

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ



PROJE BAŞLIĞI

**KAYSERİ İLİNDE TÜKETİME SUNULAN TAVUK ETLERİNDE
STAPHYLOCOCCUS AUREUS ENTEROTOKSİN VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Proje No: TSY-12-3895

Proje Türü
Yüksek Lisans

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:
Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ
ERÜ Veteriner Fakültesi/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi

Araştırmacının Adı Soyadı
Hüseyin KAYA
ERÜ Veteriner Fakültesi/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi

**Nisan 2014
KAYSERİ**

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Veteriner Besin Hijyeni Ve Teknolojisi Anabilim Dalı

KAYSERİ İLİNDE TÜKETİME SUNULAN TAVUK
ETLERİNDE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ENTEROTOKSİN
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan
Hüseyin KAYA

Danışman
Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ

Yüksek Lisans Tezi

Nisan 2014
KAYSERİ

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

**KAYSERİ İLİNDE TÜKETİME SUNULAN TAVUK
ETLERİNDE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ENTEROTOKSİN
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Hüseyin KAYA**

**Danışman
Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ**

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSY-
TSY-12-3895 kodlu proje ile desteklenmiştir**

Yüksek Lisans Tezi

**Nisan 2014
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

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

Adı- Soyadı: Hüseyin KAYA

İmza:

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Kayseri İlinde Tüketime Sunulan Tavak Elleriinde *Staphylococcus aureus* Enterotoksin Varlığının Araştırılması” adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Hüseyin KAYMAKÇI



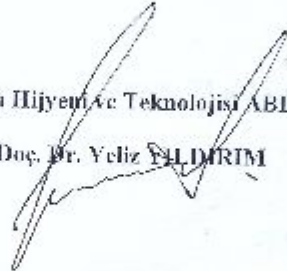
Danışman

Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ



Veteriner Gıda Hijyen ve Teknolojisi ABD Başkanı V.

Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM



Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ danışmanlığında Hüseyin KAYA tarafından hazırlanan “Kayseri İlinde Tüketime Sunulan Tavuk Etlerinde *Staphylococcus aureus* Enterotoksin Varlığının Araştırılması” adlı bu çalışmada jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

18/04/2014

JÜRİ:

Danışman: Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ

Üye: Prof. Dr. Suzan YALÇIN

Üye: Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM

İMZA

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 08.05.2014 tarih ve627..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

08.05.2014

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR

Enstitü Müdürü



TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamda ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Zafer GÖNÜLALAN, danışman hocam Sayın Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ'a, Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM'a, çalışmam sırasında analizlerinin gerçekleştirilmesinde yardımcı olan Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Araştırma görevlisi Serhat AL'a, tez projesini TSY-12-3906 proje koduyla maddi olarak destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi yetkililerine, çalışmalarım sırasında ve ayrıca tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen çok kıymetli aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Hüseyin KAYA
Kayseri, Nisan 2014

KAYSERİ İLİNDE TÜKETİME SUNULAN TAVUK ETLERİNDE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ENTEROTOKSİN VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Hüseyin KAYA

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Yüksek Lisans, Nisan, 2014

Danışman: Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ

KISA ÖZET

Bu çalışmanın amacı Kayseri ilinde satışa sunulan tavuk etlerinde *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ve enterotoksinlerinin varlığını incelemektir. Çalışmada toplam 100 adet tavuk karkas örneği materyal olarak kullanıldı. Çalışmada incelenen 100 tavuk karkasının 30'unun (% 30) *S. aureus* ile kontamine olduğu ve kontaminasyon düzeyinin 2×10^1 kob/g ile 1×10^8 kob/g arasında olduğu belirlendi. *S. aureus* ile kontamine tavuk eti örneğinden 3'ünün (%10) Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünlerindeki Mikrobiyolojik Limitler Tebliği'nin üzerinde olduğu tespit edildi. Çalışmada, incelenen tavuk karkası örneklerinden elde edilen *S. aureus* kolonilerine uygulanan ELISA testi sonucunda izolatların hiç birinde Stafilokokal enterotoksinlere rastlanmadı. Bu çalışmada elde edilen verilere göre, Kayseri'de satışa sunulan tavuk karkas etinde *S. aureus* kontaminasyonu olabileceği ve bu durumun halk sağlığı açısından göz ardı edilmemesi gereken bir tehlike olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Enterotoksin, Kayseri, *S. aureus*, tavuk eti

**DETECTION OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ENTEROTOXINS FROM POULTRY MEATS
CONSUMED IN KAYSERİ**

Hüseyin KAYA

**Erciyes University, Institute of Health Sciences
Department of Veterinary Food Hygiene and Technology**

Master Thesis, April, 2014

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Nurhan ERTAŞ

Abstract

The aim of this study was to determine the presence of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and its enterotoxins from the poultry consumed in Kayseri. Total of 100 chicken carcass were used as a material. Thirty out of 100 chicken carcass sampled (30%), found to be contaminated with *S. aureus* with the contamination level ranging from 2×10^1 kob/g to 1×10^8 kob/g. Three of the contaminated poultry meat samples (10%), found to be contaminated with this pathogen at the levels exceeding the microbiological limits laid down in Turkish Food Codex regarding meat and meat products. In this study, none of the staphylococcal enterotoxins did not found from *S. aureus* isolates were obtained from chicken carcasses with ELISA. As a consequence, the presence of *S. aureus* were effective in carcasses retailed in Kayseri and vicinity and it was concluded that should not be ignored for public health.

Anahtar kelimeler: Enterotoksin, Kayseri, *S. aureus*, chicken meat

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	iii
ONAY.....	iv
TEŞEKKÜR	v
KISA ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR.....	ix
TABLolar VE ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.TARİHÇE	4
2.2.STAFİLOKOKLARIN KLASİFİKASYONU VE GENEL ÖZELLİKLERİ.....	5
2.3. STAPHYLOCOCCUS AUREUS VE GIDA ZEHİRLENMESİ.....	7
2.3.1.Stafilokokal Enterotoksinler.....	7
2.3.2. Stafilokokal Enterotoksinlerin Gıdalardaki Varlığı.....	8
2.3.3. Enterotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler.....	12
2.3.4. Enterotoksinlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	15
2.3.5. Stafilokokal Enterotoksinlerin Genetik Özellikleri.....	16
2.3.6. Enterotoksinlerin Süperantijen Aktiviteleri.....	16
2.3.7. Stafilokokal Enterotoksinlerin Filogenetik İlişkileri.....	16
2.3.8. Stafilokokal Enterotoksinlerin Dizi Analizleri.....	18
2.3.9. S. aureus ve Stafilokokal Enterotoksinleri Saptama Yöntemleri.....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1. GEREÇ.....	20
3.1.1. Materyal.....	20
3.1.2. S. aureus İzolasyonunda kullanılan Besiyerleri.....	21
3.1.3. Supplement.....	21
3.1.4. S. aureus'un Fenotipik Testlerinde Kullanılan Ayıraçlar.....	22
3.1.5. S. aureus Enterotoksinin Belirlemede kullanılan Kit.....	22
3.1.6. Standart Suş.....	22
3.2. YÖNTEM	23
3.2.1. Tavuk Karkas Örneklerinden Staphylococcus aureus İzolasyonu.....	24

3.2.2.Biyokimyasal Testler.....	23
3.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i> Enterotoksinlerinin Belirlenmesi.....	24
3.2.3.1. ELISA Prosedürü	24
4. BULGULAR.....	26
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	29
6. KAYNAKLAR.....	34
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR

APC	Antijen sunan hücrelerin
ELISA	Enzyme- Linked Immunosorbent Assay Amplified fragment lenght polymorphism
QS	Quorum Sensing
PVL	Panton-Valentin Lökosidin
PT	Pirojenik Toksin
SSA	Streptokokal süperantijen A
SPE	Streptokokal Pirojenik ekzotoksinlerden
SE	Stafilokokal enterotoksinler
TŞST-1	Toksik Şok Sendromu Toksini-1
TCR	T hücre antijen reseptörleri
TGK	Türk Gıda Kodeksi

TABLÖLAR VE ŞEKİLLER LİSTESİ

Tablo 2.1. <i>S. aureus</i> 'un et ve et ürünlerindeki limitleri	10
Tablo 2.2. <i>S. aureus</i> 'un üreme ve toksin oluşturmaya ilişkin parametreler.....	12
Tablo 3.1. İşletmelerden Tavuk karkası Numunlerinin Toplanma Aralıkları.....	20
Tablo 4.1. İncelenen Tavuk karkası örneklerinde izole edilen <i>S. aureus</i> sayısı Dağılımı.....	26
Tablo 4.2. ELISA Analizi Sonucunda Karkas Örneklerinde Staphylococcal Enterotoksin için Belirlenen Absorbans Değerleri.....	27
Şekil 2.1. <i>S. aureus</i> 'un mikroskop altındaki görüntüsü	7
Resim 4.1. Baird Parker Medium'a (Oxoid CM275) dökme plak yöntemi ile ekim yapılan ve besiyerinde üreyen <i>S.aureus</i> kolonilerinin görüntüsü.....	27

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Beslenme, vücudun ihtiyacı olan enerji ve besin öğelerinin organizmanın varlığını sürdürmesi ve büyümesi, yıpranan ve yaralanan dokuların tamiri ile kaybettiklerini yerine koyması için sindirim yolu ile alınmasından onların organizma tarafından emilimine kadar geçen olaylar bütünüdür. Yeterli ve dengeli beslenme için yaş, cinsiyet ve fizyolojik duruma göre ihtiyaç duyulan tüm besin öğelerinin yeterli miktarda alınması gerekmektedir. Vücudun ihtiyaç duyduğu besinler, et ve et ürünleri, süt ve süt ürünleri, sebzeler ve meyveler ile ekmek ve tahıllar olarak dört gruba ayrılmıştır (1).

Canlı organizmadaki metabolik olayların devamını sağlayan besin öğeleri proteinler, yağlar, karbonhidratlar, mineraller, vitaminler ve su olarak gruplandırılmaktadır. Proteinler; hücrelerde yapı taşı olarak kullanılmalarının dışında enzim ve bazı hormonların da yapısını oluşturmaktadır. Hayvansal ürünler içerisinde yer alan et, yüksek kalitede protein, B grubu vitaminler ile özellikle demir ve bakır yönünden zengin bir gıda maddesidir (2). Etin yapısında bulunan proteinlerin yapıtaşı olan amino asitlerin bir kısmı organizma tarafından sentezlenemediğinden dışarıdan alınması gerekmektedir. Bu amino asitler esansiyel ya da eksojen amino asitler olarak isimlendirilmektedir ve valin, lösin, izolösin, treonin, lisin, metiyonin, triptofan ve fenilalaninden oluşmaktadır (1). Bütün hayvansal ve bitkisel besinlerde protein bulunmasına rağmen hayvansal proteinlerin esansiyel aminoasitlerin tamamına yakını içerdiği; sindirilebilirlik oranlarının da bitkisel proteinlere göre daha yüksek olduğu bildirilmektedir (2). Bu nedenle et ve et ürünleri insan beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır (3, 4).

Sağlıklı beslenme konusu günümüzde gitgide daha fazla önem kazanırken kırmızı etin yüksek yağ oranı, tüketicileri daha az yağlı olan kanatlı etlerini tercih etmeye yöneltmektedir. Ucuz ve sağlıklı bir protein kaynağı olan kanatlı etinin, patojen mikroorganizmalar ve bunların toksinleri ile kontamine olması kanatlı eti sektöründe üretimden tüketime kadar olan aşamalarda mikrobiyolojik kontrollerin önemini ortaya koymaktadır (5). Uygun olmayan şartlarda üretilen ve uzun süre bekletilerek satışa sunulan kanatlı etleri, *Staphylococcus aureus* ve enterotoksinlerinin varlığında insan sağlığı açısından risk oluşturmaktadır (6,7).

Stafilokokal gıda zehirlenmeleri, enterotoksijenik özelliğe sahip stafilokokların gıdalarda 10^6 kob/g veya daha yüksek sayıya ulaşması sırasında sentezlenen bir ekzotoksin olan enterotoksinin alimenter yol ile alımı sonucu oluşmaktadır. Başta hayvansal gıdalar olmak üzere değişik gıdalar stafilokokal gıda zehirlenmelerine neden olmaktadır. Hayvansal kökenli pişirilmiş ya da az pişirilmiş gıdalardan sığır, domuz, hindi ve tavuk eti, özellikle süt tozu ve peynir olmak üzere süt ürünleri, kremalı pasta ürünleri, ayrıca süt, şeker ve yumurtadan yapılmış dondurulmuş soslar bunların başında gelmektedir (7).

Stafilokoklar insan ve hayvanlarda deri, solunum yolu ve barsak kanalının normal florasını oluştururlar. Ancak patojenik formları extraselüler maddeler ve toksinleri ile enfeksiyonlara neden olurlar. *Staphylococcus aureus* ve enterotoksinlerinin varlığı mikroorganizma kaynaklı, başta sindirim sistemi olmak üzere birçok organda ciddi hastalık semptomlarına neden olan önemli bir halk sağlığı sorunu olması dolayısı ile araştırma bölge insanının halk sağlığı bakımından da önem taşımaktadır (5,7).

Gıdadaki enterotoksinin çok düşük konsantrasyonlarda olsa bile (0.5-0.75 ng/ml) gıda zehirlenmesine yol açabildiği bilinmektedir. Bu nedenle gıda zehirlenmesine neden olan *Staphylococcus aureus*'un izolasyonu ve toksininin belirlenmesi için güvenilir, hızlı, basit ve hassas analitik bir metot kullanmak gerekmektedir. Son dönemlerde, enterotoksijenik *Staphylococcus aureus* identifikasyonu için PCR-ELISA gibi gelişmiş ve hızlı tekniklerden yararlanılmaktaysa da *Staphylococcus aureus* enterotoksinlerinin saptamasında en kolay, hızlı ve güvenilir yöntemin Enzyme- Linked Immunosorbent Assay (ELISA) metodu olduğu kabul edilmektedir (7).

