasyonu testleri uygulanmıştır.

Atipik özellikte 58 adet *Staphylococcus aureus* suşunun 22 (% 21,7)'sinin koagülaz negatif, 36 (% 35,6)'sının koagülaz pozitif, özellik gösterdiği, tipik özellikte 36 adet *Staphylococcus auerus* izolatının 11 (% 10,8)'inin koagülaz negatif, 25 (% 24,7)'inin koagülaz pozitif özellik gösterdiği belirlenmiştir.

Atipik özellikte 58 adet *Staphylococcus aureus* suşunun 8 (% 7,9) 'inin katalaz negatif, 50 (% 49,5) 'sinin katalaz pozitif, tipik özellikte 36 adet *Staphylococcus aureus* izolatının 5 (% 4,9) 'inin katalaz negatif, 31 (% 30,6) 'inin ise katalaz pozitif olduğu belirlenmiştir.

Atipik özellikte 58 adet *Staphylococcus aureus* izolatının 14 (% 13,8) 'ünün DNaz pozitif, 44 (% 43,5)'ünün DNaz negatif, tipik özellikte 36 adet *Staphylococcus aureus* izolatının 7 (% 6,9) 'sinin DNaz pozitif, 29 (% 28,7) 'unun DNaz negatif özellikte olduğu belirlenmiştir.

Atipik özellikte 58 adet *Staphylococcus aureus* izolatının metisilin direnci testinde 9 (% 8,9) 'unun metisiline direnç gösterdiği , 49 (% 48,5) 'unun metisiline direnç göstermediği, tipik özellikte 36 adet *Staphylococcus aureus* izolatının 9 (% 8,9) 'unun metisiline direnç gösterdiği ve 27 (% 26,7) adet atipik *Staphylococcus aureus* izolatının metisiline direnç göstermediği tespit edilmiştir.

Atipik özellikte 58 *Staphylococcus auerus* izolatının MSA testinde 25 (% 24,7) 'inin mannitolü fermente edemediği, 33 (%32,6) 'ünün monnitölü fermente edebildiği, tipik özellikte 36 adet *Staphylococcus aureus* izolatının 10 (% 9,9) 'unun mannitolü fermente edemediği, 26 (% 25,7)'sının monnitölü fermente edebildiği tespit edilmiştir.

7. TARTIŞMA

Herkes tarafından sıklıkla tüketilen bir süt ürünü olan dondurma uygun hijyenik hammadde ve üretim koşulları sağlanmadığı durumlarda içerdiği zengin besin öğeleri yönüyle patojen bakterileri içermesi açısından risk oluşturmaktadır. Patojen mikroorganizma ve/veya toksin içeren dondurma tüketimi ile besin enfeksiyon ve intoksikasyonları meydana gelebilmektedir Ahmed ve ark. (8).

Mikrobiyolojik kalite bakımından yetersiz olan sütler *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Bacillus anthracis*, *Listeria monocytogenes*, *Toxoplasma gondii*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, Herpes virüsler ve Hepatit A virusu gibi zoonotik etkenleri içermektedir Tunail ve ark.(12).

Çeşitli ülkelerde hijyen indikatörü olan bazı mikroorganizmaların dondurmalarda bulunma düzeyleri üzerine yapılan araştırmalar sonucunda en sık rastlanılan mikroorganizmaların başında *S. aureus* gelmektedir. Bu sebeple dondurmaların mikrobiyolojik kalite yönünden incelenmesi büyük bir önem taşımaktadır. Bu konuda dünyada ve ülkemizde çok sayıda çalışma yapılmıştır Maifreni ve ark. (66) Erol (9) .

Akarca ve Kuyucuoğlu (2008), yaptıkları çalışmada Afyonkarahisar merkezindeki dondurma örneklerinde toplam mezofil, toplam psikrofil, koliform bakteri ve *S. aureus* 'u saptamışlardır. Dondurma örneklerinde belirlenen *S. aureus* sayısı 1 gram dondurma numunesinde en çok 4.4×10^2 , en az 1×10^2 kob/g ve ortalama 1.6×10^2 kob/g olarak saptanmıştır. Dondurmada bulunan bakterilerin üretim sırasında hammadde olarak kullanılan süttten ve ürüne katılan diğer katkı maddelerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Dondurmalarda toplam aerobik bakteri sayısının yüksek olması hijyenik olmayan koşullarda işlem gördüğünü, yetersiz hijyen şartlarında hazırlandığını, üretim sırasında kullanılan araç gereçlerin temizliğinin yetersiz olduğunu düşündürmektedir. Stafilokok cinsi bakterilere rastlanılması ısıtma işleminin yeterli derecede uygulanmadığını veya sonraki aşamalarda oluşan kontaminasyonu göstermektedir. Afyonkarahisar ilinde yapılan bu çalışmada örneklerin %22'sinin *S. aureus* sayısı yönünden Türk Gıda Kodeksi, Mikrobiyolojik Kriterler Ttebliği standartlarına uygun olmadığı belirlenmiştir. (67).

