

2015

YÜKSEK LİSANS TEZİ

N.EKTİK

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



**BALIKESİR İLİNDE SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDEKİ
METİSİLİN DİRENÇLİ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*'UN
PREVALANSI VE ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİĞİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nisanur EKTİK

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Mukadderat GÖKMEN

Ortak Tez Danışmanı

Prof. Dr. Recep ÇIBIK

BALIKESİR-2015

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

**BALIKESİR İLİNDE SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDEKİ
METİSİLİN DİRENÇLİ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*'UN
PREVALANSI VE ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİĞİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nisanur EKTİK

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof. Dr. Recep ÇIBIK
Uludağ Üniversitesi - Başkan

Prof. Dr. Levent AKKAYA
Balıkesir Üniversitesi - Üye

Doç. Dr. Veli GÖK
Afyon Kocatepe Üniversitesi - Üye

Yrd. Doç. Dr. Mukadderat GÖKMEN
Balıkesir Üniversitesi – Üye

Yrd. Doç.Dr. Ayşe Ebru BORUM
Balıkesir Üniversitesi–Üye

Tez Danışmanı
Yrd.Doç.Dr. Mukadderat GÖKMEN

Ortak Tez Danışmanı
Prof. Dr. Recep ÇIBIK

Balıkesir-2015



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEZ KABUL VE ONAY

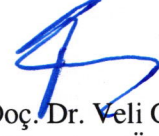
Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan “Balıkesir İlinde Süt ve Süt Ürünlerindeki Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus*’ un Prevalansı ve Antibiyotik Dirençliliği” başlıklı tez çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.


Tez Savunma Tarihi: 18/12/2015


TEZ SINAV JÜRİSİ


Prof. Dr. Recep ÇIBİK
Uludağ Üniversitesi
Başkan



Prof. Dr. Levent AKKAYA
Balıkesir Üniversitesi
Üye


Doç. Dr. Veli GÖK
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Üye


Yard. Doç. Dr. Mukadderat GÖKMEN
Balıkesir Üniversitesi
Üye


Yard. Doç. Dr. Ayşe Ebru BORUM
Balıkesir Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Yüksek Lisans Tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun
~~29~~ /...~~12~~ /2015 tarih ve 2015/21 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Özlem YAVUZ
Enstitü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tezde kullanılmış olan tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim. (20/11/2015)



Nisanur EKTİK

TEŐEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmanın başlangıcından bitimine kadar bilgi birikimlerini ve yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocalarım Prof. Dr. Recep ÇIBIK ve Yrd. Doç. Dr. Mukadderat GÖKMEN'e, tecrübeleri ve görüşleri ile yön gösteren Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Levent AKKAYA'ya, destekleri için Araştırma Görevlisi Adem ÖNEN'e, doktora öğrencisi Rabia KAYA'ya, PCR ile ilgili kısımlardaki katkıları için Vet. Hek. Dr. Murat ŐEVİK'e ve hayatımın her anında, her koşulda hep yanımda olan sevgili annem, babam ile ağabeyime teőekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	III
ABSTRACT	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
TABLolar DİZİNİ	VII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Stafilokoklar.....	3
2.1.1. Tarihçe ve Genel Özellikler.....	3
2.1.2. Virülans Faktörleri.....	5
2.2. Metisilin Dirençli <i>S. aureus</i>	8
2.2.1 İnsanlarda MRSA taşıyıcılığı ve enfeksiyonları.....	10
2.2.2. Hastane Kaynaklı MRSA.....	12
2.2.3. Toplum Kaynaklı MRSA.....	14
2.2.4. Çiftlik Hayvanları Kaynaklı MRSA.....	17
2.2.5. Gıdalarda MRSA.....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. Gereç.....	24
3.1.1. Çalışma Grubunu Oluşturan Örnekler.....	24
3.1.2. Kullanılan Cihaz, Malzeme ve Kimyasallar.....	24
3.1.3. Besiyerleri.....	26
3.1.4. Antibiyotik Diskleri.....	29
3.1.5. İdentifikasyon Testleri.....	30
3.1.6. Referans Suşlar.....	30
3.1.7. Primerler.....	30
3.2. Yöntem.....	30
3.2.1. Örneklerin Analize Alınması.....	30
3.2.2. Mikrobiyolojik Analizler.....	31
3.2.3. İzolatların Muhafazası.....	33
3.2.4. İzolatların Canlandırılması.....	33
3.2.5. Moleküler İdentifikasyon.....	33
3.2.6. Antibiyotik Dirençliliğinin Belirlenmesi.....	35

4. BULGULAR	37
4.1. Fenotipik Bulgular.....	37
4.1.1. Koagülaz Pozitif Stafilokok ve MRSA İdentifikasyonu.....	37
4.2. Genotipik Bulgular.....	39
4.2.1. <i>S. aureus</i> ve MRSA İzolatlarının PCR Sonuçları.....	39
4.3. Antibiyotik Dirençlilik Sonuçları.....	41
5. TARTIŞMA	43
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	50
KAYNAKLAR	52
EKLER	71
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	71

ÖZET

Balıkesir İlinde Süt ve Süt Ürünlerindeki Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus*'un Prevalansı ve Antibiyotik Dirençliliği

Bu tez çalışmasında; Balıkesir ilindeki çiftliklerden toplanan 50 tank sütü ve 125 süt ürünü (15 yoğurt, 40 beyaz peynir, 10 kaşar peyniri, 15 tulum peyniri, 12 mihaliç peyniri, 13 lor peyniri, 10 sepet peyniri ve 10 tereyağı) örneğinde MRSA prevalansının saptanması ve elde edilen izolatların antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla; ilk olarak aseptik koşullarda toplanan örneklerle, MRSA izolasyonu için Mueller-Hinton Broth besiyerinde ön zenginleştirme işlemi uygulanmıştır. Ön zenginleştirme homojenatından CHROMagar MRSA besiyerine ekimler yapıldıktan sonra elde edilen izolatlara lateks aglütinasyon testi uygulanmış ve PCR kullanarak *mecA* geni yönünden analiz edilmiştir. Ayrıca fenotipik olarak MRSA olduğu tespit edilen izolatların 11 farklı antibiyotiğe dirençlilik durumları belirlenmiştir.

Analize alınan örneklerden elde edilen izolatların fenotipik olarak 26'sı *S. aureus* ve 3'ü MRSA olarak tespit edilirken, genotipik olarak ise 17'si *S. aureus* ve 1'i MRSA olarak doğrulanmıştır. MRSA izolatlarının tamamı ampisilin, penisilin, sülfametoksazol-trimetoprim, sefoksitin ve oksasiline dirençli bulunmuştur.

Sonuç olarak MRSA, tank sütleri ve süt ürünlerinde düşük oranda bulunsa da çoklu antibiyotik direncine sahip olmasından dolayı gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından risk teşkil etmektedir. Dolayısıyla özellikle süt sektöründe üretim aşamalarında alet, ekipman ve personel hijyenine gerekli özenin gösterilmesi ile HACCP ve GMP kurallarının uygulanması gerektiği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik direnci, tank sütü, MRSA, süt ürünleri.

ABSTRACT

The Prevalence and Antibiotic Resistance of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* in Milk and Dairy Products in Balikesir Province

The aim of this thesis is to determine the prevalence of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* in 50 bulk tank milk collected from farms and 125 dairy products sample (15 yoghurts, 40 white cheeses, 10 kashar cheeses, 15 tulum cheeses, 12 mihalic cheeses, 13 curd cheeses, 10 sepet cheeses and 10 butter sample) retailed in the market in Balikesir province. The antibiotic resistance profile of the strains was also evaluated.

For this purpose, aseptically collected samples were firstly pre-enriched in Mueller-Hinton Broth and then spreaded onto the CHROMagar MRSA medium. Typical colonies were thereafter subjected to latex agglutination test. Positive colonies were finally confirmed by PCR for *mecA* gene. Antibiotic resistance status of the isolates were assessed by disc diffusion assay against 11 antibiotics.

26 of the isolates were found to be positives for *S.aureus* and three of them were positives for MRSA phenotypically. Among these, 17 were confirmed as *S. aureus* and one as MRSA genotypically. It was found that all MRSA isolates were resistance to ampicillin, penicillin, sulfamethoxazole-trimethoprim, cefoxitin and oxacillin.

As a result, even though the prevalence of MRSA in bulk tank milk and dairy products is relatively low, it may poses serious risks in terms of food safety and public health due to the multiple antibiotic resistance profile. Therefore, it was concluded that necessary hygienic measures especially in term of personel hygiene, and disinfection of equipments in the dairy production stages should be taken and HACCP and GMP regulations should be implemented.

Key Words: Antibiotic resistance, bulk tank milk, MRSA, dairy products.

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

MRSA	: Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	: Metisiline duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
KNS	: Koagülaz Negatif Stafilokok
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
PBP	: Penisilin Bağlayıcı Protein
ECDC	: Avrupa Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
HA-MRSA	: Hastane Kaynaklı Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
CA-MRSA	: Toplum Kaynaklı Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
LA-MRSA	: Çiftlik Hayvanları Kaynaklı Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
SCC	: Stafilokokal Kaset Kromozom
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
kob	: Koloni oluşturan birim
a_w	: Su Aktivitesi
spp	: Species (türleri)
AB	: Avrupa Birliği
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ATCC	: American Type Culture Collection
CDC	: Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
CLSI	: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
TUIK	: Türkiye İstatistik Kurumu
PVL	: Panton-Valentine Lökosidin
μg	: mikrogram
ST	: Sekans Tip
ng	: nanogram
kb	: kilobaz
HACCP	: Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları
GMP	: İyi Üretim Uygulamaları
GHP	: İyi Hijyen Uygulamaları
Eh	: Redoks Potansiyeli
mm	: milimetre

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 3.1. Mueller-Hinton Broth bileşimi ve miktarı.....	26
Şekil 3.2. BBL CHROMagar MRSA bileşimi ve miktarı.....	26
Şekil 3.3. Brain Heart Agar bileşim ve miktarı.....	27
Şekil 3.4. Mueller-Hinton Agar bileşim ve miktarı.....	27
Şekil 3.5. Brain-Heart Infusion Broth bileşim ve miktarı.....	28
Şekil 3.6. Nutrient Agar bileşim ve miktarı.....	28
Şekil 3.7. Trypcase Soy Agar bileşim ve miktarı.....	29
Şekil 4.1. CHROMagar'da üreyen MRSA şüpheli kolonilerin görüntüsü.....	38
Şekil 4.2. Staphtech Plus Lateks Aglutinasyon testi pozitiflik görüntüsü.....	39
Şekil 4.3. Slidex MRSA Lateks Aglutinasyon testi pozitiflik görüntüsü.....	39
Şekil 4.4. <i>nuc</i> genine göre <i>S. aureus</i> olarak doğrulanan izolatların PCR görüntüsü.....	40
Şekil 4.5. <i>mecA</i> geni için tüm izolatlara yapılan PCR görüntüsü.....	41
Şekil 4.6. <i>mecA</i> genine göre MRSA olarak doğrulanan suş ve referans suşların PCR görüntüsü.....	41
Şekil 4.7. MRSA izolatlarının disk difüzyon testi görüntüsü.....	42

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. <i>S. aureus</i> 'un üreme ve toksin oluşturmaya ilişkin parametreler.....	4
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan örneklerin sayısal dağılımları.....	24
Tablo 3.2. Antibiyotik dirençlik testi için kullanılan antibiyotik diskleri.....	29
Tablo 3.3. <i>nuc</i> geni için hazırlanan miks.....	34
Tablo 3.4. <i>mecA</i> geni için hazırlanan miks.....	34
Tablo 3.5. CLSI'ya göre <i>Staphylococcus spp.</i> için zon çapları (mm).....	36
Tablo 4.1. Lateks test sonuçlarına göre koagülaz pozitif stafilokok ve MRSA izolatlarının ürün düzeyinde dağılımı.....	38
Tablo 4.2. PCR sonuçlarına göre <i>S. aureus</i> ve MRSA izolatlarının ürün düzeyinde dağılımı.....	40
Tablo 4.3. MRSA izolatlarının çalışmada kullanılan antibiyotiklere dirençlilik düzeyleri.....	42
Tablo 5.1. Balıkesir ili 2009-2014 yılları arası süt üretim miktarları.....	44

1. GİRİŞ

Güvenli ve kaliteli gıda üretiminin amacı insanların yeterli, dengeli ve sağlıklı beslenmesini sağlamaktır. Yeterli ve dengeli beslenme vücudun ihtiyacı olan enerji ve besin öğelerinin her gün ihtiyaç duyulan miktarlarda alınmasıdır. Hayvansal kaynaklı gıdalar yeterli ve dengeli beslenmenin vazgeçilmez unsurlarıdır. Bu gıdalardan süt ve süt ürünleri grubunda pastörize ve UHT süt, yoğurt, peynir ve süt tozu gibi süttten yapılan gıdalar yer almaktadır. Süt ve süt ürünleri başta protein, kalsiyum, fosfor, B₂ ve B₁₂ vitamini olmak üzere birçok besin öğesinin önemli bir kaynağıdır. Böyle önemli bir gıda kaynağının sağlıklı ve hijyenik koşullarda üretilip tüketiciye sunulması gerekmektedir.