Bu alışmada, Kayseri ilindeki farklı satış noktalarından temin edilen kanatlı eti örneklerinde *Staphylococcus aureus* ve enterotoksinlerinin varlığı ELISA metodu ile tespit edilmesini amaçlamaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.TARİHÇE

Doğada yaygın olarak bulunan stafilocoklar, ilk kez 1878 yılında Pasteur ve Koch tarafından gözlenmiş ancak Yunancada üzüm salkımı anlamına gelen "staphyle" kelimesinden türetilmiş olan *Staphylococcus* terimi ilk olarak İskoçyalı cerrah Alexander Ogston tarafından kullanılmıştır (8). Alexander Ogston tarafından 1881’de etkenin fare ve kobaylar için patojen olduğunu bildirilmiştir. Rosenbach 1884’te irinli yaralardan saf kültür olarak elde ettiği beyaz renkli kolonileri *Staphylococcus albus*, altın sarısı renkli kolonileri ise *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) olarak isimlendirmiştir (9). Önceden *Micrococaceae* familyasına dahil edilen stafilocoklar, 1957 yılında Evans’ın glikozu anaerobik olarak fermente edebildiklerini belirlemesi ile *Staphylococcus* isminde ayrı bir soy olarak sınıflandırılmışlardır. Çoğunlukla enfeksiyonlardan izole edilen ve koagülaz üretebilen *S. aureus*, diğer stafilocok türlerinden ayrılmış, *S.intermedius* ve *S. hyicus* hariç 1984 yılına kadar ortaya çıkarılan yeni türlerin tamamı genel bir isimlendirmeye Koagülaz Negatif Stafilocoklar (KNS) olarak adlandırılmışlardır (10, 11).

2.2. STAFİLOKOKLARIN KLASİFİKASYONU VE GENEL ÖZELLİKLERİ

Staphylococcus genusundaki bakteriler insan ve hayvanların deri ve mukozalarında, sindirim ve ürogenital sistemlerinde bulunan, dolayısıyla her türlü çevrede rastlanabilen Gram pozitif mikroorganizmalardır (12).

Staphylococcaceae familyası üyesi olan stafilocoklar genellikle üzüm salkımı şeklinde gözlenen topluluklar oluşturan, 0.5-1.7 µm çapında kok şeklinde, spor oluşturmayan, hareketsiz, aerop ve fakültatif anaerop, oksidaz negatif, katalaz pozitif bakterilerdir (13). Bu cins içinde yer alan türlerden çoğu %7.5-10 NaCl içeren besiyerlerinde ve optimal üreme

ısıları 37°C olmasına rağmen 18-45°C'ler arasında üreyebilirler. Katı besiyerinde 24 saatlik inkübasyondan sonra 1-3 mm büyüklüğünde yuvarlak, düzgün, düşük konveks ve parlak görünümde ürerler. Stafilocoklar düşük oranda (%30-39 mol) Guanin ve Sitozin (G+C) içerir (14). *Staphylococcus* cinsi içinde bulunan 28 tür ve 32 alt türden insan patojeni olan türler olduğu gibi, basta sucuk olmak üzere çeşitli gıdaların üretiminde starter olarak kullanılan *S. carnosus* gibi türler de vardır (15).

Familyada yer alan *S. aureus* da sporsuz, kapsülsüz ve hareketsizdir. Mikroskop altında 0.5-1.5 µm çapında, sferik veya oval şekilde, Gram pozitif ve üzüm salkımı şeklinde görüntü verir (16, 17). Optimal üreme ısısı 37°C'dir, katalaz testi pozitif, oksidaz negatiftir (18). Bakteri, sıvı ve katı besiyerlerinde aerobik veya fakültatif anaerobik koşullar altında kolaylıkla üreyebilir. Sıvı besiyerinde homojen bir bulanıklık ve tüpün dibinde zamanla sarılaşan bir tortu oluşturur. Katı besiyerlerinde ise 4-6 mm büyüklüğünde koloniler oluşturarak griden parlak sarıya kadar değişen pigment açığa çıkarırlar. Tür adını, genel besiyerlerinde altın sarısı koloni oluşturmasından almaktadır. Latince de aurum "altın" anlamına gelmektedir. Kanlı agarda hemoliz meydana getirir (7, 19).

Plazmayı pıhtılaştırma özelliği gösteren bir enzim olan koagülaz, *S. aureus*'u diğer stafilocoklardan ayırt etmede kullanılmaktadır. Bir çok *S. aureus* suşu koagülaz pozitifdir. Bazı *S. aureus* suşları koagülaz negatif olabilmektedir. Ayrıca *S. aureus*'un haricinde *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. aureus* subsp. *anaerobius*, *S. delphini* ve *S. schleiferi* subsp. *coagulans*'ın da koagülaz ürettiği bildirilmektedir. Bu tür durumlarda DNaz, termonükleaz ve mannitol testleri uygulanmaktadır. *S. aureus* mannitolü parçalayarak asit oluşturmaktadır. Ayrıca anaerobik ortamda glikozu fermente ederek K-toksin oluştururlar (19, 20). Koagülaz ve termostabil nükleaz testleri pozitif olan *S. aureus* suşlarının enterotoksin oluşturma ve dolayısıyla patojeniteleri arasında pozitif korelasyon bulunduğu bildirilmektedir. Bu enzimlerin analiz edilen gıdada tespit edilmesi *S. aureus*'un gıdadaki varlığını göstermektedir. Koagülaz pozitif olan ve stafilocokal gıda zehirlenmelerine neden olan enterotoksijenik stafilocoklar halk sağlığı için önem arz etmektedir (13, 18).

Staphylococcus aureus, tuza dayanıklı bir bakteridir ve % 12-15 tuz konsantrasyonuna kadar gelişme gösterebilir (7). Bakterinin optimum su aktivitesi (aw) değeri >0.99 olmakla birlikte, minimum su aktivitesinin genelde 0.86; bazı suşlar için aerobik koşullarda 0.83 olarak bildirilmektedir (20, 21). Ayrıca 4°C'de 2-3 ay, -20°C'de 3-6 ay ve 60°C'de 30 dakika dayanma süresine sahiptirler (18-20). Genellikle dezenfektanlara karşı duyarlı olduğu bildirilse de tellürit, civa klorür, sodyum azid gibi kimyasal maddelere direnç gösterdiği rapor

edilmiştir (18). *S. aureus*, İnsan ve hayvanlar üzerindeki etkisi konusunda çok sayıda çalışma yapılmış fırsatçı bir patojendir. Cilt ve doku enfeksiyonları, bakteriyemi, toksik şok sendromu, endokardit gibi birçok enfeksiyona ve gıda zehirlenmesine neden olurlar (22). Antibiyotiklere karşı çok çabuk direnç oluşturdıklarından etkenin meydana getirdiği enfeksiyonlar nosocomial enfeksiyonlar içerisinde önemli bir yer tutmaktadır. İnsanların yaklaşık % 20-25'i nasal mukozasında % 50-30'u ise derisinde (populasyona, ırka, yaşa, yaşam koşullarına v.s. göre değişebilmektedir) etkeni taşımaktadır (23, 24).

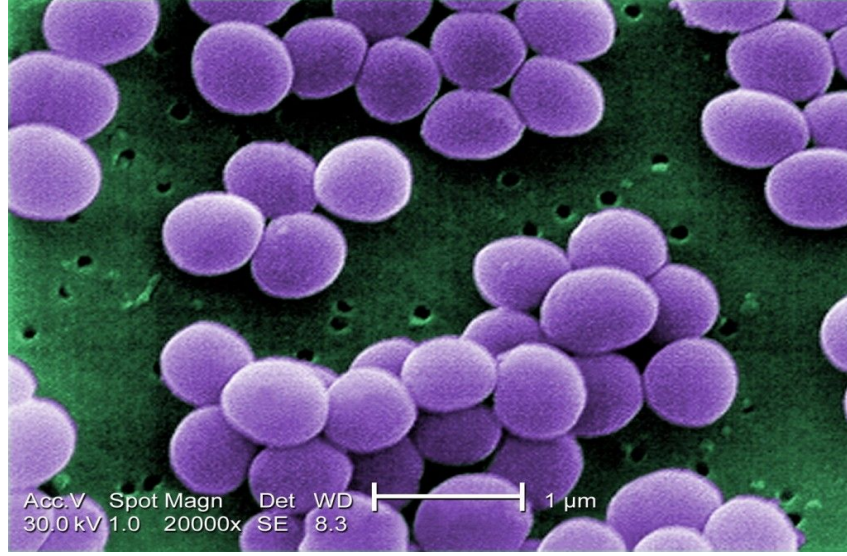
S. aureus, hücre dışına salınan Sitolitik toksinler, Enterotoksinler, Eksfoliyatif Toksin, Toksik Şok Sendromu Toksini-1 (TSST-1), Panton-Valentin Lökosidin (PVL) gibi çok sayıda toksin üretebilir (25).

Enterotoksinler aslında ekzotoksindirler ve sindirim sistemini etkilediklerinden bu isimle anılırlar. Stafilokok enterotoksinleri, insan beynindeki kusma merkezini uyararak kusmaya neden olduklarından aynı zamanda nörotoksin etkisi de gösterirler (19). 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 (26).

Staphylococcus genusundaki bakteriler arasında *S. aureus*' tan baska enterotoksin oluşturan suşlar da vardır. Bunlar: *S. haemolyticus*, *S. xylosus*, *S. equorum*, *S. lentus*, *S. capitis* ve *S. intermedius*' dur (18). Ancak stafilokokal gıda zehirlenmelerinin büyük çoğunluğu *S. aureus*' tan kaynaklanmaktadır ve koagülaz pozitif stafilokoklardan *S. hyicus* ve *S. intermedius*'un sentezledikleri enterotoksin miktarı *S. aureus*' a göre çok düşüktür (18,19).

Stafilokokal gıda zehirlenmeleri, enterotoksijenik özelliğe sahip stafilokokların gıdalarda 10^6 kob/g veya daha yüksek sayıya ulaşmasıyla sentezledikleri ve gıdada hissedilebilir hiçbir değişiklik oluşturmeyen enterotoksinlerin alimenter yolla alımı sonucu oluşmaktadır (27).

Staphylococcus aureus'un besin kaynaklı hastalıkların oluşumunda yaygınlık bakımından *Salmonella* ve *Campylobacter* gıda zehirlenmelerinden sonra üçüncü önemli toplum sağlığı sorunu olduğu düşünülmektedir (28).



Şekil 2.1. *S. aureus*'un mikroskop altındaki görüntüsü (29)

2.3.STAPHYLOCOCCUS AUREUS VE GIDA ZEHİRLENMESİ

2.3.1.Stafilokokal Enterotoksinler

Staphylococcus aureus meydana getirdiği süperantijenik yapıdaki enterotoksinler (SE) ile kusma, diyare, mide krampları, baş ağrısı, kas krampları ve nadiren ateş ile seyreden gıda zehirlenmelerine yol açmaktadır (30). Enterotoksinler, pH <2'de pepsin hariç insan intestinal sisteminin proteolitik enzimlerine dirençli, su ve tuzlu solüsyonlarda çözünbilme özelliğine sahip olan söz konusu toksinlerin gıdalardaki biyolojik aktivitesinin ısı işlemi uygulamalarından sonra da devam ettiği bildirilmektedir (31). Enterotoksinlerin 100°C'de 180 dakikada, 120°C'de 60 dakikada tamamen inaktive olduğu bildirilmiştir. Enterotoksinler kurumaya ve gama ışınlarına yüksek direnç gösterirler (18,19). Gıdaların çoğunda stafilokoklar 5.5.-6.6 arasındaki pH değerlerinde, %10 tuz konsantrasyonunda ve 25-30°C'de toksin üretilmektedirler. Ayrıca SEB'in çok düşük miktarlarda da olsa 10-20°C arasında üretilbildiği bildirilmiştir (18,19).

S. aureus'un toksin üretebilmesi için $\geq 10^6$ kob/g'a ulaşması gerektiği belirtilmiş olsa da yapılan bir çalışmada 10^3 kob/g miktarındaki bakterinin bulunduğu ortamda toksin belirlendiği bildirilmiştir (32).

Stafilokokal enterotoksinler, antijenik özelliklerine göre başlangıçta SEA, SEB, SEC, SED ve SEE olarak beş serotipe ayrılmışlar (30,31), son zamanlarda ise başka SEG, SEH, SEI, SEJ, SEK, SEL, SEM, SEN, SEO, SEQ, SEP, SER ve SEU gibi başka enterotoksinlerin varlığı da bildirilmiştir (18,19,33). İnsanlarda stafilokokal gıda zehirlenmelerine neden olan toksinler genellikle SEA ve SED olarak belirlenmiş, en toksik olan SEA, ısıya karşı en dayanıklı olan ise SEB olarak bildirilmiştir. Enterotoksinlerden SEC kendi arasında C1, C2 ve C3 olmak üzere üçe ayrılır (18,19). Duyarlı bireylerde hastalık belirtilerinin ortaya çıkabilmesi için gerekli enterotoksin miktarının 1 g gıdada 1 µg ile 100 ng arasında değiştiği belirtilmektedir (19,28). SEC, SEB ve SEE toksikasyonları ise nadiren bildirilmektedir (19).

Bir *S. aureus* suşu farklı enterotoksinleri üretebilmektedir. 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. SEA sentezi bakteriyel üremenin logaritmik ve duraklama dönemlerinde olurken, SEB sentezi ile bakteriyel üremede duraklamanın başladığı dönemde gerçekleşmektedir. SEC oluşturan suşlar besiyerlerinde iyi gelişmektedir (19,34).