Aksoy ve ark. (2013) tarafından Kars'ta satışı sunulan dondurmaların mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı, toplam psikrofil aerob bakteri sayısı, koliform bakteri sayısı ve *Staphylococcus-Micrococcus* sayıları saptanmıştır. *Staphylococcus-Micrococcus* sayılarının ise en fazla $2,4 \times 10^8$ kob/g olduğu belirlenmiştir. Örneklerin %48'inde *Staphylococcus-Micrococcus* bakterileri tespit edilirken incelenen numunelerde *S. aureus* bakterisi saptanmamıştır. Bu çalışmaya benzer olarak yapılan çalışmalarda (Akarca ve Kuyucuoğlu 2009(67), Yücel ve Çıtak , 2000 (68)) örneklerde farklı oranlarda *S. aureus* izole ettiklerini ifade etmişlerdir. Yapılan bazı çalışmalar ise bu çalışma ile uyumlu olarak *S. aureus* izole etmediklerini belirtmişlerdir (Çağlayanlar ve ark., (69) ; Hatipoğlu (70)). Çalışmalar arasındaki farklılıkların portör kişilerin personel hijyenine önem vermemesi, hatalı pastörizasyon işlemleri veya uygun soğutma koşullarının sağlanamamasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Bu çalışma sonucunda Kars piyasasında açıkta satılan dondurmaların büyük bir kısmının mikrobiyal kalitesinin düşük olduğu ve mevcut standartlara uygun olmadığı belirlenmiştir (71).

Mukan ve Evliya (2002), Adana piyasasında tüketime sunulan sade-kaymaklı dondurmaların mikrobiyolojik kalitelerinin tüketici sağlığı açısından değerlendirilmesi amacıyla yaptıkları çalışmada total aerobik bakteri, psikrofil bakteri, koliform grubu bakteri, fekal streptokok, *Staphylococcus aureus*, maya ve küf sayısı ile *Salmonella* ve *Shigella* cinsi bakteriler araştırılmıştır. Yapılan bu çalışmada örneklerin hiçbirinde *S. aureus* bulunamamıştır. Bununla beraber örneklerin tümünde koagülaz negatif *Staphylococcus* izole edilmiştir. Yapılan identifikasyon çalışmaları sonucunda bu mikroorganizmaların *Staphylococcus epidermidis* olduğu ve yüklerinin ortalama $2,4 \times 10^5$ kob/g olduğu tespit edilmiştir. Örneklerin hiçbirinde koagülaz pozitif *Staphylococcus* ürememesi alınan dondurma örneklerinin TSE ve yabancı ülke standartlarına uygun olduğunu düşündürmektedir. Bununla beraber koagülaz negatif *Staphylococcus* sayısı $0-1,5 \times 10^5$ bulunmuştur. Yapılan identifikasyon çalışmaları sonucunda bu bakterilerin tamamının *Staphylococcus epidermis* olduğu belirlenmiştir. Bu bakteri patojenik olmamakla beraber dondurmalarda bu bakterinin varlığının personel kaynaklı veya fabrikasyon dondurmalarda ambalaj materyalinden kontaminasyon olduğunu düşündürmektedir (72).

Güner, Ardic ve Keleş (2004), Konya’da pastanelerde tüketime sunulan dondurmaların mikrobiyolojik kaliteleri üzerine çalışma yapmışlardır. Yapılan bu çalışmada 109 dondurma numunesi toplam mezofilik aerob, koliform, *Staphylococcus aureus* ve maya-küf yönünden incelenmiştir. Yapılan bu çalışmada *Staphylococcus aureus* sayısı $1,2-1,7 \times 10^3$ kob/g olarak saptanmıştır. Dondurmaların % 5,26 - % 25,92 oranlarında Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine uymadığı saptanmıştır. Bu durumun, personel hijyenine ve personel eğitime yeterli önemin verilmemesinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışma sonucunda Konya piyasasında tüketime sunulan dondurmaların mikrobiyolojik kalitesinin düşük olduğu saptanmıştır.(73).

Bostan ve Akın (2002), endüstriyel dondurmaların mikrobiyolojik kaliteleri üzerine yaptıkları araştırmaya 300 adet paketlenmiş dondurma örneğinde *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, mezofil bakteri, koliform grubu bakteri, küf ve maya yükleri değerlendirilmiştir. İncelenen dondurma örneklerinin hiçbirinde *Staphylococcus aureus* saptanmamıştır. Üretim hattında çalışan 10 kişinin hiçbirinin elinde de *S. aureus*’a rastlanmamıştır. Bu çalışmada elde edilen bulgular, kaliteli hammadde kullanılmasına ve hijyenik koşullarda üretim yapılmasına bağlı olarak endüstriyel paketlenmiş dondurmaların mikrobiyolojik kalitesinin iyi olduğu saptanmıştır. (74).