İçerdiği besin öğeleri sebebiyle süt ve süt ürünleri aynı zamanda mikroorganizmaların gelişmesi için de uygun bir ortam oluşturmaktadır. Bu ürünlerin üretim aşamalarında hijyen kurallarına uyulmadığı takdirde farklı tür ve sayıda mikroorganizmalar ile bulaşma meydana gelebilmektedir (Baz ve ark., 2003). Stafilokok türleri hem hayvanlarda hem de insanlarda çeşitli enfeksiyon ve intoksikasyonlara neden olan mikroorganizmalardandır. Stafilokoklar içerisinde *Staphylococcus aureus*, gıda zehirlenmelerine sebep olan etken mikroorganizmalar arasında ilk sıralarda yer almaktadır.

Antibiyotik direnci, bakterilerin antibiyotik varlığında dahi üreyebilmeleri ve hastalık yapabilmeleri durumudur. Bu bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlardaki artışlar, dünya çapında sağlık hizmetlerinde büyük bir sorun olmaya devam etmektedir (Spellberg ve ark., 2008). ‘Super Bug’ olarak adlandırılan antibiyotik dirençli mikroorganizmalardan Metisilin Dirençli *S. aureus* (MRSA) suşları bunların önemli bir grubudur (Xu ve ark., 2011). MRSA, insan ve hayvanların deri, ağız ve burun deliklerinde hastalığa neden olmadan kolonize olabilese de, derideki açık yaralardan veya sıyrıklardan girdiği zaman pnömoni, menenjit ve septisemi gibi ciddi enfeksiyonlara neden olabilmektedir (Snyder, 2012). Bu enfeksiyonların tedavisinde

güçlükler yaşanmaktadır. Metisilin direncinin doğru olarak saptanmasının, bu enfeksiyonların kontrol altına alınmasında ve tedavisinde doğru antibiyotiğin seçilmesinde büyük önemi bulunmaktadır.

Ülkemizde gıda kaynaklı zehirlenme vakalarının istatistiği yeterince çıkarılmadığından ülke ekonomisine getirdiği maliyet ve iş gücü kaybı tam olarak ortaya konamamaktadır. Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa ülkelerinde ise gıda kaynaklı vakaların yıllık bazda istatistiki verileri tutulmaktadır. ABD’de rapor edilen gıda kaynaklı hastalıklar arasındaki önem sıralamasında *S. aureus* beşinci sırada yer almaktadır. Stafilokokal gıda zehirlenmeleri sonucu yılda tahmini 241.148 hastalık vakası (CDC, 10 Haziran 2015) nedeniyle oluşan üretim kaybı ve medikal masrafların yaklaşık 167 milyon dolar maliyete neden olduğu bildirilmiştir (Byrd-Bredbenner ve ark., 2013). Bu nedenle gıdaların mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesinde bazı patojen bakterilerin varlığı ile antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi halk sağlığı için önem taşımaktadır. Bu açıdan baktığımızda özellikle süt ve süt ürünleri başta olmak üzere gıdalarda stafilokoklar ve antibiyotik dirençliliklerinin araştırılmasının önemi ortaya çıkmıştır. Yapılan literatür taramalarında Balıkesir ilinde süt ve süt ürünlerinde benzer çalışmaya rastlanamamıştır.

Bu tez çalışmasında, Balıkesir ilindeki çiftliklerden toplanan tank sütleri ile piyasada tüketime sunulan bazı süt ürünlerinden (yoğurt, beyaz peynir, kaşar peyniri, tulum peyniri, mihaliç peyniri, sepet peyniri, lor peyniri ve tereyağı) örnekler alınarak gıda hijyeni ve halk sağlığı açısından risk oluşturabilen MRSA prevalansının saptanması ve antibiyotik dirençlilik profillerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Stafilokoklar

2.1.1. Tarihçe ve Genel Özellikler

Stafilokoklar, ilk kez 1878 yılında Robert Koch tarafından tanımlanmış olup 1884 yılında yapılan sınıflandırmada *Micrococcaceae* familyası içerisinde ayrı bir soy olarak yer almışlardır (Götz ve ark., 2006; Kılıç, 2007). Günümüzde geçerli olan yeni sınıflandırmaya göre ise *Bacilli* sınıfında *Bacillales* takımında ve *Staphylococcaceae* familyası içerisinde yer almaktadırlar (Schneewind ve Missiakas, 2009). National Center for Biotechnology Information (NCBI) tarafından yapılan son sınıflandırmaya göre; *Staphylococcus* cinsi içerisinde 49 tür olduğu belirlenmiştir. Bu türlerin çoğunluğunun zararsız olduğu ve hiçbir enfeksiyona neden olmadığı ileri sürülmektedir (Gillaspay ve Iandolo, 2014). 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 (Zell ve ark., 2008). Bu türlerden gıda mikrobiyolojisi yönünden en önemli patojen tür olarak *S. aureus* bilinmektedir (Garrity ve ark., 2004). Ayrıca insan ve hayvan enfeksiyonları ile gıda kaynaklı hastalıklarda en çok *S. aureus* izole edilmiş olduğundan çalışmalar daha çok bu bakteri üzerinde yoğunlaşmıştır (Gillaspay ve Iandolo, 2014).

S. aureus, ilk olarak 1880 yılında, İskoç cerrah Sir Alexander Ogston tarafından diz eklemesindeki bir apseden izole edilmiştir. Aynı araştırmacı, stafilokokların mikroskop altında üzüm salkımını andıran yığınlar şeklinde görüldüğünü tespit etmiştir. Mikroorganizmanın ismi Yunanca ‘üzüm salkımı’ anlamına gelen *staphyle* ve ‘tane’ anlamındaki *coccus* kelimesinden türemiştir. 1884 yılında Alman doktor Friedrich Julius Rosenbach saf kültürden izole ettiği bakteriyi kolonilerin rengine göre Latince’de ‘altın’ anlamına gelen aurum kelimesinden dolayı *S. aureus* olarak isimlendirmiştir (Henry, 2013).

S. aureus Gram pozitif, hareketsiz, spor oluşturmeyan, genellikle kapsülsüz, katalaz ve koagülaz pozitif, oksidaz negatif ve mikroskop altında tipik üzüm salkımı biçiminde kümeler oluşturmuş şekilde gözlenen, 0,5-1,5 µm çapında kok şeklinde bir bakteridir. *S. aureus*'un önemli kültürel karakteristiği altın sarısı renkteki koloni pigmentasyonudur. Kanlı agarda beta-hemoliz yapar ve ayrıca mannitol, maltoz, sukroz ve trehaloz gibi çeşitli karbonhidratları fermente ederek gaz oluşturmada asit oluştururlar (Bremer ve ark., 2004; Todar, 2005). 37 °C'de aerob ve/veya fakültatif anaerob ortamlarda gelişme gösterebilmektedirler (Belay ve Rasooly, 2002) .

Tablo 2.1. *S. aureus* 'un gelişme ve toksin oluşturmaya ilişkin parametreler (Adams ve Moss, 2008).

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

Stafilokok türlerinin pek çoğu ortam şartlarına dayanıklı olduğundan ubiküiterdir (her türlü ortamda yaygın olarak bulunabilme). *S. aureus*'un esas kaynağı, insanların ve hayvanların üst solunum yolları ve derileridir (Jay ve ark., 2005). Bakteri sağlıklı insanların %50'sinden fazlasının cilt, saç ve burun delikleri ile boğazında barınabilmektedir (Bhatia ve Zahoor, 2007). Sağlık çalışanları gibi hastalarla veya hastane çevresiyle ilişkili olan yüksek riskli gruplarda ise %90'a varan oranlarda taşıyıcılık belirlenmiştir (Tenover ve Gaynes, 2000). *S. aureus* en fazla burun ve boğaz boşluğundan, dışkılarından, ciltteki apseli yara ve aknelere izole edilmektedir. Ön burun boşlukları, havalanma ve nemin fazla olmasından

dolayı *S. aureus* yerleşimi için uygun özellikte bir bölgedir (Bannerman ve Peacock, 2007; Erkmén, 2010). Bunun yanı sıra birçok evcil hayvanın da *S. aureus* kaynağı olduğu bildirilmektedir. Daha çok sıcakkanlı hayvanların burun deliklerinde, derilerinde ve tüylerinde bulunabilen bu mikroorganizma (Le Loir ve ark., 2003) aynı zamanda hayvanların bağırsak sisteminde de bulunabilmektedir (Bhalla ve ark., 2007).

Genellikle insan ve hayvanların vücutlarında asemptomatik olarak taşınan *S. aureus*, dünya çapında ciddi morbidite ve mortaliteye neden olabilen fırsatçı bir patojendir (Alozhairy, 2011). İnsan ve hayvanlarda normal flora etkeni olarak bulunmasının yanı sıra çok sayıdaki virülans faktörü ile çeşitli doku ve organlarda ciddi enfeksiyonlar oluşturabilmektedir (Ağalar ve ark., 2012). *S. aureus*, hayvanlarda mastitis, epidermitis, otitis, artrit ve üriner sistem enfeksiyonları gibi enfeksiyonlara neden olurken; insanlarda gıda zehirlenmeleri, hastane enfeksiyonları, osteomyelitis, poliartrit, endokarditis, toksik şok sendromu, folikülitis, konjunktivitis, idrar yolları enfeksiyonları, pnömoni ve haşlanmış deri sendromu gibi çok sayıda enfeksiyona neden olmaktadır (Leonard ve Markey, 2008; Soll ve ark., 2003; Uğur ve Ceylan, 2003). Virülansında önemli rol oynayan başlıca faktörler; ekstraselüler enzim üretimi, enterotoksin üretimi, biyofilm oluşumu ve antibiyotik direncidir (Sudağdan ve ark., 2008). Suşların sahip olduğu bu virülans faktörleri stafilokokal enfeksiyonların patogeneğinde tek ya da kombine halde önemli rol oynamaktadır (Garipçin ve Şeker, 2013).

2.1.2. Virülans Faktörleri

2.1.2.1. Ekstraselüler Enzimler

S. aureus, çeşitli konak türlerini enfekte edebilen veya kolonize olabilen çok yönlü bir bakteridir (Monecke ve ark., 2013). Ürettiği çeşitli enzimler ve sitotoksinler, etkenin konakçı hücrelerinde kolonize olabilmesine katkıda bulunmaktadır. Bunlar arasında hemolizinler, nükleazlar, proteazlar, lipazlar, hyaluronidaz ve kolajenaz sayılabilir. Bu komponentlerin ana görevi, lokal konakçı dokularını mikroorganizmanın üreyebilmesi için uygun hale getirmektir (Dinges ve ark., 2000). Bunlardan en yaygın olarak üretileni lipazlardır. *S. aureus*'un tüm suşlarının ve Koagülaz Negatif Stafilokokların (KNS) %30'undan fazlasının birkaç

farklı lipaz üretebildiği ve bu enzimlerin vücudun yağlı bölgelerinde stafilokokların lokalizasyonunu sağlayan bir fonksiyona sahip olduğu belirtilmektedir (Cauwelier ve ark., 2004). Bunun yanı sıra salgıladıkları stafilokinaz, penisilinaz, katalaz, koagulaz ve deoksiribonükleaz gibi enzimlerle komşu dokulara yayılımı kolaylaştırırlar (Moreillon ve ark., 2005; Tünger 2004).

2.1.2.2. Enterotoksin Üretimi

S. aureus'un bazı suşları, oluşturdukları değişik tipte enterotoksinler ile stafilokokal gıda zehirlenmelerine neden olabilmektedir (Argudin ve ark., 2010). Enterotoksinler *S. aureus*'ların konakçı savunma sistemini etkileyerek kolonizasyonları için uygun bir çevre oluşmasına yardım eden önemli virülans faktörlerindedir (Omoe ve ark., 2003). *S. aureus* suşlarının yaklaşık %30'unun enterotoksin ürettiği bildirilmiştir (Ekici ve ark., 2008). Günümüzde *S. aureus* tarafından sentezlenen ve başlıcaları klasik SEA, SEB, SEC, SED, SEE enterotoksinleri olmak üzere 21 farklı toksin tipi olduğu bildirilmektedir (Argudin ve ark., 2010; Hennekinne ve ark., 2010). Bu enterotoksinler, molekül ağırlığı 26-29 kilodalton aralığında değişmekte olan, lizin, aspartik ve glutamik asitten zengin, suda çözünebilen monomerik ve globüler yapıdaki proteinlerdir. Bağırsak bölgesi ve sinir sistemi üzerine etkili olmakta ve yüksek toksisite göstermektedirler (Bergdoll, 1989). Enterotoksinler içinde ısıya en fazla dirençli olanı SEC'dir. Bunu SEA ve SEB takip etmektedir (Cunha ve Calsolari, 2007).