Gıdalarda *S. aureus* enterotoksinlerinin belirlenmesi için çeşitli test kitleri kullanılsa da poliklonal ve monoklonal antiserumların kullanıldığı ELISA testi ile yaklaşık 0.1 ng toksin başarıyla tespit edilebilmektedir (30) .

2.3.2. Stafilokokal Enterotoksinlerin Gıdalardaki Varlığı

Gıda kaynaklı hastalıklar, patojen mikroorganizmalar veya bunların toksinleri ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesi sonucunda şekillenmekte (19), hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde oldukça büyük problemler oluşturmaktadır (18,19). Başta hayvansal gıdalar olmak üzere değişik gıdalar stafilokokal gıda zehirlenmelerine neden olmaktadır. Hayvansal kökenli pişirilmiş yada az pişirilmiş gıdalardan sığır, domuz, hindi ve tavuk eti, özellikle süt tozu ve peynir olmak üzere süt ürünleri, kremalı pasta ürünleri, ayrıca süt, şeker ve yumurtadan yapılmış dondurulmuş soslar bunların başında gelmektedir (28,35,36). Stafilokok enterotoksininin oluşması ile gıda zehirlenmesi görüldüğü gibi, stafilokoklar bakteriyemi ve bütün organlara yayılabilen apselerin oluşmasına da neden olabilirler (30). Stafilokokal enterotoksinler gıda zehirlenmelerinin yanı sıra toksik şok benzeri sendroma, artritise, alerjik reaksiyonlara ve otoimmün hastalıklara neden olmaktadır (18,19,36).

Stafilokoklar, insanların üst solunum yolları ve derileri üzerinde doğal florayı oluşturan mikroorganizmadır. Bu nedenle gıdaların stafilokoklarla kontaminasyonunda en önemli

vektör gıda üretiminde çalışan personel olarak tanımlanmaktadır. *Staphylococcus aureus*, enfeksiyonlarının en önemli bulaşma kaynaklarından birisi, etkeni taşıyan insanın eli ile kontamine olmuş besinlerdir (28,37,38).

Gıda endüstrisinde kullanılan sıcaklık işlem uygulamaları stafilokokal enterotoksinleri yeterli seviyede inaktive etme performansı sağlayamamaktadır. Primer kontaminasyonlar ve re-kontaminasyonlar bu yönden önem arz etmektedir (19,34) .

Bir gıdadaki *S. aureus* sayısının düşük seviyede bulunması veya hiç bulunmaması o gıdanın stafilokokal gıda zehirlenmelerine neden olmayacağına dair güvence vermemektedir. Çünkü *S. aureus* gıdalarda uygulanan ısıl işlemle ortadan kaldırılrsa bile oluşturdukları toksinler tahrip edilememektedir. Bu nedenle *S. aureus* kontaminasyonlarından önemle kaçınılması gerekmektedir (26).

Kusumaningrum ve ark. (39) yapmış oldukları bir çalışmada, gıda işletmelerinde kullanılan paslanmaz çelik yüzeylerde *S. aureus* sayısının 12 cfu/cm^2 düzeylerinde bulunduğunu ayrıca kontaminasyonun yüksek seviyelerde olduğu durumlarda bakterinin 96 saatten daha fazla canlılığını koruduğunu belirtmişlerdir. Gıda işletmelerinde çalışan personel de pişmiş, depolanmış ve çiğ gıdalar arasında çapraz kontaminasyonun şekillenmesinde etkili olan faktörlerden birisidir (40,41). Çalışan personel hem patojen hem de saprofit mikroorganizmaların potansiyel kaynağı olup solunum yolu ile damlacık enfeksiyonlarının oluşumunda ve insanlarda özellikle ağız, burun derisindeki gözenek, kıl, çatlak ve kirlere sıkıca yapışmış şekilde bulunan *Staphylococcus spp.*'nin yayılmasında da rol oynamaktadır (42).

Gülbandılar (43), Mayıs 2006-Haziran 2007 tarihlerinde Kütahya Halk Sağlığı Laboratuvarına muayene için başvuran gıda ile temas eden aşçı, fırıncı, pastacı gibi çalışanlardan ve halkla direkt temas eden berber, kuaför gibi esnaf gruplarından olmak üzere toplam 3048 kişiden burun kültürü aldığını ve 217 örnekten *S. aureus* izole ettiğini bildirmiştir. Bu izolatların 37'sinin kadın çalışanlardan (%17.05), 180'inin ise erkek çalışanlardan (%82.9) izole edildiği belirtilmiştir.

Fujikawa ve Morozumi (44), UHT sütlerde *S. aureus* ve enterotoksin üretimine ilişkin bir model üzerinde çalışmışlardır. Geliştirdikleri modele göre sütte bulunan *S. aureus* sayısı $10^{6.5}$ kob/ml düzeyine erişinceye kadar toksin üretiminin ve bakteri sayısını arasında pozitif bir

ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır. Aynı modele göre 14 °C ve 32°C'ler arasında sıcaklıkta muhafazanın toksin üretiminin olumlu yönde etkilendiğini belirlemişlerdir.

Enterotoksijenik stafilocokların ve enterotoksinlerin gıdalar da varlığının belirlenmesi toplum sağlığının korunması, toplumun üretilen gıdalara güvenmesi ayrıca epidemiyolojik çalışmalara yön göstermesi açısından son derece önemli olduğu kabul edilmektedir (34).

Türk Gıda Kodeksi, 2009/6 Tebliğ numaralı, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği et ve et ürünlerindeki tesadüfi örneklemeyle yapılan kontrollerde *S. aureus*' un çiğ kanatlı etlerinde aşağıda belirtilen limitlerde olmasını zorunlu kılmaktadır ve Tablo 2.1'de belirtilmiştir (45).

Tablo 2.1. *S. aureus*'un et ve et ürünlerindeki limitleri (45).

Gıda Maddesi	Mikroorganizma	Numune Alma Planı		Limitler	
Kasaplık hayvanların karkası, çiğ kırmızı et ve kıyma, kanatlı karkası ve çiğ kanatlı eti (soğutulmuş, dondurulmuş) ve dondurulmuş hindi kıyma	<i>S. aureus</i> (kob/ml;g)	n	c	m	M
		5	2	10 ³	10 ⁴

n= örnekleri kapsayan örnek birim sayısı (adet)

m= bakteri sayısı için kabul edilebilir eşik değeri, (cfu/ml;gr) eğer tüm örnek birimlerindeki bakteri sayısı (m) i geçmemişse sonuç yeterli sayılır.

M= bakteri sayısı için maksimum sınır değer (bir veya daha fazla örnek biriminde bakteri sayısı "M" veya daha fazla ise sonuç olumsuz sayılır).

c= örnek grubu içinde izin verilen maksimum sınırın (M) altında olması istenen örnek birim sayısı (diğer örnek birimlerindeki bakteri sayısı "m" veya daha az ise örnek olumlu sayılır).

Stafilokokal gıda zehirlenmesi, enterotoksijenik stafilocoklar tarafından gıdada oluşturulan toksinlerin alimenter yolla alınması sonucu oluşur. Stafilokokal gıda zehirlenmelerinde bulgular 30 dakika ile 8 saatlik bir zaman diliminde ortaya çıkmakla birlikte, genellikle 2 ile 4 saat içinde görülür (34,46). Semptomların süresi ve ağırlığı alınan enterotoksin miktarına, hastanın yaşı ve kilosuna bağlıdır. İntoksikasyonda mide bulantısı, kusma, şiddetli kramplar, abdominal ağrı ve diyare en belirgin semptomlarıdır ve semptomlar 24-48 saat sürmektedir. Baş ağrısı, baş dönmesi, genel halsizlik, nabızda zayıflık, dıskı ve kusmukta kan, yüzeysel solunum, şok ve enteritis daha az görülen diğer semptomlarıdır. Gıda zehirlenmesiyle oluşan akut gastroenteritiste mukozalarda hiperemi ve erozyon, kaslarda irritasyon sonucu kasılmalar,

bölgesel ödem ve jejunum mukozasının epitelyum hücrelerinde mitokondriyal tahribat ortaya çıkar (19, 30, 34, 36,47).

S. aureus' da toksin üretimini etkileyen faktörler; pH, aw, O₂ ve diğer mikroorganizmaların varlığıdır. Son yıllarda *S. aureus*'un toksin oluşturma mekanizmasının "Quorum Sensing" (QS) denilen bakterilerin yeterli hücre yoğunluğuna ulaşması ile bağlantılı, bakteriler arası sosyal davranış (iletişim) biçimlerinden birisi olduğu belirlenmiştir (22). Belay ve Rasooly (48), anaerobik koşulların *S. aureus*'un gelişimi ve SEA oluşumu üzerine etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, Stafilokokal hücre yoğunluğunun aerobik koşullarda anaerobik koşullara göre 9-17 kat daha fazla olduğu bulunmuş ve SE oluşumunun gelişmeye bağlı olduğu göstermişlerdir. Anaerobik ortamda yavaş gelişme az toksin oluşumuna neden olurken her iki koşulda da inkübasyonun 120. dakikasından sonra SEA belirlenebilmiştir.

Kusma, stafilokokal gıda zehirlenmelerinde belirgin bir semptomdur. Toksinlerin bağırsaktaki lokal sinir reseptörlerini uyarmasına bağlı olarak vagus ve sempatik sinirler üzerinden geçen impulsların beynin subkortikal kusma merkezine ulaşması sonucu emezis oluşmaktadır (34, 49). Stafilokokal gıda zehirlenmesinde ikinci en yaygın olarak görülen semptom diyaredir. Stafilokokal enterotoksinlerin intestinal hücreler üzerine direkt etkisi açık değildir ve bu yüzden kolera toksini veya *Escherichia coli* enterotoksinleri gibi klasik enterotoksinlerden farklılık göstermektedir (34,49,50).

Stafilokokal gıda zehirlenmesi olgularında ölüm nadirdir. Ancak çocuklar ve yaşlılarda ölüm oranının %0.03'ten %4.4'e kadar değişebildiği ifade edilmektedir. İntoksikasyon kendi kendini sınırlandırmakta ve 24-48 saat içerisinde hızlı bir şekilde iyileşme görülmektedir (34,51).

Toksin tipine bağlı olarak SE'nin toksikasyon oluşturma kabiliyeti de değişir. Genel olarak alınan gıdanın 1 gramında 1 ng SE bulunması belirtilerin ortaya çıkması için yeterli olmaktadır (49). Çoğu klasik kaynaklarda uzun yıllar minimum toksin dozunun 1 µg veya daha az olarak bildirilmesine rağmen, 94-184 ng düzeyindeki SEA'nın okul çocuklarında intoksikasyona neden olduğu bildirilmiştir (34).

2.3.3. Enterotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler

2.3.3.1. Ekstraselüler Faktörler

Besin maddeleri: Qi ve Miller (52) düşük su aktivitesi değerine sahip besi yerine prolin ilave edilmesiyle SEB oluşumunun stimüle edildiğini ancak, glisin, betain ve karnitin ilavelerinde bu etkinin görülmediğini bildirmişlerdir. Demir, inorganik fosfat, karbondioksit veya bikarbonat içeren besiyerleri sekonder metabolitlerin oluşumunu artırmaktadır. Magnezyumun SEC, demirin ise SEB oluşumunu yüksek düzeyde etkilediği bildirilmiştir (19,34).

Sıcaklık: Tablo 2.2’de belirtildiği üzere *S. aureus*’un üremesi için gerekli optimum sıcaklık derecesi 37 °C iken enterotoksin üretimi için optimum sıcaklık 40-45 °C arasında değişmektedir (19).

Tablo 2.2. *S. aureus*’un üreme ve toksin oluşturmaya ilişkin parametreler (19).

Üreme			Toksın oluşturma	
Optimum	Spektrum	Optimum	Spektrum	
Sıcaklık (°C)	37	6.7-47.8	40-45	10-47.8
PH	6.7	4- 10	6-7	4.5-9.8
A _w değeri	0.98	0.83-0.99	0.98	0.86->0.99
% NaCl	0	0-20	0	0-10
Atmosfer	Aerob	Aerob-anaerob	Aerob	Aerob-anaerob

pH değeri: Enterotoksinlerin oluşumu için optimum pH değerleri 6-7 arasındadır. SEB oluşumu ile karşılaştırıldığında SEA oluşumu pH değişikliklerine daha toleranslıdır (34).

Atmosferik koşullar: Belay ve Rasooly (48), anaerobik koşulların *S. aureus*’un gelişimi ve SEA oluşumu üzerine etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, Stafilokokal hücre yoğunluğunun aerobik koşullarda anaerobik koşullara göre 9-17 kat daha fazla olduğu bulunmuş ve SE oluşumunun gelişmeye bağlı olduğu gösterilmiştir. Anaerobik ortamda yavaş gelişme az toksin oluşumuna neden olurken her iki koşulda da inkübasyonun 120. dakikasıdan sonra SEA belirlenebilmiştir.

Sodyum klorür ve su aktivitesi: % 5'lik NaCl konsantrasyonları tuzsuz ortamlara oranla *S. aureus* üremesini artırırken, %7.5 ve %10 düzeylerindeki tuz konsantrasyonunun üremeyi kısmen geciktirdiği bildirilmiştir (17,19). Qi ve Miller (52)'in, düşük a_w değerinin SEA ve SEB biyosentezi üzerine etkisini araştırdıkları bir çalışmada, SEB oluşumunun düşük a_w değerine SEA oluşumundan daha duyarlı olduğunu ortaya koymuşlardır.