Yücel ve Çıtak (2000), yaptıkları çalışmada Ankara’da halkın tüketimine sunulan dondurmaların mikrobiyolojik kalitesini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada 30 adet dondurma örneğinde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı, koliform, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, maya ve küf ile psikrofil grubu bakterilerinin varlığı araştırılmıştır. *S. aureus* sayısının $1.0 \times 10^2 - 3.0 \times 10^3$ kob/g olduğu saptanmıştır. Bu *S. aureus* yükünün sebebinin uygun olmayan tesislerde dondurma üretiminden ve/veya yetersiz personele hijyeninden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Çalışmadaki bu yükün dondurma örneklerinin büyük bir kısmının mikrobiyolojik açıdan donurma standartlarına uymadığını gösterdiği, tespit edilen *S. aureus* sayısının gıda zehirlenmesine neden olan sayıdan daha düşük olduğundan halk sağlığı açısından tehlikeli olmadığı sonucuna varılmıştır. (68).

Sağdıç ve ark. (2002), yaptıkları çalışmada Isparta piyasasında pastanelerde tüketime sunulan dondurmaların kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesini belirlemişlerdir. Yapılan bu çalışmada 30 adet dondurma örneğinde toplam aerobik mezofil bakteri, koliform bakteri, *Staphylococcus aureus* ve *E. coli* varlığına bakılmıştır. Örneklerin hiçbirinde *Staphylococcus aureus*'a rastlanmamıştır. Dondurmaların *S. aureus* yükü açısından mikrobiyolojik kriterlere uymasına rağmen yapılan kimyasal testler sonucunda örneklerin %46,6'sında nişasta tespit edilmiş ve üretimde hile yapıldığı belirlenmiştir. Bu araştırma sonucunda ülkemizde üretilen dondurmaların üretiminde, hijyenik ve kimyasal kaliteyi artırıcı önlemlerin alınması gerektiği sonucuna varılmıştır (75).

Keskin ve ark. (2007), yaptıkları çalışmada İstanbul ilinde tüketime sunululan 55 dondurma örneğini mikrobiyolojik ve toksikolojik yönden incelemişlerdir. Yaptıkları bu çalışmada koliform bakteri, *E. coli*, aerobik mezofil bakteri, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Listeria* varlığı değerlendirilmiştir. Örneklerin % 12.7'sinin (7 adet) *S. aureus* varlığı açısından mikrobiyoloji tebliğine uygun olmadığı saptanmıştır. Elize metodu ile yapılan stafilokokal enterotoksin taraması sonucunda dondurma örneklerinin toksin içermediği saptanmıştır. Dondurmalarındaki *S. aureus* varlığı sebebinin üretim, nakil, depolama ve tüketime hazırlanma sırasında bir takım biyolojik kirlenici faktörlerle kontaminasyonu sonucu oluştuğu düşünülmektedir (76).

Sağlam (2011), Adana'da farklı satış noktalarından alınan 78 dondurma örneğinde koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus* ve enterotoksin varlığı araştırılmıştır. *S. aureus* Klasik yöntemle analiz edilen 13 örnekte; minimum 1.4×10^2 kob/g, maksimum 7.4×10^4 kob/g ve ortalama 6.5×10^3 kob/g düzeyinde koagülaz pozitif *S. aureus* saptanmıştır. TEMPO sistemi ile yapılan analizlerde 78 adet örneğin 19 (%24.4)'unda minimum 1.0×10^1 kob/g, maksimum 5.6×10^4 kob/g ve ortalama 4.2×10^3 kob/g düzeyinde *S. aureus* saptanmıştır. Çalışmada yapılan enterotoksin taramasında 78 örneğin 2'sinde enterotoksin varlığı saptanmıştır. Bu çalışmadaki örneklerde *S. aureus* saptanmasının en önemli sebebinin örneklerin küçük işletmelerden alınmış olması ile ifade edilmiştir. Küçük işletmeler tam teşekküllü gıda teknolojileri kullanılmamasının üretim aşamalarında stafilokokal kontaminasyona sebep olduğu düşünülmektedir (77).

Yılmaz (2009), Kayseri’de çiğ sütlerde *Staphylococcus aureus* ve enterotoksin varlığını saptamıştır. Yapılan bu çalışmada incelenen 60 örnekten 30’unun *S. aureus* sayısı yönünden, 37’sinin enterotoksin varlığı yönünden Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğine uygun olmadığı saptanmıştır. *S. aureus* ve enterotoksin varlığı sebebinin ülkemizde üretilen çiğ süt ve süt ürünlerinin üretimden satışa sunulan süreçte kontamine olduğundan ve çiğ süt satışlarının gerekli kullar çerçevesinde yapılmadığından kaynaklandığı düşünülmektedir. (2).