Stafilokokal gıda zehirlenmeleri, genellikle *S. aureus* tarafından sentezlenen bir veya birden fazla stafilokokal enterotoksin tipini yeterli miktarda içeren gıdanın tüketilmesi ile ortaya çıkmaktadır (Fraser ve Proft, 2008). Yapılan çalışmalar *S. aureus* 'un, hastalığa neden olacak kadar yeterli enterotoksini üretmesi için gıdadaki sayısının 10^5 kob/gr/ml'den fazla bulunması gerektiğini göstermiştir (Bhatia ve Zahoor, 2007). Stafilokokal gıda zehirlenmesi semptomlarının görülmesi için en az 20-100 ng enterotoksin içeren gıdaların tüketimi yeterli olabilmektedir (Asao ve ark., 2003). Et ve et ürünleri, süt ve süt ürünleri, kanatlı ve yumurta ürünleri, salatalar, fırıncılık ürünleri, krema dolgulu hamur işleri ile sandviç dolguları başta olmak üzere çeşitli gıdalar stafilokokal gıda zehirlenmelerine neden olabilmektedir (Tamarapu ve ark., 2001; Wieneke ve ark., 1993). Ölümün nadir olarak görüldüğü stafilokokal gıda zehirlenmelerinde mortalite genel popülasyonun %0.03'ü düzeyindedir ancak

bazen küçük çocuklar ile yaşlılar gibi duyarlı popülasyonda bu oran % 4.4'lere kadar çıkabilir (Montville ve Matthews, 2008).

2.1.2.3. Biyofilm Oluşumu

Stafilokoklar, çok sayıda farklı yüzeylere tutunabilme ve biyofilm (slime) oluşturabilme kabiliyetine sahip olan bakterilerdir (Ay ve ark., 2002). Biyofilm, canlı veya cansız bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri ekzopolisakkarid matriks içine gömülü ve hareketsiz olarak birbirine, bir katı yüzeye veya bir ara yüzeye geri dönüşümsüz olarak tutunmuş hâlde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluk olarak tanımlanmaktadır (Schlegelová ve ark., 2008; Nostro ve ark., 2014). Stafilokoklar, biyofilmle ilgili enfeksiyonların en sık nedeni olarak kabul edilmektedir. Bu durum stafilokokların insan ve diğer bir çok memelinin deri ve mukoza yüzeylerinde sıklıkla ortakçı olmasından kaynaklanmaktadır (Vuong ve Otto, 2002). Biyofilm üretimi, stafilokoklarda virülansı etkileyen temel faktörlerden biri olup, stafilokokların patojenite özellikleri, biyofilm tabakası ile kombine olduğunda oldukça yükselmektedir (Cucarella ve ark., 2001).

Biyofilm yapısında %97 su olmak üzere, %2–5 mikroorganizma, %1–2 polisakkarid, %1-2 protein, %1-2 DNA ve iyonlar bulunmaktadır (Allison, 2003). Bu tabaka, içindeki bakterilerin çevre şartlarından etkilenmemesini sağlayan korunaklı bir yapıdır (Szcuka ve ark., 2014). Bu durum ortam sanitasyonunu da zorlaştırmaktadır (Campbell, 2012).

Biyofilm oluşturan stafilokok suşlarının fagositoza karşı daha dirençli olduğu bildirilmektedir. Bu suşlar, antibiyotiklerin bakteri içine difüzyonunu inhibe ettiklerinden dolayı antibakteriyal tedaviye biyofilm oluşturmaya göre daha dirençli hale gelmektedirler (Cengiz, 1999). Ayrıca biyofilm yapısının nötrofillerin etkisini inhibe ettiği ve lenfosit aktivitesini azalttığı bildirilmiştir (Boussard ve ark., 1993; Donlan, 2000).

2.1.2.4. Antibiyotik Direnci

Antibiyotik direnci, bir bakterinin antimikrobiyal bir ajanın öldürücü veya üremeyi durdurucu etkisine karşı koyabilme yeteneği olarak tanımlanmaktadır (Durupinar, 2001). Antibiyotiklerin tıpta, tarımda ve hayvancılıkta yoğun olarak

kullanımı sonucunda bakteriler antibiyotiklere karşı direnç kazanmıştır. Antibiyotiğe dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlardaki artışlar, özellikle antibiyotik kullanımının iyi düzenlenmediği ülkeler başta olmak üzere dünya çapında sağlık hizmetlerinde büyük bir sorun oluşturmaya devam etmektedir (Spellberg ve ark., 2008; Arefi ve ark., 2014). Yapılan araştırmalarda ABD’de hastane kaynaklı enfeksiyonların %70’inden antibiyotik direncinin sorumlu olduğu bildirilmiştir (Li ve ark., 2010).

Antibiyotiklerin elli yılı aşkın süredir kullanımı ile birlikte, *S. aureus*’da da diğer pek çok mikroorganizmada olduğu gibi önemli direnç mekanizmaları gelişmiştir (Hardy ve ark., 2004). *S. aureus*’un tüm dünyada çeşitli antibiyotiklere karşı farklı direnç oranları rapor edilmektedir. Stafilokokal enfeksiyonların tedavisinde stafilokok türleri arasındaki bu direnç yaygınlığı önemli bir sorundur. *S. aureus*’un neden olduğu enfeksiyonların şiddeti, virülans faktörlerinin üretimine dayanmaktadır ve patojenite antibiyotiklere direnç kazanılması ile güçlenmektedir (Projan, 2000). Yeni antibiyotiklerin klinik kullanıma girmesinden kısa bir süre sonra mikroorganizmanın direnç kazandığı iyi bilinmektedir. Özellikle metisilin direnci, *S. aureus* suşları arasında son yıllarda hızla artmıştır (Ito ve ark., 2003). Öncelikle MRSA türleri olmak üzere ilaçlara karşı dirençli suşların ortaya çıkması ile bu tür patojenler büyük bir terapötik sorun haline gelmiştir (Drago ve ark., 2007). MRSA çevrede çok yaygın olarak bulunduğu için, diğer antibiyotik dirençli türlere oranla daha kötü bir şöhret kazanmıştır (Campbell, 2012).

2.2. Metisilin Dirençli *S. aureus*

S. aureus’larda antibiyotik direnci ilk olarak 1930’lu yıllarda klinikte kullanılmaya başlanan sülfonamid grubu antibiyotiklerle başlamıştır. 1941 yılında penisilin G’nin klinik kullanıma girmesinden önce *S. aureus* kaynaklı meydana gelen enfeksiyonlar sonucu görülen mortalite oranı % 80’lere ulaşmıştır (Deurenberg ve ark., 2007). Penisilin G’nin klinik kullanıma girmesiyle bu enfeksiyonlar önemli ölçüde azalma göstermiş ancak bu antibiyotiğin çok yaygın kullanımı sonucunda kısa sürede *S. aureus* türlerinin çoğunluğu penisilinlerin beta laktam halkasını hidroliz etme özelliği olan beta-laktamaz (penisilinaz) enzimi üretimi yoluyla penisilinlere karşı direnç kazanmıştır (Jevons, 1961; Zetola ve ark., 2005). İlk kez 1942 yılında bir hastanede penisiline dirençli stafilokok suşları rapor edilmiştir (Deurenberg ve ark.,

2007). Bu nedenle penisilinaz üreten *S. aureus* enfeksiyonlarının tedavisinde eritromisin, gentamisin ve tetrasiklin gibi yeni antibiyotikler kullanılmaya başlanmışsa da, 1951 yılında çoklu dirence sahip *S. aureus* suşlarının tespit edilmeye başlandığı bildirilmiştir (Peacock, 2006; Lowy, 1998).

Metisilin (2,6-dimetoksifenilpenisilin), ilk kez 1959 yılında İngiltere’de George Rolinson ve Ralph Batchelor tarafından geliştirilmiş (Rolinson ve ark., 1960; Dutfield, 2009) ve “Celbenin” adı altında penisilin dirençli *S. aureus* enfeksiyonlarının tedavisi için piyasaya sürülmüştür (Knox, 1961). Metisilin, stafilokokal beta laktamaz enziminin hidrolizine dirençli penisilin grubu antibiyotikler içerisinde ilk elde edilen ve klinik kullanıma giren semisentetik bir penisilin olarak bilinmektedir. Böylece metisilin kullanıma girmesiyle bu sorun aşılmış ve stafilokok enfeksiyonların tedavisinde ikinci büyük başarı kazanılmıştır. Ancak kısa bir süre sonra 1961 yılında İngiltere’de ilk MRSA izolatlarının izole edildiği rapor edilmiştir (Jevons, 1961; Enright ve ark., 2002).

Metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) izolatlarında beş adet penisilin bağlayan protein (PBP) bulunmaktadır (Hartman ve Tomasz, 1986). Bu PBP’ler, peptidoglikan öncüllerini yapılmakta olan hücre duvarına taşımak ve bağlamakla görevlidirler (Garipçin ve Şeker, 2013). MRSA izolatlarında ise bunlara ilave olarak “PBP2a” olarak adlandırılan farklı formda yeni bir PBP sentezlenmektedir (Enright ve ark., 2002). PBP’lerde meydana gelen bu değişiklikler kromozomal mutasyonlar sonucu oluşmaktadır (McCallum ve ark., 2010). PBP2a, 78 kDa molekül ağırlığında olup β -laktam antibiyotiklere karşı diğerlerinden daha düşük afinite göstermektedir. Buna bağlı olarak β -laktam grubu antibiyotikler PBP2a’ya bağlanmamakta, böylece bu gruptaki antibiyotiklerin varlığında da bakteri hücre duvarı için gerekli olan peptidoglikan sentezi devam etmektedir (Chambers, 1997; Kuwahara-Arai ve ark., 1996).

Stafilokoklardaki metisilin direncine aracılık eden PBP2a, *mecA* geni tarafından kodlanmıştır (Yasuda ve ark., 2000). *mecA* geni, Stafilokokal Kaset Kromozom *mec* (*SCCmec*) olarak adlandırılan bir büyük mobil genetik elemanın üzerinde yer almaktadır. *SCCmec* kasetinin büyüklükleri 20-60 kb arasında değişkenlik göstermektedir (Stapleton ve Taylor, 2002). *mecA* ise yaklaşık olarak 2.1

kb büyüklüğünde olup *SCCmec* elementinin küçük bir bölümünü oluşturmaktadır (Hartman ve Tomasz, 1986).

MRSA enfeksiyonlarının ciddiyetini koruyan ve tedaviyi zorlaştıran en önemli etken, metisiline karşı gelişmiş direncin yanı sıra suşlarda gelişen çoklu antibiyotik direncidir (Garipçin ve Şeker, 2013). MRSA'nın ilk bildirildiği yıldan günümüze kadar olan süreçte, izolatlar tüm dünyada yaygın hale gelmiş, önceleri penisiline karşı oluşan direnç, daha sonra çoklu direnç halinde gelişmiştir. 3 veya daha fazla antibiyotiğe karşı direnç gösteren MRSA suşları “çoklu dirençli suşlar” olarak adlandırılırlar ve diğer Metisilin Duyarlı *S. aureus* (MSSA) suşlarına kıyasla doğada daha virülant olma eğilimindedirler (Campbell, 2012). MRSA genellikle çoklu ilaç direncine sahip olan bir patojen olup (Lee, 2003), penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler ve bunların türevlerini de içine alan günümüzdeki tüm mevcut beta-laktam grubu antibiyotiklere direnç kazanmıştır (ECDC, 30 Nisan 2015). Bunların yanı sıra linkozamidler, makrolidler ve aminoglikozidlere karşı da direnç gösterdiği belirlenmiştir (Lentino ve ark., 2008).

2.2.1. İnsanlarda MRSA Taşıyıcılığı ve Enfeksiyonları

MRSA suşlarının insanlarda ve hayvanlarda öncelikli yerleşim alanı geniz, burun mukozası ve deri olarak bilinmektedir (Wenzel ve Perl, 1995; Zetola ve ark., 2005). Bakteri bu bölgelerde enfeksiyona neden olmadan kolonize olabilmektedir. (Snyder, 2012). Özellikle nazal bölge MRSA kolonizasyonu ve enfeksiyonlarının epidemiyoloji ve patogenezi için anahtar rol oynamaktadır (Kluytmans ve ark., 1997). Nazal taşıyıcılıkta burun boşluğunun ön kısmında kolonize olan etkenler, öksürük ve hapşırma gibi yollarla dışarı atılmakta ve havada asılı kalan partiküllerin solunum yolu ile alınması ya da deri ile teması sonucunda duyarlı bireylere bulaşma olmaktadır (Klakus ve ark., 2008). Ayrıca enfekte deri lezyonlarının da kontaminasyonda etkili olabileceği vurgulanmaktadır (Bergdoll ve Lee Wong, 2006).