Diğer kimyasal maddeler: Laktobasiller tarafından üretilen veya gıdalara ilave edilen hidrojen peroksit *S. aureus*'un üremesini inhibe edebilmektedir (Dahiya, 1968). Sheldrake ve ark. (53) 1000 mg/L iodin *S. aureus* sayısının azaltılmasına oldukça etkili olduğunu saptamışlardır.

Rekabetçi özellik: Stafilokoklar genel olarak zayıf rekabetçi özelliğe sahip bakterilerdir. Sıvı besi yerinde *Pediococcus cerevisiae* ve toksin oluşturan *S. aureus* suşları arasındaki etkileşimler stafilokokların 20 kat daha az SEA, SEB ve SEC oluşturmalarıyla sonuçlanmıştır (19).

SEA oluşturma özelliğindeki *S. aureus*'un farklı sıcaklıklarda olgunlaştırılan fermente Türk sucuğunda *Lactobacillus plantarum* ve *Staphylococcus carnosus* starter kültür kombinasyonu ile baskılandığını bildirilmiştir (19,34).

Mutluer ve ark. (54) salamura beyaz peynir yapımında *Streptococcus lactis* ve *Streptococcus cremoris* starter kültür kullanımının, SEA, SEB, SEC ve SED oluşturma özelliğindeki *S. aureus*'un gelişimini ve toksin oluşumunu tamamen inhibe ettiğini saptamışlardır.

Gonzalez ve ark. (55) endüstride kullanılan ve *Lactobacillus sake*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Staphylococcus xylosus*'dan oluşan starter kültür kullanımının stafilokokal SEA, SEB, SEC1 ve SED'nin sentezini tamamen inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

2.3.3.2. İntraselüler Faktörler

Stafilokokal enterotoksin tiplerinin oluşturulmasında enterotoksijenik özellikteki stafilokok hücrelerinin bulunduğu gelişme fazları önemli etkiye sahiptir. Buna ilişkin olarak SEA, hücrenin logaritmik fazında, SEB, SEC ve SED geç logaritmik faz veya erken duraklama fazında oluşturulur (34). Ayrıca sekonder metabolitler de kendilerini oluşturan bakteriler üzerine inhibitör bir etki yapabilir. Bu çerçevede SEB'i oluşturan *S. aureus* suşlarının gelişme siklusu süresince toksin tarafından baskılandığı saptanmıştır (50).

S. aureus'un virulens faktörlerinin düzenlenmesinde *agr* (accessory gene regulator) geninin rolü büyüktür. *agr* lokusundaki mutasyonlar bir çok SE ve diğer ekzoproteinlerin oluşumunun azalmasıyla sonuçlanır. *agr* tarafından gen transkripsiyonal ve translasyonal olarak düzenlenebilir. *agr*'nin SEB ve SEC'yi transkripsiyonal düzeyde regüle ettiği ve bakteriyel gelişme siklusu boyunca *agr*'nin aktif hale geçmesi ile SEB ve SEC ve SED oluşumunun aynı zamana rastladığı bildirilmiştir. Bütün SE'ler *agr* tarafından regüle edilmemektedir. Örneğin SEA erken oluşturulduğu için *agr* mutasyonlarından etkilenmemektedir (56). *Agr* nötral pH değerlerinde en yüksek düzeyde aktive olur. Glikoz içeren düşük pH'lı besiyerlerinde *agr*'nin hedef aldığı genlerin negatif olarak regüle edildiği ve ekzoprotein oluşumunun azaldığı veya hiç oluşmadığı bildirilmiştir (57). Bununla beraber bakteri yoğunluğunun düşük olduğu ortamlarda *agr* aktif hale geçememekte dolayısıyla adezinlerin yukarı düzenlenmesiyle yani aktif hale geçmesiyle toksin ve enzimlerin oluşumu engellenmektedir. Bakteri yoğunluğunun fazla olduğu durumlarda *agr*'nin yukarı, adezinlerin aşağı düzenlenmesiyle toksin ve enzimlerin salınabildiği bildirilmiştir (58).

S. aureus tarafından oluşturulan değişik enterotoksin tiplerinin miktarları da suşa bağlı olarak farklılık göstermektedir. Gelişme siklusu periyodunca oluşturulan SEB ve SEC düzeyi çok yüksek miktarlara (350 µg/ml) ulaşabilmekte buna karşın diğer SE'ler SEB ve SEC'den çok daha az miktarlarda oluşturulmaktadır (59). Çoğu *S. aureus* suşlarının iki veya daha fazla enterotoksin oluşturabildiği bildirilmektedir (34).

2.3.4. Enterotoksinlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

SE'ler tek zincirli basit proteinlerden oluşan heterojen bir gruptur. Bunların çoğu nötral ya da bazik proteinlerdir (57). Hidroliz yoluyla 18 aminoasit üretirler ve yüksek oranda lizin, aspartik asit, glutamik asit ve tirozin içerirler. Zincirde sadece iki adet yarım sistin rezidüsü ile bir veya iki adet triptofan molekülü bulunur (51). SE'lerin DNA analizi çalışmalarında ilk olarak SEB'nin aminoasit dizilimi belirlenmiştir. SEB'nin N-terminalinde glutamik asit, C-terminalinde ise lizin aminoasidi bulunmaktadır. SEA, SEB, SEE 239-296 aminoasit rezidüsünden oluşur. SEC3, 236 aminoasit kalıntısı içerir ve N-terminal ucunda serin aminoasidi bulunmaktadır. Oysa SEC1'in N-terminalinde glutamik asit yer alır (34,51). Aminoasit bileşimi yönünden SEA, SED ve SEE birbirlerine benzerken, SEB ise SEC1, SEC2 ve SEC3'e benzerlik göstermektedir. Benzerlikler özellikle metiyonin ve lösin içerikleri yönündendir. Örneğin SEB ve SEC'ler 7 veya 8 metiyonin rezidüsüne sahipken SEA, SED ve SEE bir veya iki rezidü içermektedir (34).

SE'ler higroskopik özellik göstererek su ve tuzlu solüsyonlarda çözünebilme özelliğine sahiptirler. Enterotoksinler pH<2'de pepsin hariç insan intestinal sisteminin proteolitik enzimlerine dirençlidir (19,34).

Isıya dayanıklılık SE'lerin en önemli özelliği olup gıdalardaki enterotoksinlerin pişirme, pastörizasyon veya diğer ısı uygulamaları ile tamamen inaktive edilemedikleri bildirilmektedir (51).

Toksinler kurumaya ve gama ışınlarına yüksek direnç gösterirler. SEA toksinlerinin 8.0 kGy gama ışını uygulaması ile yıkımlanabildiği bildirilmiştir (34), bununla beraber kıyma örneklerinde bu düzeydeki ışın uygulamalarından sonra SEA'nın %27-34'ünün yıkımlanmadığı saptanmıştır (19, 34).

2.3.5. Stafilokokal Enterotoksinlerin Genetik Özellikleri

Stafilokokal enterotoksinler (SE) filogenetik ilişki, yapı ve dizilim homolojisini paylaşan stafilokokal ve streptokokal pirojenik ekzotoksinlerden (SPE) oluşan geniş bir familya içerisinde yer alır. Bu gruba stafilokokal enterotoksinler, toksik şok sendrom toksininin (TSST) iki formu ve streptokokların pirojenik ekzotoksinlerinin bir grubu (SPE A, B, C, F, G, H, J ve Streptokokal süperantijen) dahildir (60).

Staphylococcus aureus'un 15 farklı enterotoksin (SEA-SEE, SEG-SEO ve SEU) ürettiği belirtilmektedir. Antijenik özelliklerine göre enterotoksinler üç subfamilyaya ayrılmaktadır. SEA subfamilyası SEA, SED, SEE, SEH ve SEJ; SEB subfamilyası SEB, SEC ve SEG; SEİ subfamilyası SEİ, SEG ve SEE enterotoksinlerini içermektedir (34,61,62).

2.5.6. Enterotoksinlerin Süperantijen Aktiviteleri

Hücre içi immün cevapta temel işlev, membrana bağlı T hücre antijen reseptörleri (TCR-T cell reseptör) tarafından antijenin tanınmasıdır (34). TCR, alfa ve beta ya da gama ve sigma zincirlerinden oluşmaktadır. Antijen sunan hücrelerin (APC-Antigenpresenting cell) üzerinde membrana bağlı proteinlerden MHC sınıf I ve sınıf II molekülleri yer alır. (7). Süperantijenler MHC sınıf II molekülleri ve T hücre reseptörlerinin spesifik V β bölgelerine bağlanarak antijen sunan hücreler ve T lenfositlerin aktivasyonuna yol açmaktadırlar (63). Diğer bir ifadeyle süperantijenler, bilinen antijenlerden farklı olarak, antijen sunan hücreler tarafından

küçük peptid parçalarına ayrılmadan MHC sınıf II moleküllerine bağlanır ve TCR ile bir trimoleküler form oluşturur (7).

2.3.7. Stafilokokal Enterotoksinlerin Filogenetik İlişkileri

PT (Pirojenik Toksin) familyası SE, toksik şok sendrom toksini (TSST-1) ve streptokokal pirojenik ekzotoksinleri (SPE) içermektedir. PT familyası üyelerinin filogenetik ilişkileri SPE tip A, SPE tip C, SEA, SEB, SEC, SEC1, SEC2, SEC3, SED ve SEE'yi kodlayan genlerin nükleotid dizilimi tarafından belirlenmektedir. PT genleri arasında toplam 611 mutasyon oluşumu araştırılmış ve dizilim şekilleri temel olarak iki geniş gruba ayrılmıştır. Bunlarda 1. grup Streptokokal toksin SPEC'ye %51-81 oranında aminoasit benzerliğiyle bilinen Stafilokokal enterotoksinlerden SEA, SEE ve SED'yi içermektedir. Diğer grup dizilimleri ise SEC ve SEB'nin SPEA'ya %42-67 oranında benzer protein dizilimiyle yakın ilişkiye sahiptir (34,64).

SEJ'nin grup I'de yer alan toksinlere benzerliği daha fazladır (%52-66). SEI ve SEH, %31-38 dizilim kimliğiyle grup II toksinlerine daha yakın görülmelerine rağmen SE'ler ile çok uzak ilişkilidir. Genel olarak her iki grup üyeleri arasındaki aminoasit benzerliği %22-33 arasında değişmektedir (65).

2.3.8. Stafilokokal Enterotoksinlerin Dizi Analizleri

2.3.8.1. Stafilokokal Enterotoksin A (SEA):

SEA'yı kodlayan entA geni, bir bakteriyofaj tarafından taşınmaktadır (19,34). Bu fajın sirkülarizasyon ve karşılıklı gen aktarımının bakteriyel kromozom içerisinde tamamlandığı saptanmıştır. entA geninin faj bağlanma bölgesine yakın bir yerde lokalize olduğu, 771 baz çiftinden oluştuğu ve 257 aminoasit rezidüsünün entA prekürsörünü kodladığı bildirilmektedir. Bu yapıda 24 rezidülük bir N-terminal hidrofobik ön dizilimi işlenmekte ve 27,100 Da moleküler ağırlığındaki SEA'nın son şeklini oluşturmaktadır (34).

2.3.8.2. Stafilokokal Enterotoksin B (SEB):

SEB salınımını düzenleyen entB geninin kodlama bölümü yaklaşık 900 nükleotit içerir. SEB prekürsör proteinleri 267 aminoasitten (31.400 Da) oluşur ve 27 aminoasitlik N-terminal sinyal peptidini içine alır (34). Gıda zehirlenmelerinde *S. aureus*'un klinik izolatları içinde entB geninin kromozomal yapıda olduğu, fakat diğer bakteri suşlarında genin 750 kb (kilobaz)'lık bir plazmid tarafından taşındığı bildirilmektedir (65).

2.3.8.3. Stafilokokal Enterotoksin C (SEC):

Antijenik olarak SEC'nin SEC1, SEC2 ve SEC3 olmak üzere üç farklı alt tipi bulunmaktadır (22,34,66). Bütün SEC'ler 801 baz çifti ve 27 rezidüel bir sinyal peptid içermektedir. SEC1 ve SEC2'nin sinyal peptidleri benzerdir. entC1 nükleotid dizilimi entB'yi kodlayan genle %74, SPE A ile %59 gibi oldukça yüksek bir oranda benzerlik gösterir (34). SEC3'ün sinyal peptidi diğer SEC'ler ile %77.7'lik bir benzerlik gösterir. SEC3 ve SEC2'nin olgun formu arasında yalnızca 4 aminoasitlik bir fark (%98 benzerlik) vardır. Diğer yandan SEC1'in SEC2 ile arasında 7 (%97.4 benzerlik), SEC3 ile arasında da 9 aminoasitlik (%97.9 benzerlik) bir fark olduğu bildirilmiştir (34).

2.3.8.4. Stafilokokal Enterotoksin D (SED):

SED'yi kodlayan gen olup bu gen 27.6 kb penisilinaz plazmid üzerinde yer alır. Bu plazmid pIB485 olarak bilinir. entD geni 30 aminoasitlik sinyal peptid içeren 258 aminoasidi kodlar (34). 228 aminoasit olgun polipeptid yapısı 26.360 Da moleküler ağırlığa sahiptir ve diğer SE'lerin dizilimine yüksek düzeyde benzerlik gösterir. SED süperantijeni MHC sınıf II molekülleri ile yüksek düzeyde afinite göstermek için Zn⁺² 'ye bağlanır ve bunun sonucunda SED Zn⁺² ile birlikte kristalize olur (67).

2.4.8.5. Stafilokokal Enterotoksin E (SEE):

entE geni 771 baz çifti içerir ve 26.000 Da moleküler ağırlığı ile olgun ekstraselüler bir form oluşturur (34). DNA dizilimleri SEE, SED ve SEA'nın yakın ilişkili olduğunu göstermektedir (64). SEE, SEA ile birlikte %84 gibi yüksek bir oranda dizilim benzerliğini paylaşır (34).