Ülkemizde dondurmaların mikrobiyolojik kaliteleri üzerine yapılan birçok araştırma mevcuttur. Dondurmalarda *Staphylococcus aureus* varlığı üzerine yapılan çalışmalar genellikle *S. aureus* yükü, koagülaz pozitif *S. aureus* varlığı ve enterotoksin varlığının araştırılması üzerinedir. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* varlığının saptanması amacıyla yapılan çalışmalar daha çok süt ve peynir üzerinde yapılmıştır. Bu çalışmada koagülaz pozitif *Staphylococcus* varlığı yönünden incelen dondurmalara katalaz, DNaz, metisilin direnç ve mannitol fermantasyonu testleri de uygulanmıştır.

Ektik (2015), Balıkesir’de süt ve süt ürünlerinde MRSA (metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*) varlığını araştırmıştır. Yapılan bu çalışmada 125 adet süt ürünü *S. aureus* ve MRSA yönünden incelenmiştir. Örneklerden izole edilen isolatlar fenotipik olarak tespit edilip genotipik olarak doğrulanmıştır. Fenotipik olarak yapılan doğrulama sonucunda isolatların 26’sının *S. aureus*, 3’ünün ise MRSA olduğu tespit edilmiştir ve genotipik olarak 17’si *S. aureus* 1’i MRSA olduğu doğrulanmıştır (78).

Dilsiz (2010), subklinik mastitisli inek sütlerinde metislin direncinin fenotipik ve genotipik varlığını araştırdığı çalışmada mastitisli inek sütlerinden izole edilen 148 *S. aureus* suşundan 24’ünün (%16,2) metisiline dirençli (MRSA), 124’ünün metisiline duyarlı (MSSA) olduğu saptanmıştır. Yaptığı bu çalışma sonucunda son yıllarda metisilin direncinin mastitisli inek sütlerinden izole edilen stafilokok suşlarında sıklıkla gözlendiğini doğrulamış ve metisilin direncinin belirlenmesinde fenotipik testlerin yanlış sonuç verdiğini saptamıştır (79).

Bu çalışmada ise İstanbul ilinde açıkta satılarak tüketime sunulan 101 dondurma örneğinde *Staphylococcus aureus* varlığı saptanmıştır. 101 örneğin 66’sında (% 65,3) ortalama ortalama $1,6 \times 10^3$ kob/g *S. aureus* yükü tespit edilmiştir. Bu çalışma

ortalama *S. aureus* yükü açısından Güner ve ark. (2004) (67) ve Yücel ve Çıtak (2000) (68) çalışmalarındaki sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Bu *S. aureus* yükünün sebebinin dondurma üretiminde kullanılan süte uygulanan pastörizasyon işleminin yetersiz olması, dondurma üretim aşamasında hijyen ve sanitasyonlarına uyulmaması veya dondurma satışı esnasında çevre veya personel kaynaklı kontaminasyondan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yapılan koagülaz testi sonucunda örneklerde tespit edilen 66 *S. aureus*'tan 49 (% 74,2) 'unun koagülaz pozitif *S. aureus* olduğu gözlenmiştir. Koagülaz pozitif *S. aureus* yükünün fazla olması İstanbul ilinde açıkta satılan dondurmaların gıda zehirlenmesine yol açma riski taşıdığını ortaya koymaktadır.

Yapılan katalaz testinde izolatların % 86,1'i pozitif, mannitol fermentasyon testinde % 61,4'ü pozitif sonuç vermiştir. *S. aureus* doğrulanmasında kullanılan katalaz ve mannitol fermentasyon testinde izolatların büyük bir kısmının pozitif sonuç vermesi sonucunda izolatların *S. aureus* olduğunu doğrulanmıştır.

Yapılan DNaz testinde dondurma örneklerinin % 22,3'ünün DNaz pozitif olduğu saptanmıştır. Bu testin sonucunda dondurmaların patojenite riskinin olduğu ortaya konulmuştur.

Metisilin direnci testinde izolatların % 19,1'inin Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* olduğu saptanmıştır. MRSA'lar humanoza veya zoonoz kaynaklı olabilmektedir. Dondurmalarda MRSA varlığının çiftliklerdeki ineklerden kaynaklı olabileceğini veya MRSA ile kontamine yüzey, alet, ekipman vb. kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir.

8. SONUÇ

Bu çalışmada İstanbul ilinde farklı satış noktalarından alınan 101 dondurma örneğinde koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus* varlığının saptanması amaçlanmıştır.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine göre *S. aureus* sayısı en fazla $10^2 - 10^3$ kob/g düzeyinde olabilmektedir. *S. aureus* içerdiği saptanan 66 örneğin 35'i 10^3 kob/g'dan daha yüksek miktarda *S. aureus* içermekte ve mikrobiyolojik kriterler tebliğine uymamaktadır.