MRSA'nın enfeksiyona neden olmadan önce genellikle konakçıda kolonize olabilmesi organizmanın toplumda ve sağlık tesislerinde yayılmasında büyük rol oynamaktadır (Bradley, 2007; Roghmann ve McGrail, 2006). Yetişkinlerin %10-15'inin MRSA ile sürekli kolonize olduğu tahmin edilmektedir (Wenzel ve Perl, 1995). MRSA suşlarıyla kolonizasyon, enfeksiyon gelişiminde en önemli risk

faktörlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Yapılan bir çalışmada MRSA taşıyıcılarının %25'inde enfeksiyon geliştiği gösterilmiştir (Muder ve ark., 1991). MRSA enfeksiyonları ve kolonizasyonlarının en dezavantajlı yanı ise sıklıkla kronik seyretmesi ve buna bağlı olarak bakterinin uzun süre insan dokularında tespit edilebilmesidir (Mattner ve ark., 2010). MRSA hastalarının yaklaşık %50'sinde bir yıl sonrasında bile etkenin hala kolonize olduğu bildirilmiştir (Bradley, 2007; Roghmann ve McGrail, 2006; Simor ve ark., 2007).

MRSA izolatları da diğer *S. aureus* izolatları gibi ciddi ve tedavisi güç enfeksiyonlar oluşturabilmektedir. Bakterinin derideki açık yaralardan veya sıyrıklardan vücuda girdiği zaman pnömoni, sepsisemi, osteomyelit ve endokardit gibi ciddi bulaşıcı enfeksiyonlara neden olabildiği bilinmektedir (Mattner ve ark., 2010). MRSA birçok antibiyotik uygulamasına cevap vermediği için neden olduğu bu enfeksiyonların standart antibiyotiklerle tedavisi daha zordur ve bu yüzden daha tehlikelidirler (Pexara ve ark., 2013). Bu suşlar morbidite ve mortalitesi yüksek enfeksiyonlara yol açmaları ve bu enfeksiyonlarda tedavi seçeneklerinin sınırlı olması nedenleri ile önem kazanmıştır (Leonard ve Markey, 2008).

Günümüzde MRSA tüm dünyada yaygın olarak görülmekte olup, prevalansı ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Son yıllarda Avrupa, Amerika, Kuzey Afrika, Orta Doğu ve Doğu Asya ülkeleri başta olmak üzere dünyanın birçok bölgesinde en fazla identifiye edilen antibiyotik dirençli patojen olarak belirlenmiştir (Grundmann ve ark., 2006). Kuzey Avrupa ülkelerinde MRSA prevalansı %1'in altında iken, Güney Avrupa ülkelerinde, Amerika'da ve bazı Asya ülkelerinde ise bu oran %50'lere ulaşmıştır (Hawkey, 2008; Shorr, 2007).

ABD'de yayınlanan raporlarda yıllık yaklaşık 94.000 invaziv MRSA enfeksiyonunun görüldüğü ve bu enfeksiyonların tahmini olarak 18.650 (%20)'sinde ölüme neden olduğu bildirilmiştir (Klevens ve ark., 2007). Yine ABD'de 2005 yılında *S. aureus* enfeksiyonları ile ilişkili olduğu tespit edilen yaklaşık 478.000 hastaneye yatırılma vakasından %58'inin MRSA kaynaklı olduğu saptanmıştır (Klein ve ark., 2007). 2010 yılında Avrupa Birliği'nde ise MRSA'nın sağlık kurumlarında yılda tahmini olarak 150.000 'den fazla kişide hastalığa neden olduğu bildirilmiştir (Köck ve ark., 2010). ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (Centers for Disease Control and Prevention: CDC) verilerine göre toplam nüfusun

yaklaşık %50'sinin *S. aureus* taşıyıcısı olduğu; MRSA taşıyıcıları için bu oranın %1.5 civarında olduğu ifade edilmiştir (Acton ve ark., 2009; Frank ve ark., 2010). Ancak 60 yaş ve üzerinde olanlar dahil olmak üzere bazı nüfus gruplarında diğerlerine göre MRSA prevalansı önemli ölçüde fazla bulunmuştur (Enoch ve ark., 2010; Reilly ve ark., 2010).

Brezilya'da beş yıllık SENTRY Antimikrobiyal Gözetleme Programı verilerine göre, MRSA'nın hastane ve toplum enfeksiyonlarının %56'sına karşılık geldiği belirlenmiş ve yaygın olarak görülen patojenler arasında en yaygın olarak değerlendirilmiştir (Ghidey ve ark., 2014). Güney İtalya'da büyük bir hastanede gerçekleştirilen bir araştırmaya göre MRSA enfeksiyonlarının prevalansının %41'e ulaştığı bildirilmiştir (Monno ve ark., 2003). Kore'de insanlardan izole edilen *S. aureus* izolatlarındaki metisilin direnç oranının %50'den fazla olduğu tespit edilmiştir (Lee ve ark., 2001).

Metisilin dirençli *S. aureus*, epidemiyolojik ve genetik karakteristiklerine göre; hastane kaynaklı (HA-MRSA), toplum kaynaklı (CA-MRSA) ve çiftlik hayvanları kaynaklı (LA-MRSA) olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır. Bu gruplar, antibiyotiklere duyarlılıklarına, kromozal kaset mec (SCCmec) geninin lokalizasyonu ve boyutu ile Panton-Valentine Lökosidin (PVL) geninin mevcudiyetine göre farklılık göstermektedir (Karpiškova ve ark., 2009; Huber ve ark., 2010).

2.2.2. Hastane Kaynaklı MRSA

MRSA ilk olarak 1961 yılında Birleşik Krallık'ta bir hastanede görülmüş ve aradan geçen birkaç yıl sonra ise ilaçlara dirençli bakteriler için seçilen antibiyotiklerin yaygın olarak kullanıldığı ABD hastaneleri ve diğer sağlık bakım tesislerinde tespit edilmeye başlanmıştır (Doyle ve ark., 2012). MRSA'ya bağlı ilk hastane salgını 1968'de ABD'nin Boston eyaletinde ortaya çıkmıştır (Barrett ve ark., 1968; David ve Daum, 2010). Bu vakalar MRSA'nın hastane enfeksiyonları ile neredeyse eşanlamlı olarak anılmasının başlangıcı olmuştur (Snyder, 2012). MRSA, 40 yılı aşkın bir süredir özellikle cerrahi servisleri ve yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere hastanelerin ve uzun süreli bakım tesislerinin kronik sorunu haline gelmiştir (David ve Daum, 2010). Tüm dünyada hastane kaynaklı enfeksiyonlara

neden olmasının yanı sıra, bazı MRSA enfeksiyonları hastanede yatmayan ancak hastanede yatan kişilerle yakın teması olan kişilerde de görülmüştür (Doyle ve ark., 2012). Hastanelerde MRSA enfeksiyonları hastanede kalma süresinin uzamasına, ölüm oranının yükselmesine ve ciddi bir maliyet artışına neden olmaktadır. MRSA ile enfekte olmuş hastanede hastalarının ortalama %34.2'sinde ölüm görüldüğü bildirilmiştir (Cosgrove ve ark., 2003).

Hastane kaynaklı MRSA enfeksiyonlarının epidemiyolojisinde hastane ortamı önemli rol oynamaktadır. Hastanelerde MRSA'nın ana kaynağı sıklıkla MRSA ile kolonize veya enfekte olmuş hastalar ile MRSA taşıyıcısı sağlık çalışanlarıdır (Garipçin ve Şeker, 2013). Suşların hastane içerisinde bulaşması insandan insana sağlık personelinin elleri, giysileri ya da hastalara çevre yoluyla meydana gelmektedir (Millar ve ark., 2007). MRSA hastanede yatan hastalar ile hastane personelinin deri ve burun mukozasında kolonize olmakta ve nozokomiyal enfeksiyonlar için bir rezervuar görevi görerek yara enfeksiyonu, osteomyelit, endokardit ve sepsis gibi ağır tablolara yol açabilmektedir (Waldvogel, 1995).

Hastane kaynaklı MRSA enfeksiyonları için en önemli risk faktörleri hastanelerdeki sabit cihazlar, hastanede yatış süresinin uzaması ve uzun süreli antibiyotik kullanımınıdır (Millar ve ark., 2007). Diğer yandan 65 yaş üstü hastalar, ameliyat olan, çok sayıda invaziv girişim uygulanan, geniş spektrumlu uzun dönem antibiyotik kullanan, yoğun bakım ünitelerinde yatan, uzun süre hastanede kalan veya tekrarlayan hastane yatışları olan, enfektelerle yakın temas kuranlar veya kolonize MRSA pozitif bireyler genel popülasyona göre hastane kaynaklı MRSA için daha yüksek risk taşıyan hasta grupları olarak tanımlanmaktadır (McCarthy ve ark., 2010; Sürücüoğlu ve ark., 2011).

Metisilin direncinde ülkesel ve bölgesel farklılıklar görülebildiği gibi aynı hastanenin farklı birimlerinde bile farklı direnç oranları saptanabilmektedir (Fluit ve ark., 2001). Dünya çapında sağlık tesislerinden ve hastanelerden izole edilen hastane kaynaklı *S. aureus* izolatlarının % 40-60'ı metisiline dirençli olarak tespit edilmiştir (Rice, 2006; Borg ve ark., 2007)

S. aureus'un bugüne kadar toplam 11 *SCCmec* tipi (I - XI) tanımlanmıştır (Shore ve ark., 2011). Bunların çoğu, diğer antibiyotiklere karşı direnç

genleri taşıyan *SCCmec* tipi I-III'den birine sahiptir. Öncelikle *SCCmec* tip I ve III hastane kaynaklı MRSA ile ilişkili bulunmuştur (Hanssen ve Ericson Sollid, 2006; David ve Daum, 2010). Tip II, ABD'de hastane kaynaklı MRSA izolatları arasında en yaygın olanı iken, Tip III diğer ülkelerde daha sık bulunmaktadır (David ve Daum, 2010; McCarthy ve ark., 2010).

2.2.3. Toplum Kaynaklı MRSA

Başlangıçta MRSA, yalnızca hastane kaynaklı stafilokokal enfeksiyonlarla ilişkili bir patojen olarak bilinmekteydi. Hastane kaynaklı MRSA enfeksiyonları sorunlarına ilaveten giderek artan bir endişe, MRSA enfeksiyonlarının toplumda sağlıklı kişilerde sıkça görülmeye başlanması olmuştur (Witte ve ark., 2008).

Toplum kaynaklı MRSA, ilk kez damar içi ilaç kullanan kişilerde tanımlanmıştır (Saravolatz ve ark., 1982). 1993 yılında, hastane ortamında bulunmamış ve bu ortamlara maruz kalmamış yerli Avustralyalı hastalardan yeni MRSA suşları izole edildiği rapor edilmiştir (Udo ve ark., 1993). 1997 yılında MRSA, Minnesota ve Kuzey Dakota'da 4 sağlıklı çocuğun ölümü ile ilişkili vakayla bağlantılı bulunmuştur (CDC, 26 Nisan 2015). Bu çocuklarda MRSA enfeksiyonu için risk gurubunda olmadıkları halde septik artrit, bakteriyemi, septik şok ve nekrotizan pnömoni gibi ciddi enfeksiyonlar görülmüş ve bu enfeksiyonlar ölümlerine sonuçlanmıştır (DeLeo ve ark, 2009).

2000 yılından bu yana, MRSA enfeksiyonlarının toplum içerisinde bir risk faktörü taşımayan sağlıklı, hastanede kalmamış veya uzun dönem tedavi görmemiş insanlarda görülmesi yaygınlaşmıştır (French ve Otter, 2010). Kalabalık ortamlarda yaşama, ailedeki birey sayısı ve sosyo-ekonomik durum, beslenme, kişisel hijyen gibi pek çok faktör toplum kaynaklı MRSA taşıyıcılığını etkilemektedir (Garipçin ve Şeker, 2013). Bunun yanı sıra kişisel hijyenin yetersiz, ortak eşya kullanımının yaygın olduğu askeri personel, kreş ortamı gibi yakın fiziksel temasın olduğu topluluklardaki çocuklar, hapisanede kalan tutuklular ve homoseksüel bireyler gibi yakın temaslı popülasyonlarda da salgınların gelişebildiği belirtilmektedir (CDC, 10 Eylül 2013). Benzer şekilde, sporcular arasında yakın temasın fazla olması, cilt yaralanmalarının yüksek oranda görülmesi ve sabun, havlu gibi eşyaların ortak

kullanımı nedeniyle taşıyıcılığın daha yaygın olduğu ve MRSA salgınlarının görülebildiği bildirilmiştir (Beam ve Buckley, 2006; Salgado ve ark., 2003).