2.3.8.6. Stafilokokal Enterotoksin G (SEG):

Stafilokokal Enterotoksin G (*entG*) 777 nükleotid içerir ve 233 aminoasitli toksine dönüşmek üzere bölünen 258 aminoasitli prekürsör proteini kodlar (64, 68). SEG SPEA, SEB, SEC ve SSA'ya (streptokokal süperantijen A) en çok benzeyen toksindir (34).

2.3.8.7. Stafilokokal Enterotoksin H (SEH):

Stafilokokal Enterotoksin H, 27,300 Da moleküler ağırlığında bir enterotoksindir. SEH grup I ile %36-38 oranında benzerlik gösterir (59). SEH, diğer SE'ler ile benzer yapıya sahiptir, fakat biyolojik özellikleri daha az karakterize edilmiştir. SEH, SEA'dan daha az potansiyele sahip olmasına rağmen insan T hücreleri içerisinde güçlü mitojenik aktivite gösterir ve insan MHC sınıf II molekülüne bağlanma afinitesi yüksektir (34).

2.3.8.8. Stafilokokal Enterotoksin I (SEI):

Stafilokokal Enterotoksin I (*entI*) geni 729 nükleotid içerir ve 242 prekürsör proteini kodlayan aminoasit ile sonlanır. 24,928 Da moleküler ağırlığında olgun proteinlere karşılık 218 aminoasitten oluşan toksin formuna dönüşür. SEI, grup I'e grup II'den daha çok benzerlik gösterir, fakat diğer SE'lere oranla bu benzerlik daha azdır. SEI %26-28 aminoasit oranıyla en fazla SEA, SEE ve SED'ye benzer (34).

2.3.8.9. Stafilokokal Enterotoksin J (SEJ)

Stafilokokal Enterotoksin J (*entJ*) geni bir plazmid tarafından kodlanmaktadır. Enterotoksin D ve J'nin açık okuma bölümleri zıt yönlerde yer almakta ve birbirinden her bir kolu 21 nükleotid uzunluğunda olan dönüşüm tekrarı içeren 895 nükleotid intergenik bölgeyle ayrılır. 269 aminoasitli SEJ proteini SEA, SEE ve SED'ye %64-66 oranlarında dizilim benzerliği gösterir. PCR uygulamaları, *entJ* determinantının bütün SED'leri kodlayan plazmidlerde bulunabileceğini düşündürmektedir (7,18,34).

2.3.9. *S. aureus* ve Stafilokokal Enterotoksinleri Saptama Yöntemleri

Gıdalarda, *S. aureus* sayımında kullanılan standart yöntem Baird-Parker Agar besiyeri kullanılmasıdır. *S. aureus* analizi için kullanılan çok sayıda selektif besiyeri geliştirilmiştir. Bu bakterinin yüksek tuz konsantrasyonuna dayanıklı olması, lityum klorür ve tellurite direnç göstermesi refakatçi florayı baskılamak için kullanılırken, telluriti telluriyuma indirgeyerek siyahlaşma yapması sıvı ve katı besiyerlerinde ayırt edici özellik sağlamaktadır (34, 62, 64, 66).

Gıda zehirlenmesine neden olan *Staphylococcus aureus*'un izolasyon toksininin belirlenmesi için güvenilir, hızlı, basit ve hassas analitik bir metot kullanmak gerekmektedir. TRANSIA, RIDASCREEN, RPLA, TECRA, VIDAS gibi çeşitli enterotoksin test kitleri kullanılmaktadır. Ancak bu ticari test kitleri 0.5 ng/g'dan daha düşük konsantrasyonlardaki enterotoksinlerin değerlerinin belirlenmesi için yeterince hassas değildir. Bu nedenle enterotoksin konsantrasyonunu belirlemede örnek materyalin konsantrasyonu da önemlidir (11,34,66). Son dönemlerde, enterotoksijenik *Staphylococcus aureus* identifikasyonu için PCR-ELISA gibi gelişmiş ve hızlı tekniklerden yararlanılmaktadır. Besinlerden *Staphylococcus aureus* enterotoksinlerinin saptamada birçok ELISA metodu bulunmaktadır. fakat bu metotla da sonuç almak 1.5-7 saat arasında sürebilir ve genellikle mikropleytlerin antikor ile kaplanması 1 gün sürmektedir. Bu metotlar farklı toksinlere karşı değişik sensivite ve spesifite göstermektedir (12,18,69).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. Materyal

Çalışmada, Kayseri piyasasından sağlanan 100 adet tavuk karkası materyal olarak kullanıldı. Kayseri ilindeki faaliyet gösteren 5 farklı satış merkezlerinden 2 haftalık periyodik aralıklarla Ağustos 2012 – Ekim 2012 ayları arasında alınan toplam 100 adet tavuk karkas örneği materyal olarak kullanıldı (Tablo 3.1). Numuneler, steril şartlarda alındıktan sonra, soğuk zincirde laboratuara getirildi ve bir saat içerisinde incelemeye alındı.

Tablo 3.1. İşletmelerden Tavuk karkası Numunlerinin Toplanma Aralıkları

Numunenin Alındığı İşletme	Numunenin alındığı haftalara göre dağılımı			
	1. hafta	3. hafta	5. hafta	7. hafta
A	5	5	5	5
B	5	5	5	5
C	5	5	5	5
D	5	5	5	5
E	5	5	5	5
Toplam	25	25	25	25

3.1.2. *S. aureus* İzolasyonunda kullanılan Besiyerleri

3.1.2.1. Baird Parker Medium (BPM) (Oxoid CM275)

Tryptone	10.0 gr
Lab-Lemco Powder	5.0 gr
Yeast Extract	1.0 gr
Sodium pyruvate	10.0 gr
Glisin	12.0 gr
Lithium chloride	5.0 gr
Agar	20.0 gr
pH 6,8 ±0,2	

BPM'den 63 gr tartılarak 1000 ml distile su içerisinde karıştırıldı. Elde edilen karışım 121°C'de 15 dk otoklavlanarak steril edildi. Sterilizasyon işleminden sonra 50°C'ye kadar soğutuldu. Karışıma 50 ml Egg Yolk -tellurite emülsiyon ilave edilerek hazırlandı.

3.1.2.2. Ringer Tablet (Merck 1.15525.0001)

500 ml distile suya 1 tablet ilave edilerek karıştırıldı. Karışım 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi. Daha sonra 50°C'ye kadar soğutuldu ve Numunelerin sulandırılması ve dilüsyonlarının hazırlanması için kullanıldı.

3.1.3. Supplement

3.1.3.1. Egg Yolk –Tellurite Emulsion % 20 (Merck 1.03785.0001)

Steril Egg Yolk (Yumurta Sarısı)	200 ml
NaCl	4.25 gr
Yeast Extract	1.0 gr
Potassium tellurite	2.1 gr

1 litre steril ve 50 °C'ye kadar soğutulan BPM besiyerine 50 ml Egg Yolk -tellurite emülsiyon ilave edilerek örneklerin bakteriyolojik analizinde kullanılacak besiyeri hazırlandı.

3.1.4. *S. aureus*'un Fenotipik Testlerinde Kullanılan Ayıraçlar

3.1.4.1. Hidrojen Peroksit (H₂ O₂) (Merck 1.08597.1000)

Staphylococcus aureus'un *Streptococcus* spp.'lerden ayrımında kullanıldı.

3.1.4.2. Bactident[®] Coagulase (Merck 1.13306.0001)

Staphylococcus aureus identifikasyonu aşamasında kullanıldı.

3.1.5. *S. aureus* Enterotoksinin Belirlemede kullanılan Kit

3.1.5.1. Ridascreen[®] SET A,B,C,D,E (r-biopharm, Germany, Art.no:R1101)

1 x Mikrotiter plate	8 ayrılabilir kuyulu 12 strip
1 x Pozitif kontrol	1,25 ml, SET A,B,C,D,E içermektedir; c=2 ng/ml
1xKonjugat	11 ml, peroksidaz konjugatlı anti-SET antikorları
1xSubstrat	7ml, üre peroksidaz içerir
1xKromojen	7ml, tetrametil benzidin
1xStop reaktifi	14ml, 1N sülfirik asit içerir
1x WashBuffer	pH 7.2, 100 ml

Tavuk karkas örneklerindeki *Staphylococcus aureus* enterotoksininin varlığının araştırılması ELISA tekniği ile SET A,B,C,D,E test kiti (Ridascreen r-biopharm, Germany) kullanılarak gerçekleştirildi. Analiz prosedürü üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerçekleştirildi (70).

3.1.5.2. Bactident Coagulase (Merck 1.13306)

EDTA ilave edilmiş liyofilize tavşan plazmasıdır. *S. aureus* tarafından oluşturulan koagülazın belirlenmesi için kullanıldı. 1 pakette 6 adet liyofilize şişe vardır. Her şişe 3 mL steril damıtık su ile sulandırılıp bundan 0.3 mL'si 1 örnek analizi için kullanıldı.

3.1.6. Standart Suş

Çalışmada incelenen tavuk eti örneklerinde *S. aureus*'in izolasyonunda; Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Laboratuvarı kültür koleksiyonundan sağlanan *S. aureus* ATCC 29213 kontrol suş olarak kullanıldı.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Çiğ Tavuk Örneklerinden *Staphylococcus aureus* İzolasyonu

Çiğ tavuk karkas örneklerinde *Staphylococcus aureus*'un varlığını tespit etmek amacı ile Baird Parker Medium'a (Oxoid CM275) dökme plak yöntemi ile ekimler yapılarak sayımları yapıldı (28). Bu amaçla, steril plastik poşet içerisine tavuk karkas örneklerinin her birinden 25'er gram alınarak üzerine 225 mL Ringer solüsyonu ilave edildi ve numune karıştırıcıda (Stomacher-Bagmixer, Interscience) yaklaşık 2 dakika karıştırılarak homojenize edildi. Bu şekilde 1:10'luk dilüsyonu hazırlanan örneğin, dilüsyon serisi desimal olarak 10^{-3} 'e kadar hazırlandı. Hazırlanan dilüsyonlardan 1'er mL alındı ve steril petri kaplarına aktarıldı. Numune aktarılan petri kabının üzerine 45 - 50 ° C'ye kadar soğutulmuş Egg-Yolk Tellurit Emülsiyonu (Merck 1.03785.0001) içeren BPM (Oxoid CM275) besiyerinden yaklaşık 15-20 mL döküldü. Besiyeri ile örnek, karıştırıldı ve katılaştıktan sonra 37° C'de 2 -3 gün inkübasyona bırakıldı (28).

İnkübasyon süresi sonunda, BPM besiyerinde üreyen parlak siyah ve etrafı hale ile çevrili olan koloniler *Staphylococcus aureus* olarak değerlendirildi ve şüpheli kolonilere katalaz ve koagulaz testleri uygulandı.

3.2.2. Biyokimyasal Testler

3.2.2.1. Katalaz Testi

Baird Parker agar'da izole edilen şüpheli kolonilerin üzerine %30'luk taze hazırlanmış hidrojen peroksit solüsyonundan (H_2O_2) bir damla damlatıldı. Hidrojen peroksit solüsyonunun katılmasından sonra kabarcıkların görülmesi pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi.

3.2.2.2. Koagulaz Testi

Koagulaz özelliğini belirlemek için Bactident Coagulase (Merck 1.13306) kullanıldı. Bu amaçla, BPM'da üreyen *S. aureus* şüpheli koloniler Brain Heart Infusion Broth (BHI, Merck

1.10493) besi yerine inoküle edildi ve 37° C’de 24 saat inkübe edildi. İn kübasyon süresi sonunda, aseptik olarak BHI (Merck 1.10493) broth’dan alınan 0.1 mL’lik kültüre 0,3 mL tavşan plazması Bactident Coagulase (Merck 1.13306) ilave edilerek 37°C’de 4 saat inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda tüpün tabanında belirgin pıhtı oluşumu gözlenmesi pozitif olarak değerlendirildi.

3.2.3. *Staphylococcus aureus* Enterotoksinlerinin Belirlenmesi

Toplanan örneklerde, *Staphylococcus aureus* enterotoksinlerinin (SET A,B,C,D,E) varlığı Enzim- Linked Immunosorbent Assay (ELISA) metodu ile incelendi.

3.2.3.1. ELISA Prosedürü

***Staphylococcus aureus* kültüründen Ekstraksiyon**

Staphylococcus aureus enterotoksinlerinden A, B, C, D ve E (SETA,B,C,D,E) varlığını ELISA tekniği ile belirlemek amacı ile BPM’da üreyen biyokimyasal testler doğrulanan *S. aureus* şüpheli koloniler BHI (Merck 1.10493) broth’a inoküle edilip ve 37° C’de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresinde BHI’da üreyen kültürden 2 mL alınarak 3500 g’de (g:gravity) 10° C’de, 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminden üstteki süpetnatant steril olarak filtre edildi. Elde edilen steril filtrattan 100 µL alınarak ELISA testinde kullanıldı (70).

Yıkama Solüsyonun Hazırlanması

ELISA testinde kullanılan kit (r-biopharm, Germany, Art.no:R1101) içindeki yıkama solusyonu distile su ile 1:10 oranında dilue edildilerek ELISA testinin yıkama aşamasında kullanıldı..