Dondurma bütün dünyada her yaştaki insan tarafından tüketilen, özellikle yaz aylarında tüketimi artan serinletici bir gıdadır. Dondurma yapımı esnasında uygulanan yetersiz pastörizasyon, kontamine olmuş hammadde ve katkı maddelerinin kullanımı, alet ve ekipman, ortam havası, çalışan personel, kullanılan su, ambalaj materyalleri, dağıtım ve piyasaya arz edilmesi esnasında uygun koşulların sağlanamaması nedeniyle mikroorganizmalarla kontaminasyon olabilmektedir. Dondurmalar besin zehirlenmesi ve/veya intoksikasyonuna neden olarak halk sağlığı sorunları arasında önemli bir yer tutmaktadır. Proteince zengin bir süt ürüne olan dondurma statifolokokal intoksikasyona sebep olabilmektedir.

Stafilokokların insanlardan gıdalara bulaşmasını önlemek için gerekli önlemler alınmalı, dondurma üretilen ve satılan işletmelerde personel hijyenine önem verilmelidir.

Süt üretim aşamasında süt veren hayvanların meme sağlığına özen gösterilmeli, sütün pastörizasyonu mutlaka yapılmalı, pastörizasyon sonrası kontaminasyon önlenmeli ve sapım tanklarının soğutma ünitelerinin sütü $+4\text{ C}^\circ$ 'de muhafaza ettiğinin kontrolünü düzenli olarak yapılmalıdır.

Gıdalar ile temas edecek yüzeyler ile alet ve ekipmanın temizlik ve dezenfeksiyonu etkin bir şekilde yapılmalı, sonuçlar dezenfeksiyon testleriyle teyit edilmelidir.

Gıda işletmelerinde dondurma üretim aşamasında kullanılan gıda teknolojisindeki uygulanan ısı işlemi, soğutma, uygun koşullarda muhafaza gibi işlemlerle stafilokokların gıdalarda çoğalması ve toksin oluşturması önlenmelidir. HACCP (

Hazard Analysis and Critical Control Points), GMP (Good Manufactured Practice), ve GHP (Good Hygiene Practice) gibi Gıda Güvenliği Yönetim Sistemleri eksiksiz uygulanmalıdır.

Bu çalışmadan elde edilen bulgular İstanbul ilinde tüketime satılan dondurmaların önemli bir kısmının uygun koşullarda tüketime sunulmadığını ortaya koymuştur. Herkes tarafından tüketilen ve özellikle çocuklar tarafından çokça tüketilen dondurmaların uygun olmayan mikrobiyolojik koşullarda üretimi veya kontaminasyona uğraması halk sağlığı açısından risk oluşturmaktadır. Tüketime sunulan dondurmaların mikrobiyolojik ktiterlere uygunluğunun daha etkin bir şekilde denetlenmesi gerekmektedir.

9. KAYNAKLAR

1. Baysal, A; Beslenme, Ankara, Hatiboğlu, 2011.
2. Yılmaz, Sami; Kayseri Bölgesinde Tüketime Sunulan Çiğ Sütlerde *Staphylococcus aureus* ve Enteretoksin Varlığının Araştırılması. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 2009.
3. Akbulut, N, Kınık, Ö.; Soya sütünün dondurma üretiminde kullanım olanakları üzerinde bir araştırma. Ege Üniv Müh Fak Dergisi Seri: B Gıda Müh, 9 (2): 1-13, 1991.
4. Konar, A.; Süt Teknolojisi, Adana, 2001.
5. Kerr, WL.; Ice cream, 6th edition: New York, 2003.
6. Smith, D.; Ice cream II. Proceedings of the second IDF symposium on ice cream, Thessaloniki, Greece, 14–16 Special Issue 200401, International Dairy Federation, Brussels, Belgium, 2005 (416 pp.). Book Review. Goff, D. and Tharp, B. (Eds.). Int Dairy J. 15 (12): 1299-1300, 2003.
7. Yöney, Z.; Dondurma Teknolojisi, Ankara, 1968.
8. Ahmed, K., Hussain A., Imran., Qazalbash, Ma., Hussain, W.; Microbiological quality of ice cream sold in Gilgit town. Pak J of Nutr, 8 (9), 1397-1400, 2009.
9. Erol İ, Küpülü Ö, Sırken B, Çelik H. Ankara'daki çeşitli pastanelere ait dondurmaların mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. Tr J of Vet Anima Sci., 22, 345-52, 1998.
10. Tunail, N., Köşker, Ö., Süt Mikrobiyolojisi, Ankara, 1989.
11. Anonim, 300C'de Koloni Sayım Tekniği . In: TS 6930 Süt ve Mamulleri ve Koliiformların Sayımı,.TS Genel Müd, Ankara, 1989.
12. Tunail, N; Mikrobiyal Enfeksiyonlar ve İntoksikasyonlar. In: Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Ankara, 2000.
13. Nickerson, JT., Sinskey, AJ.; Microbiology of Food and Food Prossesinnng, New York, 1974.
14. Warke, R., Kamat, A., Kamat, M., Thomas, P.; Indicence of pathogenic psychrotrophs in ice cream sold in some retail outlets in Mumbai. Food Control, 11(2): ; 77-83, 2000.