Günümüzde toplum kaynaklı MRSA'lar patojenitesi ve yol açtığı hastalıklar sebebiyle gittikçe önem kazanmakta ve dünya çapında bu konuda pek çok araştırma yayınlanmaya devam etmektedir (Sepin Özen ve ark., 2013). Toplum kaynaklı MRSA'nın, insan ve hayvanları kapsayan geniş bir rezervuar spektrumunun olması mücadeleyi zorlaştırmaktadır (Kireççi, 2009). Başlangıçta toplum kaynaklı enfeksiyonların birçoğu çeşitli antibiyotiklerle tedavi edilebilse de günümüzde çoklu antibiyotik direncinde artış gözlenmektedir (Goering ve Tenover, 2009). Özellikle ABD'de toplum kaynaklı MRSA enfeksiyonlarında ciddi artışlar meydana gelmiş ve acil servislerde karşılaşılan deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının en sık etkeni haline gelmiştir (Moran ve ark., 2006).

Toplum kaynaklı MRSA suşlarının hastane kaynaklı MRSA suşlarından genotopik ve fenotipik farklılıkları vardır (Deurenberg ve ark., 2007). Hastane kaynaklı olanlar çoklu antibiyotik direncine sahip olmalarına karşın toplum kaynaklı olanlar, beta laktam grubuna ait olmayan çeşitli antibiyotiklere duyarlı olma eğilimindedirler (Rybak ve LaPlante, 2005). Toplum kaynaklı MRSA izolatları sıklıkla klindamisin, trimetoprim-sulfametoksazol, tetrasiklin, gentamisin, florokinolonlar ve kloramfenikole karşı duyarlı bulunmuştur (Deurenberg ve ark., 2007; Shorr, 2007). Hastane kaynaklı MRSA izolatlarında daha çok SCCmec tip I, II ve III genetik elemanını bulunurken, toplum kaynaklı MRSA izolatlarında tip IV SCCmec geni bulunmaktadır (Chambers, 2005). SCCmec IV daha küçük boyutlu (20-24 kb) olmasıyla ve sınırlı sayıda antimikrobiyal direnç geni taşıması ile karakterizedir. Hastane kaynaklı MRSA suşları genellikle enterotoksin ve toksik şok sendrom toksini üretirken, toplum kaynaklı MRSA suşları eksfoliyatif toksin (bebeklerde ve küçük çocuklarda haşlanmış deri sendromuna neden olan toksin) ve Panton-Valentine Lökosidin (*PVL*; lökositler ve diğer hücreleri parçalayarak doku nekrozuna yol açan bir sitotoksin) üretmektedirler (Hososaka ve ark., 2007). *PVL* toplum kaynaklı MRSA'nın deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında yayılmasından sorumlu temel virülans faktör olarak düşünülmektedir (Diep ve ark., 2004). Yapılan çalışmalar sonucunda toplum kaynaklı MRSA enfeksiyonlarının %70-100'ünde *PVL* geni bulunduğu bildirilmektedir (Naimi ve ark., 2003; Shukla ve ark., 2004; Naas ve

ark., 2005). *PVL* geni bulunan toplum kaynaklı MRSA kaynaklı invaziv enfeksiyonlarda ise ölüm oranının %35'e ulaştığı belirtilmiştir (David ve Daum, 2010).

Toplum kaynaklı ve hastane kaynaklı MRSA'lar genetik farklılıkların yanı sıra oluşturdukları enfeksiyonlar açısından da farklılık göstermektedirler. Hastane kaynaklı MRSA enfeksiyonlarında solunum yolu ve yara enfeksiyonlarına neden olurken, toplum kaynaklı enfeksiyonlarının ise genelde hafif deri ve yumuşak doku enfeksiyonları (apse, follikülit vb), letal pnömoni ve sepsise neden olduğu bildirilmektedir (David ve Daum, 2010). Toplum kaynaklı MRSA izolatlarının büyük çoğunluğu deri ve yumuşak dokularda lokalize olup (Maltezou ve Giamarellou, 2006), hızlı yayıldığı ve hayati önem taşıyan organ ve sistemleri etkileyebildiği için hastane kaynaklı MRSA enfeksiyonlarından daha şiddetli seyrettiği bildirilmiştir (David ve Daum, 2010).

Şimdiye kadar hastane kaynaklı MRSA enfeksiyonları en önemli form olarak dikkate alınırken, günümüzde toplum kaynaklı MRSA da ciddi sonuçlar doğurabilecek büyük bir tehlikeyi temsil etmektedir (Calfee ve ark., 2003). Hastane kaynaklı MRSA suşu tiplerinin aksine, toplum kaynaklı MRSA suş tipleri sıklıkla aile içinde kişiden kişiye kolayca yayılabilmektedir (Miller ve ark., 2012). Hastane kaynaklı MRSA, hastane ve sağlık çalışanlarıyla sıkı bir şekilde bağlantılı iken, toplum kaynaklı MRSA daha yaygındır ve yayılma çevresiyle ilgili bir tanım yoktur (Wannet ve ark., 2004). Gıdalar da toplum kaynaklı MRSA için önemli bir rezervuar ve kaynak oluşturabilmektedir (Jones ve ark., 2002). Özellikle enterotoksin genlerine sahip MRSA suşlarının insanlarda gıda zehirlenmelerine neden olarak toplum kaynaklı MRSA enfeksiyonları için risk oluşturduğu bildirilmiştir (Andreoletti ve ark., 2009).

21.yüzyılda, çocuklarda toplum kaynaklı MRSA enfeksiyonlarının insidensinin %33'den %40'a yükseldiği rapor edilmiştir (Buckingham ve ark., 2004; Dietrich ve ark., 2004). ABD'de yapılan bir çalışmada acil servislere başvuran hastalarda görülen tüm süpüratif deri enfeksiyonlarının %50'sinden fazlasına toplum kaynaklı MRSA'ların neden olduğu bildirilmiştir (Moran ve ark., 2006). Bu konuda yayınlanan son istatistiki veriler şiddetli, invaziv ve hastane kaynaklı MRSA enfeksiyonlarının azaldığını işaret etmekte ise de toplum kaynaklı MRSA

enfeksiyonlarında hala bir artış olduğu dikkat çekmektedir (Kallen ve ark., 2010; Hadler ve ark., 2012).

2.2.4. Çiftlik Hayvanları Kaynaklı MRSA

Son zamanlarda önem kazanan diğer bir konu ise çiftlik hayvanlarıyla ilişkili MRSA (Livestock Associated-MRSA; LA-MRSA) izolatlarıdır. İlk olarak insanlarda tespit edilen MRSA enfeksiyonlarının uzun yıllar yalnızca insanlarda görüldüğü düşünülse de daha sonraları hayvanlarda da saptanmaya başlanmıştır (Wulf ve Voss, 2008b). Çiftlik hayvanları kaynaklı suşların gelişebilmesinin başlıca sebebi hayvancılıkta antibiyotik kullanımının yaygın olmasıdır. Antibiyotikler çiftlik ve kümes hayvanlarında büyüme ve gelişmeyi destekleyici yem katkı maddesi olarak (Silbergeld ve ark., 2008), bir sürünün içinde hastalığın önlenmesi veya varolan bir hastalık salgınının tedavisinde kullanılarak bakterilerde direnç oluşumunu arttırmaktadırlar (Smith, 2015).

MRSA enfeksiyonu ile çiftlik hayvanları arasındaki ilişki ilk olarak 1972 yılında Belçika'da mastitisli ineklerden MRSA izole edilmesi ile ilgili yayınlanan raporla ortaya konmuştur (Devriese ve ark., 1972; Morgan, 2008). Bu ineklerdeki enfeksiyonların, sağım yapan insanların ellerinde kolonize olan suşlardan horizontal bulaşma ile gerçekleşmiş olabileceği düşünülmüştür (Morgan, 2008). Bu sporadik vakayı bundan sonraki 25 yıl içerisinde birkaç vaka daha takip etmiş ve 2000'li yıllardan itibaren bu konudaki raporlar daha sık yayınlanmaya başlamıştır (Juhasz-Kaszanyitzky ve ark., 2007). Günümüzde MRSA tüm dünyada sığır, domuz, at, kümes hayvanları, tavşan ve egzotik türleri içeren çeşitli hayvanlardan izole edilmektedir (Leonard ve Markey, 2008; Lee, 2003). Büyükbaş hayvanların yanı sıra koyun ve keçi gibi küçükbaş hayvanlarda da metisilin dirençli stafilokoklar tespit edilmiştir (Bochev ve Russenova, 2005).

MRSA enfeksiyonları hayvanlarda da insanlardakine benzer klinik bulgularla ortaya çıkmakta (Garipçin ve Şeker, 2013), inkübasyon süresi klinik sendroma göre değişebilmekte ve hayvanlarda klinik bulgu göstermeden değişik periyotlarda kolonize olabilmektedir (Kireççi, 2009). MRSA ile kolonize insan ya da hayvanlarla bir arada bulunmak, hastanede ve özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatmak, cerrahi operasyonlar, deri lezyonunun bulunması, tekrarlanan ve uzun süreli aminoglikozid

kullanımı, immun sistemin baskılanmış olması ve kronik enfeksiyonların bulunması gibi nedenler hayvanlarda MRSA kolonizasyonu ya da enfeksiyonları açısından risk faktörleri olarak kabul edilmektedir (Morgan, 2008).

2003 yılında Hollanda'da domuz ve sığır rezervuarları ile ilişkili MRSA klonunun insanlardan izole edilmesiyle, insanlardaki MRSA enfeksiyonlarının çiftlik hayvanlarından kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. (Huijsdens ve ark., 2006). Tanımlanan bu klonun multilokus sekans tip (ST) 398'e ait olduğu tespit edilmiştir. Bazı literatürlerde CC398 olarak adlandırılmaktadır. Bu klonun konakçılara geniş aralıklarda kolonize olması nedeniyle zoonotik olarak önemli olduğu düşünülmektedir (Paterson ve ark., 2012). İlk izole edildiği tarihten itibaren dünya çapında Avrupa, Asya ve ABD'de MRSA ST398 kaynaklı invaziv enfeksiyonlar ve hastane salgınları rapor edilmiştir (Wulf ve ark., 2008a). Çoğu Avrupa ülkesinde çiftlik hayvanlarından izole edilen en yaygın MRSA tipi ST398 olarak belirlenmiştir (Fluit, 2012). Avrupa'da görülen MRSA ST398 oranı bölgesel farklılıklar göstermekte; Hollanda, Belçika ve Danimarka gibi ülkelerde çiftlik hayvanlarından ve onlarla temas halinde olan insanlardan sıklıkla izole edildiği bildirilmektedir (Kamal ve ark., 2013).

MRSA, hem insanlarda hem hayvanlarda bulunabilen bir patojen olduğundan, yakın temas sırasında insanlar ve hayvanlar arasında bulaşma meydana gelebilmektedir (Duquette ve Nuttal, 2004). Ağırlıklı olarak son çalışmalarda süt sığırları da dahil olmak üzere gıda üretiminden sorumlu hayvanlardan izole edilen MRSA izolatları ve insanlardaki MRSA suşlarının fenotipleme ve genotipleme metodlarıyla ayırt edilememesi, türler arasında MRSA aktarımı olduğunun bir kanıtı olarak düşünülmektedir (Hata ve ark., 2010). Bazı araştırmacılar da MRSA bulaşmasının çift yönlü olabileceğini bildirmiştir (Juhász-Kaszanyitzky ve ark., 2007). Özellikle ST398 klonunun insanlar ve hayvanlar arasında sıklıkla bulaşabildiği ve iki türde de aktif semptomatik enfeksiyonlara sebep olabildiği belirtilmektedir (van Duijkeren ve ark., 2007; Graveland ve ark., 2011).

Hayvandan insana bulaşma direk temas, çevresel kontaminasyon ve enfekte hayvanların ürününün işlenmesi ile oluşmaktadır (Nunang ve Young, 2007). MRSA ile enfekte olmuş sığırlar bir rezervuar olarak rol oynamakta ve sonrasında diğer hayvanlara ve insanlara da enfeksiyonu taşıyabilmektedirler (Spoor ve ark., 2013).

İnsanlarda çiftlik hayvanları kaynaklı MRSA ile ilgili ilk vaka 2005 yılında Hollanda'da hastaneye gelen 6 aylık bir bebekte görülmüştür. Bebeğin yanı sıra domuz çiftliğinde yaşamakta olan ailesinin de MRSA ile kolonize olduğu belirlenmiştir (Voss ve ark., 2005). Günümüzde MRSA'nın hayvandan insana bulaşma oranlarının arttığı dikkat çekmektedir (Lewis ve ark., 2008). İnsanlardan hayvanlara bulaşması konusunda ise hala bir belirsizlik söz konusu olduğu belirtilmiştir (Weese, 2010a). Süt sığırlarında MRSA enfeksiyonlarının varlığı insandan hayvana transferine atfedilmesine rağmen bulaşma yönü her zaman bilinmemektedir (Juhasz-Kaszanyitzky ve ark., 2007).