Test Prosedürü

Pleyte üzerinde belirtilen A’dan G’ye kadar olan kuyucuklara 100’er µL *S. aureus* içeren kültürlerden edilen filtrattan konuldu, H kuyucuğuna ise 100 µL pozitif kontrol ilave edildi. Yavaşça karıştırıldı ve 35-37 ° C’de 1 saat inkübe edildi. Mikrotiter kuyucuklar inkübasyon sonunda EL_x 50 ELISA otomatik strip yıkayıcıda 6 kez yıkatıldı. Yıkama işleminden sonra, her bir kuyucuğa 100’er µL konjugat 1 ilave edilerek yavaşça karıştırıldı ve 35-37 ° C’de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyondan EL_x 50 ELISA otomatik strip yıkayıcıda 3 kez yıkandı.

Kuyucuklar içerisindeki sıvı tamamen dışarı atıldıktan sonra yıkama işlemi 3 kez daha tekrarlandı. Her bir kuyucuğa 100'er µL konjugat 2 ilave edilerek 35-37 ° C'de 30 dakika inkübe edildikten sonra otomatik yıkayıcıda üç kez iki tekrarlı olmak üzere 6 defa yıkama işlemi yapıldı. Bu işlemden sonra her bir kuyucuğa 100 µL substrat/kromojen ilave edildi ve dikkatli ve nazik bir şekilde karıştırılarak 35-37 ° C'de 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra her bir kuyucuğa 100 µL stop solüsyonu ilave edilerek iyice karıştırıldıktan sonra ELISA otomatik okuyucuda (Thermo Scientific, Multiskan Spectrum, A.B.D.", "Thermo Wellwash 4MK2, A.B.D.") 450 nm dalga boyunda okutuldu. ELISA testi sonuçlarının değerlendirilmesinde Ridascreen (r-Biopharm) tarafından üretilen Rida® Soft Win programı kullanıldı (70).

Cut-Off Değerinin Belirlenmesi

Her bir örnek için F ve G kuyucuklarında bulunan negatif kontrollerin Optimal Dansite (OD) değerlerinin aritmetik ortalamasına 0.15 ekleyerek cut-off değeri belirlendi.

Sonuçların Değerlendirilmesi

Sonuçların değerlendirilmesinde, pozitif kontrol değerinin 1.0'den büyük yada eşit olmasına, negatif kontrol değerininin 0.2 'den küçük yada eşit olmasına dikkat edildi. Bu değerlere uygun çıkmayan denemeler yanlış olarak değerlendirilerek işlem tekrarlandı.

Negatif ve Pozitif örneklerde optimum değerler elde edildiği testlerde örneklerin 450 nm'deki absorbands değeri Cut-off değerinin altında ise menfi, eşit veya yüksek ise müsbet olarak değerlendirildi (70).

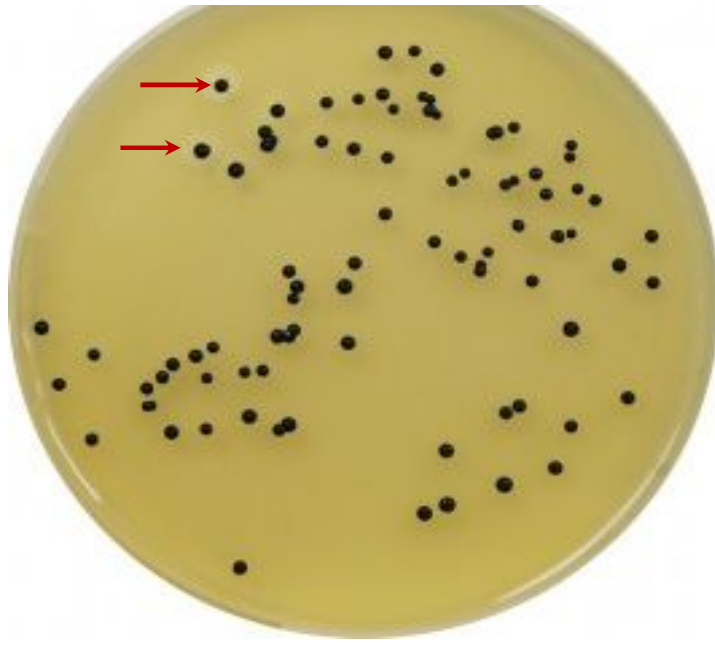
4. BULGULAR

Bu çalışmada, Kayseri ilindeki satış merkezlerinden iki haftalık periyodik aralıklarla alınan toplam 100 adet tavuk karkas örneği *S.aureus* sayıları ve stafilokokal enterotoksin (SEA, SAB, SEC, SED, SEE) varlığı bakımından incelendi.

Çalışmada incelenen 100 tavuk karkasının 30'unun (% 30) *S. aureus* ile kontamine olduğu ve kontaminasyon düzeyinin 2×10^1 kob/g ile 1×10^8 kob/g arasında olduğu belirlendi (Resim 4.1). Araştırmada, *S. aureus* ile kontamine 30 adet tavuk karkas örneğinden 3'ünün (%10) Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünlerindeki Mikrobiyolojik Limitler Tebliği'nin üzerinde olduğu tespit edildi. Araştırmada incelenen tavuk karkaslarındaki *S. aureus* ile kontaminasyon oranları tablo 4.1'de belirtilmiştir.

Tablo 4.1. İncelenen Tavuk karkası örneklerinde izole edilen *S. aureus* sayısı Dağılımı

İncelenen Tavuk Karkas numunelerinde (n=100) <i>S. aureus</i> Varlığı		<i>S.aureus</i> (kob/gr) /(%)			
<10	≥10	$10-10^2$	10^3-10^4	10^5-10^6	10^7-10^8
70 (%70)	30 (%30)	19 /(% 63,3)	8/(%26,7)	2/ (%6,7)	1/(% 3,3)



Resim 4.1. Baird Paker Medium'a (Oxoid CM275) dökme plak yöntemi ile ekim yapılan ve besiyerinde üreyen *S.aureus* kolonilerinin görüntüsü (→ :*S.aureus* kolonileri)

Çalışmada *S. aureus* belirlenen 30 adet tavuk karkas örneğine ait bakteri kolonilerden elde edilen ekstratlara uygulanan ELISA testi sonucunda kolonilerin hiçbirinde dolayısıyla bu kolonilerin elde edildiği tavuk karkaslarında Stafilokokal entero toksinlerinden hiçbirisi belirlenemedi. Araştırmada incelenen karkas örneklerinden elde edilen izolatlardaki stafilokokal enterotoksin miktarı tablo 4.2'de gösterildi.

Tablo 4.2. ELISA Analizi Sonucunda Karkas Örneklerinde *Staphylococcal* Enterotoksin için Belirlenen Absorbans Değerleri

Numune	Cut-off değeri	SEA (ppb)	SEB (ppb)	SEC (ppb)	SED (ppb)	SEE (ppb)
TK1	0.30	0.18	0.08	0.05	0.18	0.06
TK2	0.29	0.12	0.06	0.05	0.10	0.02
TK3	0.23	0.13	0.09	0.05	0.05	0.05
TK4	0.29	0,10	0.06	0.06	0.07	0.01
TK5	0.28	0,05	0.02	0.05	0.03	0.07
TK6	0.26	0.12	0.02	0.05	0.02	0.06
TK8	0.26	0.18	0.08	0.0 5	0.08	0.03
TK9	0.25	0.10	0.07	0.06	0.07	0.05
TK10	0.23	0.05	0.12	0.05	0.12	0.05
TK11	0.21	0.07	0.07	0.06	0.07	0.07
TK12	0.22	0.03	0.06	0.05	0.06	0.02
TK13	0.24	0.02	0.10	0.05	0.10	0.00
TK14	0.25	0.05	0.06	0.05	0.06	0.00

Tablo 4.2. İncelenen Karkas Örneklerinde *Staphylococcal* Enterotoksin Varlığı (Devam)

Numune	Cut-off değeri	SEA (ppb)	SEB (ppb)	SEC (ppb)	SED (ppb)	SEE (ppb)
TK15	0.29	0.08	0.04	0.05	0.06	0.08
TK16	0.26	0.05	0.02	0.06	0.05	0.01
TK17	0.21	0.06	0.04	0.06	0.0 5	0.07
TK18	0.21	0.06	0.05	0.05	0.05	0.04
TK19	0.20	0.09	0.06	0.03	0.06	0.05
TK20	0.21	0.06	0.08	0.02	0.05	0.05
TK21	0.24	0.02	0.05	0.05	0.05	0.06
TK22	0.23	0.02	0.05	0.05	0.06	0.05
TK23	0.22	0.08	0.05	0.06	0.05	0.04
TK24	0.21	0.07	0.05	0.08	0.05	0.06
TK25	0.21	0.12	0.05	0.06	0.05	0.05
TK26	0.27	0.07	0.06	0.06	0.05	0.04
TK28	0.22	0.06	0.05	0.05	0.08	0.03
TK29	0.21	0.11	0.06	0.05	0.05	0.06
TK30	0.23	0.06	0.08	0.06	0.05	0.02

TK: Tavuk karkas

Örneğin absorbans değeri < Cut-off değeri, *S. aureus* enterotoksin negatif

Örneğin absorbans değeri ≥ Cut-off değeri, *S. aureus* enterotoksin pozitif

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Sağlıklı bir yaşamın sürdürülebilmesi için, esansiyel aminoasitleri içeren ve biyolojik değeri yüksek proteinlerin günlük beslenme düzeni içinde mutlaka tüketilmesi gerekmektedir. Kanatlı eti insan beslenmesi için gerekli olduğu bilinen tüm elzem aminoasitleri yeterli miktarda ve uygun oranlarda bulundurmaktadır. Bu nedenle protein kalitesi yüksektir. Ayrıca kanatlı hayvanların vücut yağı, kırmızı etlerden farklı olarak, et fibrilleri arasında dağılmayıp, çoğunlukla deri altında birikmektedir. Dolayısıyla kanatlı eti sağlıklı bir protein kaynağı olarak beslenmenin önemli bir parçasını oluşturmaktadır (71). Kanatlı etinin bir başka özelliği ise maliyetinin düşük olmasıdır. Özellikle son 30 yılda hayvansal kaynaklı protein elde edilmesindeki güçlüğü giderebilmek için kanatlı eti üretimi büyük önem kazanmıştır (72). Kanatlı eti denince ilk akla gelen et etlik piliç eti olup, bunun yanı sıra hindi eti, damızlık (anaç) ve yumurtacı tavuk eti ile kaz, ördek, bıldırcın, sülün ve diğer kanatlı hayvan etleri de ticari öneme haiz kanatlı etleri içerisinde dahil edilebilir (3, 73).

Kanatlı eti ve ürünleri, bakteriyel gıda zehirlenmeleri arasında ilk sıralarda yer alan stafilokoklardan kaynaklanan gıda zehirlenmelerinde önemli kaynaklardır. Kanatlı hayvanların deri ve bağırsaklarında bulunan farklı tip ve sayıda mikroorganizmalar, kesim sırasında kanatlı etini kontamine edebilmektedirler (74). Özellikle deride bulunan *S. aureus*, kontamine olmuş üründe çoğalıp toksin üretebilmekte, ısıya dayanıklı olan toksini ihtiva eden gıdanın tüketilmesi sonucunda da insanlarda intoksikasyon şekillenmektedir (6,7). Panisello ve ark. (75) da, kanatlı etinden kaynaklanan gıda zehirlenme vakalarının % 67.3'ünden *Salmonella* spp., % 5.1'inden *S. aureus*, % 13.3'ünden *C. perfringens* ve % 6.1'inden ise bilinmeyen etkenlerin sorumlu olduğunu rapor etmişlerdir.

Bu araştırmada incelenen 100 tavuk karkasının 30'unun (%30) *S. aureus* ile kontamine olduğu ve kontaminasyon düzeyinin 2×10^1 kob/gile 1×10^8 kob/g arasında olduğu belirlendi. Türk Gıda Kodeksi Çiğ Kanatlı Eti ve Hazırlanmış Kanatlı Eti Karışımları Tebliği (Tebliğ No: 2009/6) (45) Ek 1'e göre analiz edilen örnekteki *S. aureus* sayısının en fazla 1×10^4 kob/ml;g olması

gerekmektedir. Buna göre, etkenin belirlendiği 30 örneğin 3'ündeki (%10) *S. aureus* sayısı Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen limitlere uygun olmadığı belirlendi. *S. aureus* ile kontamine tavuk karkaslarının ait bakteri kolonilerden hiçbirinde stafilokokal enterotoksin saptanamamıştır. Stafilokokal enterotoksin gıdalarda sentezlenebilmesi için 10^6 kob/ml seviyesinde *S. aureus* bulunması gerekmektedir. Bu durumda, çalışmada incelenen tavuk karkası örneklerinin çoğunda *S. aureus* üremesinin enterotoksin oluşturacak seviyeye ulaşmadığı, kontaminasyon seviyesi 1×10^8 kob/g olarak belirlenen örnekte de bakteri popülasyonunun tespit edilebilecek kadar enterotoksin oluşturamadığı düşünülmektedir. Çalışmamızda toksin tespit edilememesinin nedenleri arasında tavuk karkaslarının soğuk zincirle taşınması ortam sıcaklığının düşük olması gösterilebilir. Ayrıca toksin üretimini etkileyen extraselüler faktörlerden pH değeri, atmosferik koşullar ve diğer organizmaların varlığının da toksin oluşumunu etkilediği düşünülmektedir.

Kanatlı etlerinde *S. aureus* ve enterotoksinlerinin varlığı ile ilgili ülkemizde ve dünyada pek çok çalışma yapılmıştır. Koçyiğit (76) İzmir'de yaptığı çalışmada, analiz ettiği 42 adet tavuk ve hindinin hepsinden (%100) *S. aureus* izole ettiğini bildirmiş ve örneklerin 41'inin TKG standartlarına uygun olmadığını; ayrıca 4'ündeki *S. aureus* sayısının 5.0×10^5 kob/g-ml sınırının üzerinde olduğunu belirtmiştir. Koçyiğit (76)'in sonuçları bu çalışma verileri ile karşılaştırıldığında incelenen örneklerin *S. aureus* yüksek oranda kontamine olduğu görülmektedir.