15. Rodrıgez-Alvarez C., Hardisson, A., Alvarez, R., Ve Arias, A., Sierra, A.; Hygienic-sanitary indicators for ice cream sold at the retail sale. *Acta Alimentaria*, 24(1): 69-80; 1995.
16. Gilliant, SE.; Psychrothic Microorganizms. In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food. American Public Health Association, Washington DC, 1976.
17. Erol, İ., İşeri, Ö.; Stafilokokal Enterotoksinler A.Ü. Veteriner fakültesi dergisi 51: 239- 245; 2004.
18. Bergdoll MS: *Staphylococcus aureus*. In: MP Doyle (Ed), Foodborne Bacterial Pathogens. Marcel Dekker, New York 463-523: 1989.
19. Erol, İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi, Ankara, 2007.
20. İnal, M.; Farklı Süre ve Sıcaklıklarda Muhafaza Edilen Çiğ Sütlerde Koagülaz Pozitif *Staphylococcus* Türlerinin Dağılımı ve Stafilokokal Enteretoksin Oluşumu. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Konya, 2014.
21. Götz, F., Bannerman, T., Schleifer, KH.; The genera *Staphylococcus* and *Macroccus*. *Prokaryotes*, 4: 5-75; 2006.
22. Gillaspy, AF., Iandolo, JJ.; *Staphylococcus*. In: Batt CA (ed). *Encyclopedia of Food Microbiology*, 2nd ed. New York, 482-507: 2014.
23. Zell, C., Resch, M., Rosenstein, R., Albrecht, T., Hertel, C., Götz, F.; Characterization of toxin production of coagulase-negative staphylococci isolated from food and starter cultures. *Int J Food Microbiol*, 127: 246-251; 2008.
24. Henry, R.; *Staphylococcus*. *Emerging Infectious Diseases*, 19(9): 1553; 2013.
25. Bilgehan, H.; Gram Olumlu Koklar. *Klinik Mikrobiyoloji Tanı*, İzmir, 1995.
26. Aybay, C, Çağlar, K., İmir, T., *Staphylococcus epidermidis* Kaynaklı Slaym Maddesinin Makrofajlardan Nitrit Oksit Salgılanmasına Etkisi. *Turkish Journal of Infection*, 11(4): 353-356; 1997.
27. Ünal, S., Akhan, S. ; Stafilokok İnfeksiyonlar, İstanbul, 1996.

28. Boyce, JM.; Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a briefing for acute care hospital and nursing facilities. Infection Control and Epidemiology, 15(2):105-115; 1994.
29. Salgado, CD., Farr, BM., Calfee, DP.; Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a meta-analysis of prevalence and risk factors. Clin Infect Dis. 36(2): 131-9; 2003.
30. Rybak, MJ., Laplante, KL.; Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a review. Pharmacotherapy. 25 (1) : 74-85; 2005.
31. Özgüven, A., Tünger, Ö., Çetin, Çb., Dinç, G.; İlköğretim ve lise öğrencilerinde toplum kökenli metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* burun taşıyıcılığının araştırılması. Mikrobiyol Bül. 42(4): 661-7; 2008.
32. Stefani S, Chung DR, Lindsay JA et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods, Int J Antimicrob Agents, 2012.
33. Erdem, Z.; Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* Suşlarının Moleküler Tiplendirilmesi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2011.
34. Leonard FC, Markey BK; Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals: A Review. Vet J, 175: 27-36; 2008.
35. Lee, J.H.; Methicillin (oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. Microbiol. 69: 6489–6494; 2003.
36. Baptiste, K.E., Williams, K., Williams, N.J., Wattret, A., Clegg, P.D., Dawson, S., Corkill, J.E., O'Neill, T., Hart, C.A.; Methicillin-resistant Staphylococci in Companion Animals. Emerg. Infect. Dis. 11: 1942- 1944; 2005.
37. Van Duinkerken, E., Ikawaty, R., Broekhuizen-Stins, M.J., Jansen, M.D., Spalburg, E.C., De Neeling, A.J., Allaart, J.G., Van Nes, A., Wagenaar, J.A., Fluit, A.C. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains between different kinds of pig farms. Vet. Microbiol. 126: 383- 389; 2008.
38. Arda M, İstanbulluoğlu E: Mastitislere neden olan aerob, anaerob, mikoplazma ve mantarların izolasyonu, identifikasyonu, bunlara karşı etkili

olan antibiyotik ve fungusitlerin saptanması. Ankara Univ Vet Fak Derg, 26, 14-29, 1979.