MRSA ile kolonize veya enfekte hayvanlar, özellikle direk temas halinde oldukları hayvan sahipleri, veteriner hekimler, çiftlik ve kesimhane çalışanları, sağımcular ve hayvansal kaynaklı gıda üretimi ile uğraşan insanlar için birer kolonizasyon kaynağı görevi görerek mesleki bir risk oluşturabilmektedir (Paterson ve ark., 2012; Juhasz- Kaszanyitzky ve ark., 2007). Özellikle süt çiftliklerinde çalışan insanlar patojene ve onun kolonize olma veya enfekte etme riskine maruz kalabilmektedirler (Juhasz-Kaszanyitzky ve ark., 2007; Spohr ve ark., 2011). MRSA'nın hayvanlardan izolasyonu ve ST398 klonunun ortaya çıkması ile toplum kaynaklı suşlara benzer olarak, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına ve nadiren ciddi enfeksiyon ve hatta ölümlere yol açabileceğini ortaya çıkarmaktadır (Smith, 2015).

Çiftlik hayvanları kaynaklı MRSA'nın insanlarda kolonizasyon devamlılığı, hayvanla temasın sıklığına ve maruz kalma süresine bağlıdır (Graveland ve ark., 2011). Hollanda'da yürütülen bir çalışmada, buzağılar ile temasta olan insanların %32'sinde MRSA tespit edilmiştir (Graveland ve ark., 2008). MRSA'nın bulaşması büyükbaş hayvan bakıcılarında küçükbaş hayvan bakıcılarına göre daha yaygın bulunmuştur (Hanselman ve ark., 2006).

Çiftlik hayvanları kaynaklı MRSA konusunda üzerinde durulması gereken bir diğer önemli nokta ise hayvan sağlığıdır. β -laktam antibiyotiklere direnç, *S. aureus* için tedavi seçeneklerini önemli ölçüde azaltmakta ve mastitis vakalarında zayıf oranlarını arttırmaktadır (Kreusikon ve ark., 2012). MRSA kaynaklı mastitisler genellikle subklinik olarak seyretmekte ve büyük ekonomik kayıplara neden olabilmektedir (Kwon ve ark., 2005).

2.2.5. Gıdalarda MRSA

Günümüzde, özellikle son yıllarda, gıda üretiminde kullanılan hayvanlarda MRSA suşlarının izole edilmesi, hayvansal kökenli gıdalarda MRSA varlığı ile ilgili soruları gündeme getirmiştir (Feßler ve ark., 2011). Bu durum, gıda kaynaklı kontaminasyonlar yoluyla insan sağlığının tehlikeye düşebileceği endişelerini artırmış ve araştırmaların hayvansal orijinli gıdalar yönünde yapılmasına yol açmıştır (Wulf ve Voss, 2008b). Çiftlik hayvanlarındaki antibiyotik direnci ile ilgili temel sorun, bu hayvanların etlerinden ve sütlerinden faydalanılmasıdır (Campbell, 2012). Bu hayvanlarda antibiyotik dirençli mikroorganizmaların bulunması, direncin gıda zincirine yayılması riskini doğurmaktadır. Direnç genlerini taşıyan bakteriler gıdalar yoluyla insan florasına kolonize olarak, oluşan direncin insanlara geçmesine aracılık etmektedirler (Barton, 2000).

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda tüm dünyada ST398 suşu başta olmak üzere özellikle dana, domuz ve tavuk etleri (de Jonge ve ark., 2010) ile tank sütleri gibi çeşitli gıdalarda MRSA varlığı belirlenmiştir (Paterson ve ark., 2012). Gıda zehirlenmelerinin gelişiminde temel risk gıdalarda *S. aureus* varlığı olmakla birlikte (Kluytmans, 2010), MRSA da gıda zehirlenmesi salgınlarında rol oynayabilmektedir (Jones ve ark., 2002). *S. aureus*'un gıda ve gıda işleme alanlarında çok yaygın olması nedeniyle MRSA'nın aynı bulaşma yolunu takip edebileceği ihtimali bulunmaktadır (Ferreira ve ark., 2014).

MRSA kaynaklı gıda zehirlenmeleri şimdiye kadar nadir olarak görülmüşse de, MRSA'nın çoğunlukla gıda zehirlenmelerine sebep olan enterotoksinlerle ilişkili genleri içerdiği dikkat çekmektedir (FAO, 22 Eylül 2015). MRSA türlerinin çoğunluğu gıda zehirlenmelerine neden olan enterotoksin genlerini (SEA, SEB, SEC, SED) taşımaktadırlar (Le Loir ve ark., 2003). Gıdalarda enterotoksin üretebilen MRSA'nın bulunması tipik MRSA enfeksiyonlarına göre çok daha büyük risk oluşturmaktadır (Campbell, 2012). EFSA (2008), MRSA prevalansının artmasının toksijenik *S. aureus*'un prevalansının yükselmesine yol açacağını bildirmiştir. Ayrıca hayvan kökenli ürünlerin MRSA için potansiyel kaynak olduğu ve gıda ile ilişkili MRSA'nın tehlikeli bir problem olabileceği konusunda dikkat çekmektedir.

Gıda ile ilişkili ilk MRSA salgını 1995 yılında Hollanda'da gerçekleşmiş, bu salgın 27 hasta ve 5 hastane işçisi olmak üzere toplam 32 kişiden 5'inin ölümüyle sonuçlanmıştır. Salgında bir gıda işleyicisinin, enfekte hastalardan ve salgına neden olan gıda örneğinden (soyulmuş muz) elde edilen suş ile kolonize olduğu tespit edilmiştir (Kluytmans ve ark., 1995). Bu durum gıda işletmelerinde çalışan insanların gıdaların kontaminasyonunda etkili olduğuna dikkat çekmektedir. Bir diğer gıda salgını vakası ise enteretoksin C üretebilen MRSA kaynaklı tipik *S. aureus* gıda zehirlenmesi şeklinde gerçekleşmiştir (Jones ve ark., 2002). Kitai ve ark. (2005) da yaptıkları çalışmada çiğ tavuk etlerinden tespit ettikleri MRSA suşlarının insan biovarlarıyla uyumlu olması nedeniyle kontaminasyonun gıda işleyicilerinden kaynaklı olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca tespit ettikleri MRSA izolatlarından birinin SEC sentezlediği ve bunun da gıda kaynaklı hastalıklara sebep olabileceği bildirmişlerdir.

2.2.5.1. Et ve Et Ürünleri

Son zamanlarda MRSA, tüm dünyada sığır, domuz, tavuk, hindi gibi çeşitli çiğ et ürünlerinde tespit edilmiştir (de Boer ve ark., 2009). Bu keşifler ile et ürünlerinin insanlara MRSA bulaşımı ve enfeksiyonları için aracı olma olasılığı konusunda endişeler artmıştır (Snyder, 2012).

Hayvanlardaki MRSA taşıyıcılığının, bu hayvanların etlerinde de yüksek oranda MRSA görülmesine katkı sağlaması muhtemeldir. MRSA taşıyıcısı hayvanların kesimi esnasında karkaslar da MRSA ile kontamine olabilmektedir. Bu kontaminasyonun; kesim ortamı, hayvanların bağırsak içeriği, enfekte personel ve kullanılan alet ekipmanlar yoluyla olabileceği bildirilmiştir (de Boer ve ark., 2009). MRSA, et işleme tesislerinde, üretimin herhangi bir aşamasında bulunabilmektedir (Snyder, 2012). Meydana gelen kontaminasyon, et endüstrisi için çözümü zor bir problem oluşturmaktadır (Nnachi ve ark., 2014).

ABD'de yapılan bir çalışmada; 120 perakende et örneğinden 47'sinde (%39.2) *S. aureus*, bunların 6'sında (%12.7) MRSA tespit edilmiştir (Pu ve ark., 2009). Hollanda'da yapılan bir çalışmada 79 perakende et örneğinin 36'sından (%46) *S. aureus* suşu izole edilmiş, bunların da 2'si (%5.5) metisiline dirençli bulunmuştur (Van Loo ve ark., 2007). Kanada'da yapılan bir çalışmada, 402 adet perakende et

örneğinin 31'inden (%7.7) MRSA tespit edilmiştir (Weese ve ark., 2010b). Nnachi ve ark. (2014), 77 et örneğinin 11'inde (%14,3); Boost ve ark (2013) 380 sığır eti örneğinin 17'sinde (%4,4) MRSA saptamışlardır.

Tavuk ve hindi etlerinde MRSA türlerinin prevalansı ile ilgili yapılan çalışmalarda ise; de Boer ve ark. (2009) 520 tavuk eti örneğinin 83'ünde (%16) ve 116 hindi eti örneğinin 41'inde (%35,3); Boost ve ark. (2013) 455 tavuk eti örneğinin 31'inde (%6,8) MRSA tespit etmişlerdir.

2.2.5.2. Süt ve Süt Ürünleri

Uygun olmayan şartlarda üretilen süt ve süt ürünleri gıda zehirlenmeleri ve enfeksiyonlara neden olan riskli gıda grupları arasında yer almaktadır. Çiğ sütte ve süt işletmeleri ortamında MRSA'nın bulunması, çiftlik çalışanları, veteriner hekimler ve çiftlik hayvanları için potansiyel risk oluşturmaktadır (Haran ve ark., 2012). Bunun yanı sıra MRSA kaynaklı meydana gelen mastitis vakalarının hem hayvan ve halk sağlığı için risk teşkil ettiği, hem de süt sektörü ekonomisine büyük zarar verdiği bilinmektedir (Kireççi, 2009). Süt sığırlarında MRSA bulunması nedeniyle tank sütleri MRSA kontaminasyonu için rezervuar olarak kabul edilebilmektedir (Spohr ve ark., 2011; Vicca ve ark., 2008). Çiğ süt, tüketim öncesi genellikle ısıtma işlemine tabi tutulduğundan sütlerde MRSA gıda güvenliği yönünden daha az risk taşımaktadır. Ancak çiftliklerde, çiftçiler ve aileleri çiğ süt ve çiğ süttten üretilen ürünlerin tüketimine bağlı olarak MRSA'ya maruz kalabilmektedirler (Oliver ve ark., 2009).

Çiğ süttün yanı sıra MRSA ile kontamine çiğ süttten yapılan peynirlerin de patojenin insanlara bulaşmasına sebep olduğu bildirilmektedir (Normanno ve ark., 2007; Haran ve ark., 2012). Peynir gibi süt ürünlerinde bakteriler ısıtma veya işleme yoluyla elimine edilemediklerinden, bu işlemler MRSA'nın yayılmasında etkili olabilmektedir (Wendlandt ve ark., 2013). Özellikle yöresel peynirlerin MRSA için kaynak olabileceği belirtilmiştir (Shanekbandi ve ark., 2014). Yapılan çalışmalar sonucu inek sütü ile mozzarella ve pecorino gibi çeşitli peynirlerde MRSA tespit edilebilmiştir (Normanno ve ark., 2005). Olgunlaştırma periyodu tamamlanmadan tüketilen peynirlerde ise prevalansı düşük bile olsa MRSA'nın insanlara bulaşma riski bulunmaktadır (Haran ve ark., 2012). Bunların yanı sıra yetersiz pastörizasyon,

uygun olmayan hijyen koşulları ve MRSA ile kolonize olmuş gıda işleyicileri de süt ve süt ürünlerinin kontaminasyonuna neden olabilmektedir (Kamal ve ark., 2013).

MRSA'nın çeşitli malzemeler üzerinde biyofilm oluşturma özelliği, kurumaya ve değişik koşullara karşı kendini korumasına imkan vermekte (Götz, 2002), böylece süt sağım makinaları veya diğer yüzeyler yoluyla inekten ineğe bulaşma riski taşımaktadır. İnsan ve çiğ süt arasındaki teması azaltan otomatik sağım uygulamalarına olan eğilime rağmen, sağımhanelerde hava yoluyla da yayılması nedeniyle inekler ve çalışanlar kontaminasyon riski altında kalabilmektedir (Roberson ve ark., 1994).

Süt ve süt ürünlerinde MRSA prevalansı, ülkeler arası hatta aynı ülkenin farklı bölgelerinde bile önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Çoğu Afrika ve Asya ülkesinde yüksek MRSA prevalansı görülmekle beraber Avrupa ülkelerinde ise genel olarak düşük bulunmuştur. ABD ve Kanada'da ise sıfıra yakın MRSA oranları rapor edilmiştir (Pexara ve ark., 2013). Yapılan bazı çalışmalarda ise Haran ve ark. (2012) 150 tank süt örneğinin 2'sinde (%1.33); Virgin ve ark. (2009) 542 tank sütü örneğinin 7'sinde (%1.29); Vyletelova ve ark. (2011) 703 tank sütü örneğinin 20'sinde (%2.84) MRSA saptamışlardır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Çalışma Grubunu Oluşturan Örnekler

Bu çalışmanın gerecini oluşturan Balıkesir il merkezindeki sığır çiftliklerinden toplanan tank sütleri ile açık semt pazarlarından ve çeşitli marketlerden satın alınan farklı süt ürünü örnekleri Tablo 3.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan örneklerin sayısal dağılımları.