Tavuk karkaslarının elde edilmesi aşamalarından; kesim, haşlama, tüy yolma, yıkama, parçalama ve paketleme sırasında kullanılan hammadde, koruyucular, katkıları, uygulanan sıcaklık ve saklama koşulları, servis ve tüketim sırasında kullanılan kapların temizliği, çalışan personelin hijyen ve sanitasyon kurallarına uygun davranıp davranmadığı gibi pek çok parametre tavuk karkasının mikrobiyolojik kalitesini etkilemektedir.

Ülkemizde yapılan başka bir çalışmada ise Bilge ve Karaboz (22) tavuk pirzolası, tavuk göğsü ve tavuk budunda stafilokok sayısını sırası ile 5.0×10^6 , 2.9×10^3 ve 7.4×10^3 kob/g, *S. aureus* sayısını ise 1.8×10^6 , 1.8×10^3 ve 4.4×10^3 kob/g düzeylerinde tespit ettiklerini, stafilokokal enterotoksinleri ise tespit edemediklerini rapor etmişlerdir. Bu çalışma, örneklerdeki *S. aureus* sayısal dağılımı ve enterotoksin varlığı yönünden Bilge ve Karaboz (22)'un araştırmasına paralellik göstermektedir.

Efe ve Gümüşsoy (77) analiz edilen tavuk but, deri ve göğüs numunelerinde sırasıyla; % 96, % 98 ve % 96'sında, *S. aureus*; % 66, % 100 ve % 74'ünde, koagülaz (+) *S. aureus* izole

ettiklerini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada *S. aureus* ve koagülaz pozitif *S. aureus* sayıları kanatlı budunda 8.1×10^3 ve 3.7×10^2 kob/g, göğüs etinde 8.1×10^2 ve 6.1×10^3 kob/g, deride ise 8.6×10^3 ve 7.3×10^2 kob/g düzeyinde tespit edilmiştir. Bu çalışma, Efe ve Gümüşsoy (77) tarafından yapılan çalışma ile kıyaslandığında; numunelerdeki *S. aureus* ile kontaminasyon oranları oldukça az iken, numunelerdeki sayısal dağılımı bakımından benzerlik göstermektedir.

Sağun ve ark. (78), piliç but ve piliç göğüs etlerinden ortalama 1.3×10^4 kob/g ve 2.9×10^4 kob/g düzeyinde *S. aureus* izole etmişlerdir. Kundakçı ve ark. (79), 0°C’de depolamada 16 günde, but ve göğüs kısmından sırasıyla ortalama 1.2×10^3 kob/cm² ve 9.2×10^2 kob/cm² düzeyinde *S. aureus* tespit etmişlerdir. Anar ve ark. (80), Bursa’da tavuk karkaslarında *S. aureus* sayısını en az 1.0×10^3 kob/g, en çok 3.0×10^5 kob/g ve ortalama 4.5×10^4 kob/g bulmuşlardır.

Erol ve Usca (35), Ankara’da yaptıkları çalışmada 50 piliç karkas örneğinin 33’ünde (% 66) ortalama 1.3×10^3 kob/g düzeyinde koagülaz pozitif stafilocok izole etmişlerdir. Araştırmacılar 33 örneğin 7’sinde (% 21.2) enterotoksin saptamışlardır. Kılıç ve Küplülü (11), Ankara’da yaptığı çalışmada 52 hindi eti örneğinin 5’inde ortalama 9.3×10^2 kob/g düzeyinde koagülaz pozitif stafilocoka, 52 örneğin 3’ünde de enterotoksine rastlamıştır.

Koluman ve ark. (12) inceledikleri tavuk eti örneklerinden %52’sinin koagülaz pozitif stafilocoklarla kontamine olduğunu ve 50 tavuk eti örneğinin 14’ünde (%28) stafilocokal enterotoksin bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışma sonucunda elde edilen verilere kıyasla Koluman ve ark. (12)’nin inceledikleri kanatlı ürünlerinde *S. aureus* kontaminasyon oranının daha yüksek olduğu tespit edildi.

Kanatlı etlerinde *S. aureus* ve enterotoksinlerinin varlığı üzerine dünyada yapılmış çalışmalardan bazılarında: Bu çalışmaya benzer şekilde, Kozačinski ve ark (81), tavuk fileto örneklerinin % 46.15’inde, derili göğüs örneklerinin % 28.75’inde *S. aureus* tespit etmişler, *S. aureus* sayısının da filetolarda $2.74 \log_{10}$ cfu/g, derili tavuk göğsünde ise $2.98 \log_{10}$ cfu/g düzeylerinde olduğunu belirtmişlerdir.

Japonya’da yapılan bir çalışmada 444 çiğ tavuk eti örneğinin 292’sinden (%65.8) *S. aureus* izole edildiği, elde edilen izolatların birinin enterotoksin C ve TSST-1 ürettiği bildirilmiştir (82). Pipová ve ark. (83) kanatlı eti ve derisinde stafilocok sayısını 10^3 - 10^4 logcfu/g seviyeleri arasında bulmuşlardır. Hang’ombe ve ark. (84) inceledikleri örneklerin % 2.5’inde stafilocok tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada Alvarez-Astorga ve ark. (7) ise tavuk but

ve kanat eti örneklerinde *S. aureus* sayısını sırası ile 2.47 ve 3.48 $\log_{10}$ cfu/g olarak bildirmişlerdir.

Marthenge ve ark. (61) Kenya’da yaptıkları bir çalışmada inceledikleri 50 tavuk karkasından 22 *S. aureus* izolatu elde ettiklerini, bu karkasların inceledikleri gıdalar içinde en yüksek oranda (%44) enterotoksijenik *S. aureus* ile kontaminasyonuna sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Buna karşın Bystron ve ark. (85) Polonya’da yapmış oldukları araştırmada 65 tavuk parçası örneğinin hiçbirinden koagulaz pozitif stafilocok izole edemediklerini belirtmişlerdir. Mısır’da yapılan bir çalışmada ise El-Jakee ve ark. (62) analiz ettikleri 50 tavuk örneğinden 23’ünün stafilocok türleri ile kontamine ve 3’ünün *S. aureus* olduğunu belirlemişler ve bu 3 izolattan birinin enterotoksijenik olduğunu ve *seb+sed* genlerini taşıdığını bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, Kayseri ilinde marketlerden toplanan tavuk karkaslarında % 10’unun Türk gıda kodeksi limitlerinin üzerinde olduğu bu açıda bu örneklerin güvenli bir gıda maddesi olarak düşünülmesinin, sağlıklı beslenme yolunda ciddi bir handikap olarak karşımıza çıktığını belirtmeliyiz. Stafilocoklar, insanların üst solunum yolları ve derileri üzerinde doğal florayı oluşturan mikroorganizmadır. Bu nedenle gıdaların stafilocoklarla kontaminasyonunda en önemli vektör gıda üretiminde çalışan personel olarak tanımlanmaktadır. Yüksek kalitede çiğ materyal kullanılması ve üretim prosesinin titizlikle uygulanması kanatlı ürünlerinin mikrobiyolojik açıdan güvenilirliği için tek başına yeterli olmamaktadır. Kanatlı hayvanların kesimi, parçalanması, paketlenmesi ve pazarlanması sırasında havadan, alet ve gereçlerden, personelden ve diğer kaynaklardan mikrobiyal bulaşmalar mümkün olabilmektedir. Bu nedenle, üreticinin, perakendecinin, tüketicinin; hayvan sağlığı, hayvan refahı, hijyen ve sanitasyon, gıda güvenliği ve tehlikeleri konusunda, sorumluluk sahibi kamu kurum ve kuruluşları, medya ve sivil toplum örgütleri tarafından artan bir şekilde bilgilendirilmesinin önemli bir ödev ve sorumluluk olarak kabul edilmesi gerekmektedir. Her ne kadar toksin oluşturma potansiyeli gösteren örneklerde yapılan analizlerde toksin çıkmamış olmasına rağmen, sayım sonuçlarının bir kısmının *S. aureus* yönünden halk sağlığı açısından uygun olmadığını da belirtmek gerekir. Bu açıdan, kesimhanelerdeki kesim ve personel hijyeninin sağlanması, üreticilerin, pazarlama basamağında yer alan kişilerin ve tüketicilerin bilincinin artırılmasına, soğuk zincir uygulamasının çeşitli basamaklarında kontrollerin sürekliliğinin sağlanmasına ve hijyenik koşulların korunmasında daha duyarlı olunmasına gereksinim vardır.

6. KAYNAKLAR

1. Tayar M, Korkmaz NH. Beslenme ve sağlıklı yaşam. Akmat, Bursa, 2004: 2.
2. Baysal A. Beslenme 9. baskı, Hatipoğlu Yayınevi, Ankara, 2002: 9-18, 58, 257.
3. Altinel A. Etlik piliç üretiminin temel ilkeleri ve verimliliğin değerlendirilmesi. VI. Hayvancılık ve Beslenme Sempozyumu, Tavuk Yetiştiriciliği ve Hastalıkları, Bildiriler Kitabı, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, Konya, 1995: 91-98.
4. Ergezer H. Değişik yöntemlerle marine edilmiş kanatlı etlerinin kimyasal, mikrobiyolojik, tekstürel ve duyuşal özellikleri. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 2005: 2-42.
5. Lee JA, Hataway SC. The challenge designing valid HACCP plans for raw food commodities. Food Control 1998: 111-117.
6. Mead GC. Microbiological quality of poultry meat: a review, Braz J Poult Sci 2004; 6: 135-142.
7. Ünlütürk A, Turantaş F. Gıda mikrobiyolojisi. 3. baskı, Meta Basım, İzmir, 2003: 47-51.
8. Alvarez-Astorga M, Capita R, Alonso-Calleja C, Moreno B, Garcia Fernandez MC. Microbiological quality of retail chicken by-products in Spain. Meat Sci 2002; 62: 45-50.
9. Cookson B, Schmitz FJ, Fluit AC. Introduction to MRSA. In, MRSA: Current Perspective. Eds. Fluit AC, Schmitz FJ. Horizon Scientific Press, 2003: 340.
10. Şardan YÇ. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* infeksiyonlarının epidemiyolojisi ve kontrolü. Hastane İnfek Derg 2000; 4: 205-207.
11. Kılıç S, Küplülü Ö. Hindi etlerinden izole edilen koagulaz pozitif Stafilocokların enterotoksin oluşturma yeteneklerinin EIA (Enzyme Immuno Assay) yöntemiyle belirlenmesi. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2009; 56: 183-186.

12. Koluman A, Ünlü T, Dikici A, Tezel A, Akçelik EN, Burkan ZT. Presence of *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Enterotoxins in Different Foods. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2011; 17: 55-60.
13. Tükel Ç, Dogan HB. *Staphylococcus aureus*. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını Sim Matbaacılık Ltd., Ankara, 2000: 357-366.
14. Aktaş F. Stafilokokal enfeksiyonlar. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ders Notları. 2006.
15. Öztan A. Et Bilimi ve Teknolojisi; 4. baskı. TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Yayınları Kitaplar Serisi, 2003: 495.
16. Carey RB, Baselski V, Gilligan PH, Gray L, Humes R, Krisner K, Lovchik J, Mangal, J, Mangal CN, Shapro DS, Sharp S, Snyder JW, Weissfeld A, Welc D, York MK. Staphylococcal enterotoksin B. Sentinel laboratory guideines for suspected agents of bioterrorism. American Society for Microbiology 2004: 1-10.
17. Madigan MT, Martinko JM, Dunlap PV, Clark DP. Biology of Microorganisms, Twelfth Edition, Pearson Education, Inc., publishing, Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, 2009.
18. Tunail N. *Staphylococcus aureus*. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara, 2000, 3: 522.
19. Erol İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi, Pozitif Matbaacılık, Ankara, 2007: 135, 167, 267.
20. Atıcı, G. *Staphylococcus aureus* 'un Gelişimi Üzerine Sıcaklık, pH, Sodyum Klorür ve Koruyucuların (Asetik Asit, Sorbik Asit ve Tuzları) Birlikte Etkisinin Tepki Yüzey Yöntemi (Response Surface Model) ile Belirlenmesi. Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Mersin, 1999: 52.
21. Reginald W, Bennett RW, Lancette GA. (2001). Bacteriological Analytical Manual Online. Chapter 12 *Staphylococcus aureus*.
<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071429.htm>
Erşim tarihi: Aralık 2012.
22. Bilge F, Karaboz İ. İzmir’de piyasada açıkta satışa sunulan bazı gıdaların *Staphylococcus aureus* ve enterotoksinleri bakımından incelenmesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 2000; 3: 6-11.