39. Akgün, S.; Gıda ve Klinik Örneklerden İzole Edilen Koagülaz Pozitif ve Koagülaz Negatif Stafilocokların Bazı Virulens Özellikleri ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Karşılaştırılması. Gazi Enstitüsü Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2012.
40. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları 891112005, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü.
41. Bilgehan, H.; Klinik Mikrobiyolojik Tanı, İzmir, 2002.
42. Bhatia, A., Zahoor, S., *Staphylococcus aureus* enterotoxins: a review. J Clin Diag Res, 1(2): 188- 97; 2007.
43. Çakıcı, N., Demirel Zorba, Nn., Akçalı, A.; Gıda endüstrisi çalışanları ve stafilocokal gıda zehirlenmeleri. Turk Hij Den Biyol Derg, 72(4): 337-50; 2015.
44. İşeri Ö, Erol İ.; Hindi etinden kaynaklanan başlıca bakteriyel infeksiyon ve intoksikasyonlar. AÜ Vet Fak Derg, 56: 47-54; 2009.
45. Loir, YL., Baron, F., Gautier, M.; *Staphylococcus aureus* and food poisoning. Genet Mol Res, 2(1): 63-76; 2003.
46. Normanno, G., La Salandra, G., Dambrosio, A., Quaglia, Nc., Corrente, M., Parisi, A.; et al. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. Int J Food Microbiol, 115: 290-6; 2007.
47. Yücel N, Anıl Y.; Çiğ süt ve peynir örneklerinden *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilocokların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılığı. Türk Hij Den Biyol Derg, 68(2): 73-8; 2001.
48. Gilligan, K., Shipley, M., Stiles, B., Hadfield, T.L., and Ibrahim, S.; Identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxins A and B genes by PCR-ELISA. Molekuler and Cellular Probes, 14: 71-78; 2000.
49. Mandell, G. L., Bennett, J. E., Dolin R., Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases. Waldvogel FA: *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock). New York, 2000.

50. Betley, Mj., Mekalanos, Jj.; Staphylococcal enterotoxin A is encoded by phage. *Science* 229:185-187; 1985.
51. Minor, Te., Marth, Eh.; *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food intoxications: A review. *Journal of Milk Food Technology*, 34 (11): 557-564; 1971.
52. Jones, Tf., Kellum, Me., Porter, Ss., Bell, M., Schaffner, W. ;An outbreak of community-acquired foodborne illness caused by methicilin resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis*, 8(1): 82-4; 2002.
53. Arslan A, Gönülalan Z, Ateş G, Güven A.; Determination of *Listeria*, *Salmonella*, *E. Coli* Type 1 and *K. Pneumoni* in Ice Cream Samples Marketed in Elazig. *Turk. J. Vet. Ani. Sci.* 20: 109-112; 1996.
54. Bergdoll, M.S., “Staphylococcal food poisoning in foodborne disease.dean”, O.C.e.d.Academic Press, London, 1990.
55. Halpin-Dohnalek, Ml., Marth, Eh.; *Staphylococcus aureus*: Production of extracellular compounds and behavior in foods- A review. *J Food Prot*, 52: 267-282; 1989.
56. 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, 2002.
57. Koneman, Ew., Allen, Sd., Janda, Wm., Schreckenberger, Pc., Winn, Wc Jr.; *ColorAtlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6th ed. Lippincott; 2006.
58. York MK, Traylor MM, Hardy J, Henry M. Biochemical tests for the identification of aerobic bacteria. Coagulase test - rabbit plasma method. In: Garcia LS (ed in chief). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 2nd ed. update, ASM Press, Washington D.C. p. 3.17.14.1 - 3.17.14.3. ; 2007.
59. S, Koneman, E., Janda, W., Schreckenberger, P., Winn, W., Woods, G., Procop, G.; The gram-positive cocci: Part 1: Staphylococci and related organism. In: Alen Eds. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th Ed, Philadelphia, 2006.
60. York MK, Traylor MM, Hardy J, Henry M. Biochemical Tests for the Identification of Aerobic Bacteria. Catalase Test. In: Garcia LS (ed. in chief).

- Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3rd ed. update, ASM Press, Washington D.C. p. 3.17.11; 2010.
61. Eng, R.H., Padberg, F.T., Smith, S.M., Tan, E.N., Cherubin, C.E., “Bactericidaleffects of antibiotics on slowly growing and nongrowing bacteria”, Antimicrob Agents Chemother, 35: 1824-1828; 1991.
 62. Murano, E.A., and J. A. Hudnall. Media, reagents, and stains. In: Downes, F.P., and K. Ito (ed.). Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th edition. American Public Health Association, Washington. D.C, 2001.
 63. Chapman, G.H.. The significance of sodium chloride in studies of staphylococci. J.Bacteriol. 50: 201-203; 1945.
 64. Hidron, A1., Kourbatova, Ev., Halvosa, Js., Terrel, Bj. ; Risk factors for colonization withmethicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in patients admitted to an urban hospital: Emergence of community-associated MRSA nasal carriage. Clin Infect Dis;41: 159-66; 2005.
 65. Johnson, E.A., Nelson, J.H., Johnson, M.; Microbiological Safety of Cheese Made from Heat Treated Milk. J. Food Protect. 53: 1990; 441-452.
 66. Maifreni Mf, Cıvılını M, Manzano M, Dı Prima R, Comı,G.; Microbiological quality of artisanal ice cream. Zentralbl HygUmweltmed, 194(5-6): 553-570; 1993.
 67. Akarca, G., Kuyucuoğlu Y.; Afyonkarahisar’da satılan dondurmaların mikrobiyolojik kalitesi üzerine çalışmalar. Kocatepe Vet. J. 1 : 11-7; 2008.
 68. Yücel, N., Çıtak, S.; Dondurma örneklerinde bazı mikroorganizmaların varlığı üzerine bir araştırma. Türk Hij. Den. Biyol. Derg. 57 (3): 165 – 170; 2000.
 69. Çağlayanlar GE, Kunduhoğlu B, Çoksöyler N, Comparison of the microbiological quality of packed and unpacked ice creams sold in Bursa, Turkey. JAS, 12: 93-102; 2009.
 70. Hatipoğlu M, Sürer İ, Türk İ, Ankara piyasasında satılan kaymaklı ve karışık dondurmaların bakteriyolojik kaliteleri üzerinde bir araştırma. Etlik Vet Bak Enst Derg, 1(6): 471-478; 1962.

71. Aksoy, A., Sezer, Ç., Vatansever, S.; Kars piyasasında tüketime sunulan sade dondurmaların mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. Harran Üniv. Vet. Fak. Derg. 2(1) : 1-5; 2013.
72. Mukan, M., Evliya., B.; Adana piyasasında tüketime sunulan sade-kaymaklı dondurmaların mikrobiyolojik kalitelerinin tüketici sağlığı açısından değerlendirilmesi. Gıda. 27 (6) : 489- 496; 2002.
73. Güner, A., Ardiç, M., Keleş, A. ; Konya’da pastahanelerde tüketime sunulan dondurmaların mikrobiyolojik kalitesi. Vet. Bil. Derg. 20 (2): 59-64; 2004.
74. Bostan, K., Akın, B.; Endüstriyel dondurmaların mikrobiyolojik kalitesi üzerine bir araştırma. Turk J. Vet. Anim. Sci. 26: 623-629; 2002.
75. Sağdıç, O., Tülüoğlu, D.D., Özçelik, S., Şimşek, B.; Isparta piyasasında tüketime sunulan dondurmaların kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg. 33 (4): 441-446; 2002.
76. Keskin, Y., Başkaya, R., Özyaral, O., Kıyan, P.; Sade dondurmaların mikrobiyolojik incelenmesi. Türk Mikrobiyal Cem. Derg. 37 (1): 51-58; 2007.
77. Sağlam, A.; Adana’da satışa sunulan dondurmalarda stafilokokal enteretoksinlerin varlığının saptanması ve *Staphylococcus aureus* identifikasyonu. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 2011.
78. Ektik, N.; Balıkesir İlinde Süt ve Süt Ürünlerindeki Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus*’un Prevelansı ve Antibiyotik Dirençliliği, Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir, 2015.
79. Dilsiz, B.; Subklinik Mastitisli İnek Sütlerinden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarında Metisilin Direncinin Fenotipik ve Genotipik Araştırılması, Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Hatay, 2010.

10. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	ELİF	Soyadı	EDE
Doğum Yeri	ÜSKÜDAR	Doğum Tarihi	03.10.1994
Uyruğu	Türk	T.C. Kimlik No	40864184836
E-mail	eliffede@gmail.com	Tel	05386797709

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans		
Lisans	İstanbul Medipol Üniversitesi	2015
Lise	Nevzat Ayaz Anadolu Lisesi	2011

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yı – Yıl)

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama	Konuşma	Yazma
İngilizce	Çok iyi	iyi	iyi
Almanca	orta	zayıf	zayıf

Yabancı Dil Sınav Notu								
KPDS	YDS	IELTS	TOEFL	PBT	CBT	FCE	CAE	CPE
	66,25							

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES PUANI	81		
(Diğer)			