Örnek cinsi	Örnek sayısı
Tank Sütü	50
Yoğurt	15
Beyaz Peynir	40
Kaşar	10
Tulum Peyniri	15
Mihaliç	12
Sepet Peyniri	10
Lor Peyniri	13
Tereyağı	10
TOPLAM	175

3.1.2. Kullanılan Cihaz, Malzeme ve Kimyasallar

- pH metre (Hanna Instruments)
- Otoklav (Hirayama HV-85 L)
- Buzdolabı (Bosch)
- -80°C Derin Dondurucu (NuAire NU-9668E)
- İnkübatör; 37±1°C (Memmert)
- Biyogüvenlik Kabini (Metisafe Class II)

- Hassas terazi (0,01-3200 g) (Kern PLJ)
- Stomacher (IUL instruments) ve Stomacher poşetleri
- Dispenser (5-50 ml Dijital)
- Spatül, makas, pens, bisturi
- Vorteks mikser (Stuart Biocote SA8)
- Cam tüpler ve vida kapaklı şişeler
- Petri kutuları; 90-100 mm çapında, steril (ISOLAB)
- Tek kullanımlık steril plastik öze (LP Italiana)
- 0.5 McFarland (Remel)
- Gliserol
- Sodyum klorür (Tekkim TK.170540)
- Distile su cihazı (GFL 2004)
- Santrifüj (Hettich Universal 320R)
- Eppendorf tüpleri
- Otomatik pipet seti (2-20 ml, 10-100 ml, 100-1000ml, 1000-5000ml) (Biohit)
- Kanlı agar hazır besiyeri
- DNA ekstraksiyon kiti (MagNA Pure LC Total Nucleic Acid Isolation Kit, Roche, Almanya)
- *Taq DNA polymerase* kiti (ThermoFisher Scientific, USA)
- Taq Buffer with KCl
- dNTP Mix
- MgCl₂
- Water (nuclease-free)
- Agaroz jel
- GelRed boyası (Biotium, USA)
- Gel loading dye (Sigma, USA)
- PCR cihazı (PTC 100 Thermal Cycler, MJ Research Inc., USA)
- Elektroforez sistemi (EC350, EC Apparatus Corporation, USA)
- UVgörüntüleme sistemi (White/2UV, UVP, USA)

3.1.3. Besiyerleri

3.1.3.1. Mueller-Hinton Broth (Oxoid CM0405)

Bileşim	g/litre
Beef, dehydrated infusion from	300.0
Cazein Hydrolysate	17.5
Starch	1.5

Şekil 3.1. Mueller-Hinton Broth bileşimi ve miktarı.

Besiyerinden 21 g alındı ve üzerine 1000 ml distile su eklenerek kaynar su banyosunda ($95\pm 1^\circ\text{C}$) tamamen çözdürüldü. Otoklavda 121°C 'de 15 dakika sterilize edildi.

3.1.3.2. BBL CHROMagar MRSA (CHROMagar MR502)

Bileşim	g/litre
Agar	15.0
Peptones and yeast extract	40.0
Salts	25.0
Chromogenic mix	2.5

Şekil 3.2. BBL CHROMagar MRSA bileşimi ve miktarı.

Besiyerinden 82.5 g alınarak 1000 ml distile su içine karıştırıldı. Su banyosunda 100°C 'yi geçmeyecek şekilde ısıtılırken homojenize olması için iyice çalkalandı. $45-50^\circ\text{C}$ 'ye kadar soğutulup, 20 ml steril saf suda hazırlanan CHROMagar MRSA supplement (SU620)'den 1 ml ilave edildi. Karıştırılarak steril petri kutularına yaklaşık 12.5'er mL döküldü.

3.1.3.3. Brain Heart Agar (Merck 1.13825)

Bileşim	g/litre
Culture substrate (brain-heart extract and peptones)	27.5
D(+)-glucose	2.0
sodium chloride	5.0
di-sodium hydrogen phosphate	2.5
agar-agar	15.0

Şekil 3.3. Brain Heart Agar bileşim ve miktarı.

Dehidre besiyerinden 52 g alındı ve üzerine 1000 ml distile su eklenerek kaynar su banyosunda ($95\pm 1^{\circ}\text{C}$) tamamen çözdürüldü. Otoklavda 121°C 'de 15 dakika sterilize edildi ve steril petri kutularına yaklaşık 12.5'er mL döküldü.

3.1.3.4. Mueller Hinton Agar (Oxoid CM0337)

Bileşim	g/litre
Beef, dehydrated infusion from	300.0
Casein hydrolysate	17.5
Starch	1.5
Agar	17.0

Şekil 3.4. Mueller Hinton Agar bileşim ve miktarı.

Dehidre besiyerinden 38 g alındı ve üzerine 1000 ml distile su eklenerek kaynar su banyosunda ($95\pm 1^{\circ}\text{C}$) tamamen çözdürüldü ve 121°C 'de 15 dk otoklavda sterilize edildikten sonra 50°C 'ye kadar soğutuldu ve besiyeri steril petrilere döküldü.

3.1.3.5. Brain-Heart Infusion Broth (Merck 110493)

Bileşim	g/litre
Nutrient substrate (brain extract, heart extract and peptones)	27.5
D(+)-glucose	2.0
Sodium chloride	5.0
Disodium hydrogen phosphate	2.5

Şekil 3.5. Brain-Heart Infusion Broth bileşim ve miktarı.

Dehidre besiyerinden 37 g alındı ve üzerine 1000 ml distile su eklenerek kaynar su banyosunda ($95\pm 1^{\circ}\text{C}$) tamamen çözdürüldü. Otoklavda 121°C 'de 15 dk sterilize edildikten sonra 50°C 'ye kadar soğutuldu ve steril petrilere döküldü.

3.1.3.6. Nutrient Agar (Oxoid CM0003)

Bileşim	g/litre
Lab-Lemco' powder	1.0
Yeast extract	2.0
Peptone	5.0
Sodium Chloride	5.0
Agar	15.0

Şekil 3.6. Nutrient Agar bileşim ve miktarı.

Dehidre besiyerinden 28 g alındı ve üzerine 1000 ml distile su eklenerek kaynar su banyosunda ($95\pm 1^{\circ}\text{C}$) tamamen çözdürüldü. Otoklavda 121°C 'de 15 dk sterilize edildikten sonra 50°C 'ye kadar soğutuldu ve steril petrilere döküldü.

3.1.3.7. Trypcase Soy Agar (Biomérieux 43011)

Bileşim	g/litre
Peptone from casein	15.0
Peptone from soymeal	5.0
NaCl	5.0
Agar-agar	15.0

Şekil 3.7. Trypcase Soy Agar bileşim ve miktarı.

Dehidre besiyerinden 40 g alındı ve üzerine 1000 ml distile su eklenerek kaynar su banyosunda ($95\pm 1^{\circ}\text{C}$) tamamen çözdürüldü. Otoklavda 121°C 'de 15 dk sterilize edildikten sonra 50°C 'ye kadar soğutuldu ve steril petrilere döküldü.

3.1.4. Antibiyotik Diskleri

Tablo 3.2. Antibiyotik dirençlik testi için kullanılan antibiyotik diskleri.

Antibiyotik	Konsantrasyon	Üretici Firma
Vankomisin	30 µg	Oxoid CT0058B
Ampisilin	10 µg	Oxoid CT0003B
Penisilin G	10 µg	Oxoid CT0043B
Gentamisin	10 µg	Oxoid CT0024B
Eritromisin	5 µg	Oxoid CT0066B
Sülfametoksazol- trimetoprim	25 µg	Oxoid CT0052B
Tetrasiklin	30 µg	Oxoid CT0054B
Siprofloksasin	5 µg	Oxoid CT0425B
Kloramfenikol	30 µg	Oxoid CT0013B
Sefoksitin	30 µg	Oxoid CT0119B
Oksasilin	1 µg	Oxoid CT0159B

3.1.5. İdentifikasyon Testleri

Bu tez çalışmasında elde edilen tipik kolonilere Staphtech Plus Lateks Aglütinasyon test kiti (Oxoid-DR0850) ile Slidex MRSA Lateks Aglütinasyon testi (bioMérieux-73117) uygulanmıştır.

3.1.6. Referans Suşlar

Çalışmada kontrol amacıyla, *S. aureus* (ATCC 25923) ve MRSA (ATCC 43300 *mecA* pozitif ve ATCC 33592 *mecA* negatif standart suşlar) referans suşları Microbiologics Inc. (Saint Cloud, ABD)'den temin edilmiştir

3.1.7. Primerler

nuc geni için; nuc 1 (5'-GCGATTGATGGTGATACGGTT-3') ve nuc 2 (5'-AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC-3') primerleri kullanılırken, *mecA* geni için; mecA 1 (5'-AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC-3') ve mecA 2 (5'-AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC-3') primerleri kullanılmıştır (Maes ve ark., 2002).

3.2. Yöntem

3.2.1. Örneklerin Analize Alınması

Tank sütü örnekleri 200 ml steril vida kapaklı şişelere, süt ürünü örnekleri ise 200'er gram olmak üzere steril stomacher poşetlerine alındı ve soğuk zincir altında laboratuvara getirilerek aynı gün analizleri yapıldı.

3.2.2. Mikrobiyolojik Analizler

3.2.2.1. MRSA İzolasyonu

Analize alınan her bir tank sütü ve süt ürünü örneğinden 25 ml/g tartıldı ve üzerine %6.5 NaCl içeren 225 mL Mueller-Hinton Broth (Oxoid CM0405) ilave edilerek 2 dakika stomacherde (IUL) homojenize edildi. Homojenat 35±2 °C'de 16-20 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda ön zenginleştirme besiyerinden 10 µl alınarak CHROMagar MRSA (CHROMagar MR502) besiyerine yayıldı ve 35±2

°C’de 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda üretici firma tarafından belirtildiği gibi petrilerde görülen pembeden leylak rengine dönük koloniler MRSA şüpheli olarak değerlendirildi. Pembeden leylak rengine dönüşen kolonilerin bulunmadığı petriler 24 saat daha inkübasyona bırakılarak, tekrar değerlendirildi (EFSA, 2009). Gelişen kolonilere fenotipik olarak koagülaz pozitif stafilokok ve MRSA varlığını doğrulamak için Koagülaz testi (Staphylect Plus; Oxoid-DR0850) ile clumping faktörü, protein A ve kapsüler polisakkaritlerin tespiti için Slidex latex aglütinasyon testi (bioMérieux-73117) uygulandı.

3.2.2.2. Staphtech Plus Lateks Aglütinasyon Testi (Oxoid-DR0850)

CHROMagar MRSA’da üreyen pembeden leylak rengine dönük şüpheli kolonilerden bir öze yardımcı ile 3-5 adet seçilerek alındı ve Staphtech Plus Lateks Aglütinasyon test kiti (Oxoid-DR0850) nin reaksiyon kartı üzerine transfer edildikten sonra üzerine 1 damla test reaktifi damlatıldı. Daha sonra öze yardımcıyla karıştırıldı ve kümeleşmenin (partiküller halinde toplanma) oluşması koagülaz pozitif stafilokok olarak değerlendirildi.

3.2.2.3. MRSA Lateks Aglütinasyon Testi (bioMérieux-73117)

3.2.2.3.1. PBP2a Ekstraksiyon Prosedürü

Petride üreyen pembeden leylak rengine dönük koloniler hazır kanlı agar besiyerlerine çizilerek 33-37°C’de 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda üreyen koloniler lateks teste tabi tutuldu. Üretici firmanın talimatlarına göre MRSA Lateks Aglütinasyon Testi aşağıda belirtilen prosedüre göre yapıldı.

1. Bir mikrosantrifüj tüpüne 4 damla ekstraksiyon reaktifi 1 (R3) eklendi.
2. İki 1.5 µl steril mikrobiyoloji özesinin (1 mm iç çaplı) içi izole kolonilerle tamamen dolduruldu ve agar yüzeyine sürerek aşırı miktarı uzaklaştırıldı. (Test yapmak için gereken koloni miktarı koloni çap ölçümüne bağlı olarak (0.5mm–2.5 mm) 5 ile 30 arasında değişmektedir). R3 reaktifi içeren mikrosantrifüj tüpüne içi tamamen bakteri dolu öze koyuldu ve şiddetlice tüm hücreler özeden ayrılınca kadar homojenize edildi. (Mikrosantrifüj tüpünde toplam hücre sayısı 1.5×10^9 - 4×10^9 hücreye karşılık gelmelidir.)