23. Valsangiacomo C, Dolina M, Peduzzi R, Jaggi M. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from hospitalized patients and dairy food (fresh cheese): a survey over a decade in southern Switzerland. Clin Microbiol Infect 2000; 6: 393-394.
24. Tomi NS, Kranke B, Graz EA. Psoriasis, atopik dermatit, eritrodermi hastalarında ve sağlıklı kontrol bireylerinde Stafilokokal toksinler. Jaad Türkçe Baskısı, 2005, 2: 254-259.
25. Anderson PHR, Stone DM. Staphylococcal food poisonings associated with spray dried milk. J Hyg 1955; 53: 387-397.
26. Milci S, Yaygın H. Peynirlerden kaynaklanan *Staphylococcus aureus* zehirlenmesi. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 2006: 297-298.
27. İşeri Ö, İrfan E. Hindi etinden kaynaklanan başlıca bakteriyel infeksiyon ve intoksikasyonlar. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2009; 56: 47-54.
28. Normanno G, Firinu A, Virgilio S, Mula G, Dambrosio A, Poggiu A, Decastelli L, Mioni R, Scuota S, Bolzoni G, Giannatale ED, Salinetti AP, Salandra GL, Bartoli M, Zuccon F, Pirino T, Sias S, Parisi A, Quaglia NC, Celano GV, Coagulase-positive *Staphylococci* and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. Int J Food Microbiol, 2005; 98: 73-79.
29. Ming Hung, T. (2011). Staphylococcus Aureus: Horizontal Gene Transfer Scaring Antibiotics. The Triple Helix Online. <http://triplehelixblog.com/2011/10/staphylococcus-aureus-horizontal-gene-transfer-scaring-antibiotics/> Erişim Tarihi: Şubat 2013.
30. Dinges MM, Orwin MP, Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Rev 2000; 13: 16-34.
31. Holecková B, Holoda E, Fotta M, Kalináčova V, Gondol J, Grolmus J. Occurrence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in food. Ann Agric Environ Med 2002; 9: 179-82.
32. Meyrand A, Boutrand-Loei S, Ray-Gueniot S, Mazuy C, Gaspard CE, Jaubert G, Perrin G, Lapeyre C, Vernozy-Rozand C. Growth and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* during the manufacture and ripening of Camembert-type cheeses from raw goats milk. J Appl Microbiol 1998; 85: 537-544.

33. Letertre C, Perelle S, Dilasser F, Fach P. Identification of a new putative enterotoxin SEU encoded by the egc cluster of *Staphylococcus aureus*. J Appl Microbiol 2003; 95: 38-43.
34. Erol İ, İşeri Ö. Stafilokokal Enterotoksinler Ankara Üniv Vet Fak Derg 2004; 51: 239-245.
35. Erol İ, Usca A, Donmuş piliç karkaslarından izole edilen koagulaz pozitif stafilokokların enterotoksin oluşurma yeteneklerinin SET-RPLA testi ile belirlenmesi. Ankara Üniv Vet Fak Derg 1996; 43: 443-448.
36. Ekici L, Telli R, Yetim H. (2008). Gıda kaynaklı enfeksiyon ve İntoksikasyon bakterileri-1, Gıda teknolojileri elektronik Dergisi, http://teknolojikarastirmalar.com/pdf/tr/02_030208_4_telli_tr.pdf Erişim Tarihi:Şubat 2013.
37. Orwin OT, Fitzgerald JR, Leung DYM, Guitemez JA, Bohach GA, Schlievert PM. Characterization of *Staphylococcus aureus* enterotoxin L. Infect Immun 2003; 71: 6088-6094.
38. Rasooly A, Rasooly R. Detection and analysis of Staphylococcal enterotoxin A in food by Western İmmunoblotting. Int J Food Microbiol 1998; 41: 205-212.
39. Kusumaningrum HD, Riboldi G, Hazeleger WC, Beumer RR. Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. Int J Food Microbiol 2003; 85: 227– 236.
40. Walker E, Pritchard C, Forsythe S. Food handlers hygiene knowledge in small food businesses. Food Control 2003; 14: 339–343.
41. Montville R, Chen Y, Schaffner DW. Glove barriers to bacterial cross-contamination between hands to food. J Food Protect 2001; 64: 845–849.
42. Atasever M. Besin işyerlerinde: Hijyen, besinlerin hazırlanması ve muhafazası. Yüzüncüyıl Üniv Vet Fak Derg 2000; 11: 117-122.
43. Gülbandılar A, Beyhan ED, Kısa Hİ. Kütahya İl Sağlık Müdürlüğü bünyesinde çalışanlarda nazal *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığı ve metisilin direncinin araştırılması. Turk Hij Den Biyol Derg 2012; 69: 155-162.
44. Fujikawa H, Morozumi S. Modeling *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin production in milk. Food Microbiol 2006; 23: 260-267.

45. TÜRK GIDA KODEKSİ. Çiğ Kanatlı eti ve Hazırlanmış Kanatlı Eti Karışımları Tebliği (Tebliğ No: 2006/29), Ankara, 2006.
46. Karapınar, M. ve Aktuğ Gönül, Ş. Gıda kaynaklı mikrobiyal hastalıklar: In: A. Ünlütürk, F. Turantaş (Editörler). Gıda Mikrobiyolojisi. 3. Baskı, Metesan Basım Matbaacılık, Bornova-İZMİR. 2003;s.107-162.
47. Rosec JP, Guiraud JP, Dalet J, Richard N. Enterotoxin production by *Staphylococci* isolated from foods in France. *Food Microbiol* 1997; 35: 213-221.
48. Belay N, Rasooly A. *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin A production in an anaerobic environment. *J Food Prot* 2002; 65: 199-204.
49. Omoe K, Ishikawa M, Shimoda Y, Hu D, 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.
50. Halpin-Dohnalek MI, Marth EH. *Staphylococcus aureus*: Production of extracellular compounds and behavior in foods- A review. *J Food Prot* 1989; 52: 267-282.
51. Jay JM. Staphylococcal gastroenteritis. In: Modern Food Microbiology. 5th ed, NewYork, 1996: 429-450.
52. Qi Y, Miller KJ. Effect of low water activity on staphylococcal enterotoxin A and B biosynthesis. *J Food Prot* 2000; 63: 473-478.
53. Sheldrake RF, Hoare RJT, Hutchinson JE. Post-milking iodine teat skin disinfectants. I. Bactericidal efficacy. *J Dairy Res* 1980; 47: 19-26.
54. Mutluer B, Erol İ, Kaymaz Ş, Akgün S Enterotoksijenik *Staphylococcus aureus* suşlarının beyaz peynirde üretim ve olgunlaşma sırasındaki üreme ve enterotoksin oluşturma yetenekleri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 1993; 40: 413-426.
55. Gonzalez-Fandos E, Otero A, Sierra M, Garcia-Lopez ML, Prieto M. Effect of three commercial starters on growth of *Staphylococcus aureus* and enterotoxins (A-D) and thermonuclease production in broth. *Int J Food Microbiol* 1994; 24: 321-327.
56. Tremaine MT, Brockman DK, Betley MJ. Staphylococcal enterotoxin A gene (*sea*) expression is not affected by the accessory gene regulator (*agr*). *Infect Immun* 1993; 61: 356-359.
57. Jablonski LM, Bohach GA. *Staphylococcus aureus*.. In: Food Microbiology Fundamentals and Frontiers. MP Doyle, LR Beuchat, TJ Montville (Eds), ASM Press, Washington DC, 1997: 353-375.

58. Tegmark Wisell, K. Regulation of virulence gene expression in *Staphylococcus aureus*. Thesis. Karolinska University Press, Sweden, 2000,
59. Su YC, Wong AC. Optimal condition for the production of unidentified staphylococcal enterotoxins. J Food Prot 1993; 56: 313-316.
60. Sutherland J, Varnam A. Enterotoxin-producing *Staphylococcus*, *Shigella*, *Yersinia*, *Vibrio*, *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In: CW Blackburn, PJ McClure (Eds), Foodborne Pathogens. CRC press, Washington, DC., 2002: 384-415.
61. Marthenge JM, Ombui JN. Detection of staphylococcal enterotoxins in milk and meat in Nairobi Kenya using Enzymes Linked Immunosorbent Assay. J Trop Microbiol Biotech 2007; 3: 23-28.
62. EI-Jakee J, Marouf SA, Ata NS, Abdel-Rahman EH, Abd El-Moez SI, Samy AA, El-Sayed WE. Rapid Method for Detection of *Staphylococcus aureus* Enterotoxins in Food. Global Veterinaria 2013; 11: 335-341.
63. Krakauer T. Immune response to staphylococcal superantigens. Immunol Res 1999; 20: 163-173.
64. Van Den Bussche RA, Lyon JD, Bohach GA, Molecular evolution of the staphylococcal and streptococcal pyrogenic toxin gene family. Mol Phylogenet Evol 1993; 2: 281- 292.
65. Balaban N, Rasooly A. Staphylococcal enterotoxins. Int J Food Microbiol 2000; 61: 1-10.
66. Küplülü Ö, Sarımeahmetoğlu B, Kaymaz Ş. Pastörize sütlerde ELİSA tekniği ile Stafilokokal Enterotoksin varlığının belirlenmesi. Turk J Vet Anim Sci 2002; 26: 631-637.
67. Sundstrom M, Abrahmsen L, Antonsson P, Mehindate K, Mourad W, Dohlsten M. The crystal structure of staphylococcal enterotoxin type dreveals Zn²⁺ mediated homodimerization. EMBO J 1996; 15: 6832-6840.
68. Abe J, Ito Y, Onimaru M, Kohsaka T, Takeda T Characterization and distribution of a new enterotoxin- related superantigen produced by *Staphylococcus aureus*. Microbiol Immunol 2000; 44: 79-88.
69. Omoe K, Hu DL, Takahashi O, Nakane A, Shinagawa K. Identification and charecterization of a new staphylococcal enterotoxinrelated putative toksin encoded by two kinds of plasmids. Infect Immun 2003; 71: 6088-6094.
70. R-Biopharm: Ridascreen[®] Aflatoksin M1. R-Biopharm GmbH, Darmstadt, Germany.

71. Özer Ö. Farklı antioksidan ilavesinin dondurularak muhafaza edilen mekanik ayrılmış piliç eti köftelerinin bazı kalite özellikleri üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2008: 54.
72. Botsoglou NA, Govoris A, Boysoglou EN, Grigoropoulou SH, Papageorgiou G. Antioxidant activity of dietary oregano essential oil and -tocopheryl acetate supplementation in long-term frozen stored turkey meat, J Agric Food Chem 2003; 51: 2930-2936.
73. Anıl N, Doğruer Y, Gürbüz U. Tavuk etinin beslenmedeki yeri ve önemi, VI. Hayvancılık ve Beslenme Sempozyumu, Tavuk Yetiştiriciliği ve Hastalıkları, Bildiriler Kitabı, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, Konya, 1995: 167- 174.
74. Gonzales-Miret M, Escudero-Gilete M, Heredia HJ. The establishment of critical control points at the washing and air chilling stages in poultry meat production using multivariate statistics. Food Control 2006; 17: 935-941.
75. Panisello PJ, Rooney R, Quantick P, Stanwell-SM R. Application of foodborne disease outbreak data in the development and maintenance of HACCP systems. Int J Food Microbiol 2000; 59: 221–234.
76. Koçyiğit A. İzmir'de çeşitli marketlerde satışa sunulan tavuk ve hindi etlerinde *Staphylococcus aureus* aranması, sayımı ve tanımlanması. Yüksek Lisans Tezi, E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir 2002: 63.
77. Efe M, Gümüşsoy KS. Ankara garnizonunda tüketime sunulan tavuk etlerinin mikrobiyolojik analizi. Sağlık Bil Derg 2005; 14: 151-157.
78. Sağun E, Sancak YC, Ekici K, Durmaz H. Van'da tüketime sunulan piliç but ve göğüs etlerinin hijyenik kalitesi üzerine bir araştırma. YYÜ Vet Fak Derg 1996; 7: 62-66.
79. Kundakçı A, Yücel A, Uylaşer V, Konca R, Can S. Soğuk koşullarda depolanan ve satışa sunulan piliç etlerinin mikroflorası ve kalitesi, II. Uluslararası Gıda Sempozyumu Bildiri Kitabı, ss 191-200, 1-3 Ekim 1991, Bursa.
80. Anar Ş, Çarlı T, Şen A, Eyigör A. Bursa'da tüketime sunulan piliç butlarından *S. aureus* ve *E. coli* Tip 1 izolasyonu üzerine bir çalışma. UÜ Vet Fak Derg 1992; 2: 135-141.
81. Kozačinski L, Hadžiosmanović M, Zdolec N. Microbiological quality of poultry meat on the Croatian market. Veterinarski Arhiv 2006; 76: 305-313.

82. Kitai S, Shimizu A, Kawano J, Sato E, Nakano C, Kitagawa H, Fujio K, Matsumura K, Yasuda R, Inamoto T. Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* and enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in retail raw chicken meat throughout Japan. J Vet Med Sci 2005; 67: 269-74.
83. Pipová M, Turek P, Laciaková M, Plachá I. Changes in microbial parameters during the production of fine poultry salami. Veterinary Medicine- Czech 1997; 42: 81-85.
84. Hang'ombe BM, Sharma NR, Skjerve E, Tuchili LM. Isolation of bacteria during processing of chicken carcasses for the market in Lusaka, Zambia. Veterinarski Arhiv 1999; 69: 191-197.
85. Bystroń J, Molenda J, Bania J, Kosek-Paszkowska K, Czerw M. Occurrence of enterotoxigenic strains of *Staphylococcus aureus* in raw poultry meat. Pol J Vet Sci 2005; 8: 37-40.

ÖZGEÇMİŞ

- 1. Adı Soyadı** : Hüseyin KAYA
2. Doğum Tarihi : 11.02.1979
3. Doğum Yeri : Kayseri
4. Unvanı : Veteriner Hekim
5. Medeni Durumu : Evli
6. İş Tecrübesi : Veteriner Hekim, Başyazıcıoğlu, 2006-
7. Yabancı Dil : İngilizce

1. Öğrenim Durumu:

Derece	Üniversite	Fakülte	Yıl
Lisans	Erciyes	Veteriner	1998-2005
Y. Lisans	Erciyes	Sağlık Bilim. Enst.Veteriner Gıda Hij. Ve Tek.	2009-

Adres : Bahçelievler mh. Bahçelievler cd.Saylak Apt. No:9/11 Talas, KAYSERİ
Tel : 05557303010
E-mail : kayahuseyine@hotmail.com