3. Tüpler 3 dakika boyunca 95-100 °C'de kaynayan su banyosuna koyuldu.
4. Mikrosantrifüj tüpleri su banyosundan alındı ve oda ısısına soğutuldu.
5. 1 damla ekstraksiyon reaktifi 2 (R4) tüpe konuldu ve homojenize edildi.
6. 5 dakika süreyle 1500 g'de santrifüjlendi. (15 cm rotasyon çapında 3000 rpm veya 4.5 cm rotasyon çapında 4500 rpm). Test için numune olarak üstte kalan kısım kullanıldı.

3.2.2.3.2. Lateks Aglütinasyon Prosedürü

1. Kullanmadan önce reaktifler oda ısısına (18-25 °C) getirildi.
2. Lateks reaktifleri tekrar süspansiyon edildi. Damlalıkta kalan hava kabarcıkları uzaklaştırıldı.
3. Test edilecek her bir numune için, duyarlılaştırılmış lateks (R1) için bir ve Negatif kontrol lateks (R2) testi için başka bir daire işaretlendi.
4. Bir damla duyarlılaştırılmış lateks (R1) test dairesine ilave edildi. Üzerine 50 µl numune eklenerek karıştırıcı çubuk yardımı ile iyice karıştırılarak dairenin tüm yüzeyine yayıldı. Reaktif damlaları dağıtılırken damlalık şişesinin dik pozisyonda tutulmasına dikkat edildi.
5. Benzer şekilde, bir damla Negatif kontrol lateks (R2) kontrol dairesine konuldu. Sonra 50 µl numune ilave edilerek karıştırıcı çubuk ile iyice karıştırılarak dairenin tüm yüzeyine yayıldı.
6. Test kartı elle döndürülüp karıştırılarak aglütinasyon reaksiyonu başlanıp başlanmadığı gözlemlendi.

3.2.2.3.3. Sonuçların Okuma ve Değerlendirilmesi

Duyarlılaştırılmış lateks (R1) ile aglütinasyon görülmesi ancak Negatif kontrol lateks (R2) ile gözlenmemesi: PBP2a pozitif (MRSA),

Her iki lateks reaktifinde de aglütinasyon veya kumlanma gözlenmemesi: PBP2a negatif (MSSA),

Negatif kontrol lateksi (R2) ile aglütinasyon görülmesi: Belirsiz olarak yorumlandı.

3.2.3. İzolatların Muhafazası

Çalışma kapsamında lateks testler sonunda koagülaz pozitif stafilokok ve MRSA olarak değerlendirilen izolatlar öncelikle Brain Heart Infusion Broth besiyerinde 35 ± 2 °C’de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda eppendorf tüplerine 800 µl bakteri kültürü ve üzerine 200 µl steril gliserol ilave edilerek vortexlendi ve kullanılıncaya kadar -80 °C derin dondurucuda muhafaza edildi.

3.2.4. İzolatların Canlandırılması

-80 °C’de muhafaza edilen izolatlar, yeniden canlandırılmak üzere 10 ml Brain Heart Infusion Broth besiyeri içeren tüplere ilave edildi. 35 ± 2 °C’de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda sıvı besiyerinden bir öze dolusu alınarak Mueller-Hinton Agar’a çizim yapıldı. 35 ± 2 °C’de 24 saat inkübe edildi.

3.2.5. Moleküler İdentifikasyon

Fenotipik olarak koagülaz pozitif stafilokok ve MRSA olarak değerlendirilen suşların doğrulanması amacıyla Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction; PCR) tekniği kullanıldı. Bu amaçla öncelikle izolatların ticari bir DNA ekstraksiyon kiti (MagNA Pure LC Total Nucleic Acid Isolation Kit, Roche, Almanya) ile DNA ekstraksiyonları yapıldı. PCR koşulları optimize edildikten sonra *S. aureus*’a özgü *nuc* ve MRSA’ya özgü *mecA* gen sekansını oluşturan primer çiftleri kullanılarak amplifikasyon işlemleri yapıldı. Amplifikasyon işlemleri sonrası elde edilen PCR ürünleri %1,5’luk agaroz jel elektroforezde yürütülerek, bu genlere özgü DNA bantları UV transiluminatör yardımıyla görüntülenerek değerlendirildi.

3.2.5.1. DNA Ekstraksiyonu

Eppendorf tüplere konulan hücre kolonileri üzerine steril ultra saf su (1 ml) konuldu. Örnekler 5000 RCF’de 10 dakika santrifüj edildi ve santrifüj işlemi sonrası eppendorf tüplerdeki süpernatant dökülerek, eppendorf tüpün dibinde birikmiş olan pelet üzerine liziz buffer (200 µl) eklendi. Her bir örneğe lyozym eklenerek, örnekler 37 °C’de 30 dakika bekletildi. Daha sonra, ticari bir kit (MagNA Pure LC

Total Nucleic Acid Isolation Kit, Roche, Almanya) kullanılarak ekstraksiyon işlemi, üretici firma talimatlarına göre gerçekleştirildi.

3.2.5.2. Miks Hazırlama

Taq DNA polymerase (ThermoFisher Scientific, USA) kiti kullanılarak miks hazırlandı (Tablo 3.3).

Primer olarak *nuc* geni için; *nuc* 1 (5'-GCGATTGATGGTGATACGGTT-3') ve *nuc* 2 (5'-AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC-3') dizilimi kullanıldı. *mecA* geni için ise; *mecA* 1 (5'-AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC-3') ve *mecA* 2 (5'-AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC-3') primerleri kullanıldı (Maes ve ark., 2002).

Tablo 3.3. *nuc* geni için hazırlanan miks.

10X Taq Buffer with KCl	5 µl
dNTP Mix, 2.5 mM each	5 µl
25 mM MgCl ₂	4 µl
<i>nuc</i> 1	0,8 µl (0,4 µM)
<i>nuc</i> 2	0,8 µl (0,4 µM)
Taq DNA Polymerase	0,25 µl
Water, nuclease-free	29,15 µl
Template DNA	5 µl
Total volume	50 µl

Tablo 3.4. *mecA* geni için hazırlanan miks.

10X Taq Buffer with KCl	5 µl
dNTP Mix, 2.5 mM each	5 µl
25 mM MgCl ₂	4 µl
<i>mecA</i> 1	0,8 µl (0,4 µM)
<i>mecA</i> 2	0,8 µl (0,4 µM)
Taq DNA Polymerase	0,25 µl
Water, nuclease-free	29,15 µl
Template DNA	5 µl
Total volume	50 µl

3.2.5.3. DNA Amplifikasyon Aşaması

94°C’de 10 dakika (başlangıç denatürasyonu), toplamda 23 siklus (94°C 1 dakika (denatürasyon), 51°C’de 1 dakika (bağlanma), 72°C’de 2 dakika (uzatma) ve 72°C’de 5 dakika final uzatmadan oluşmaktadır.

3.2.5.4. Elektroforez ve Jel Görüntüleme

%1.5 hazırlanan agaroz içerisine GelRed (Biotium, USA) boyası katıldı. Katılan jel, elektroforez tankına yerleştirildi ve jel üzerindeki kuyucuklara 1 µl boya (Gel loading dye, Sigma, USA) + 5 µl örnek karışımı yüklenerek, 90 V’da 75 dakika elektroforez işlemi yapıldı. Elektrofroz işlemi sonrası görüntüleme, UV-transilluminator’de yapıldı. 279 bp uzunluğundaki örnekler *S. aureus* pozitif olarak kabul edilirken, 533 bp uzunluğundaki örnekler MRSA pozitif olarak kabul edildi.

3.2.6. Antibiyotik Dirençliliğinin Belirlenmesi

Fenotipik olarak MRSA olduğu doğrulanan izolatlara Clinical and Laboratories Standards Institute (CLSI, 2012; 2014)’nın direktifleri doğrultusunda Kirby-Bauer disk diffüzyon yöntemi kullanılarak antibiyotik dirençlilik testi yapıldı. İzolatların canlandırma işlemi PCR aşamasında anlatıldığı şekilde yapıldıktan sonra canlandırma işlemi yapılan brothtaki bakteri kültürü %0.9’luk NaCl içinde 0.5 McFarland (1×10^8 kob/ml) bulanıklığına eşit olacak şekilde hazırlandı. Hazırlanan bakteri süspansiyonlarına steril pamuk swab daldırılıp tüp içerisinde süzülerek Trypcase Soy Agar (TSA; Biomerieux 43011) yüzeyine yayıldı. Besiyeri kuruduktan sonra antibiyotik diskleri agar yüzeyi ile temas edecek şekilde ve aralarındaki mesafe 24 mm’den yakın olmayacak biçimde petrilere yerleştirildi. Daha sonra 35 ± 2 °C’de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda her bir izolat için disk etrafındaki inhibisyon zon çapları ölçülerek CLSI’nın belirlediği standartlar esas alınarak değerlendirildi (Tablo 3.5.)

Tablo 3.5. CLSI (2012; 2014)'ya göre *Staphylococcus* spp. için zon çapları (mm).

ANTİBİYOTİKLER	DUYARLI	ORTA DUYARLI	DİRENÇLİ
Vankomisin	≥15	-	<15
Ampisilin	≥29	-	≤28
Penisilin G	≥29	-	≤28
Gentamisin	≥15	13-14	≤12
Eritromisin	≥23	14-22	≤13
Sulfametoksazol trimetoprim	≥16	11-15	≤10
Tetrasiklin	≥19	15-18	≤14
Siprofloksasin	≥21	16-20	≤15
Kloramfenikol	≥18	13-17	≤12
Sefoksitin	≥22	-	≤21
Oksasilin	≥13	11-12	≤10

4. BULGULAR

Bu çalışmada, Balıkesir ilinde bulunan çiftliklerden toplanan 50 tank sütü ile açık semt pazarlarından ve çeşitli marketlerden satın alınan 125 süt ürünü (15'i yoğurt, 40'ı beyaz peynir, 10'u kaşar peyniri, 15'i tulum peyniri, 12'si mihaliç peyniri, 10'u sepet peyniri, 13'ü lor peyniri ve 10'u tereyağı) örneği kullanıldı. Alınan örnekler öncelikle fenotipik olarak koagülaz pozitif stafilokok ve MRSA yönünden analiz edildi. Pozitif olarak değerlendirilen izolatların PCR tekniği ile doğrulaması yapıldı. Fenotipik olarak MRSA olduğu düşünülen izolatların 11 farklı antibiyotiğe karşı dirençliliği tespit edildi.

4.1. Fenotipik Bulgular

4.1.1. Koagülaz Pozitif Stafilokok ve MRSA İdentifikasyonu

Çalışmada kullanılan örneklerden yapılan ekimler sonucu 175 örnekten 33'ünde CHROMagar'da üreyen pembeden leylak rengine dönük koloniler MRSA şüpheli olarak değerlendirmeye alındı. Bu şüpheli izolatların 20'si tank sütünden, 3'ü beyaz peynirden, 3'ü kaşar peynirden, 3'ü tulum peynirinden, 2'si mihaliç peynirinden, 1'i sepet peynirinden ve 1'i de tereyağından elde edilmiştir.

Bu kolonilere yapılan Staphtech Plus Lateks Aglütinasyon testi sonucunda 26 izolat koagülaz pozitif stafilokok olarak değerlendirilmiştir. Bunların da 16'sı tank sütünden, 2'si beyaz peynirden, 3'ü kaşar peynirinden, 2'si tulum peynirinden, 2'si mihaliç peynirinden, 1'i de sepet peynirinden elde edilen izolatlardır. Yoğurt, tereyağı ve lor peyniri örneklerinde koagülaz pozitif stafilokok tespit edilememiştir.

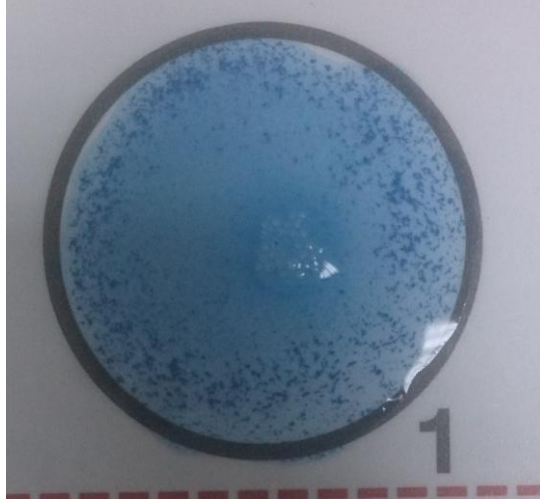
Yapılan Slidex MRSA Lateks Aglütinasyon testi sonucunda ise 3 izolat MRSA olarak değerlendirilmiştir. Bunların 2'si tank sütünden, 1'i ise tulum peynirinden elde edilen izolatlardır.

Tablo 4.1. Lateks test sonuçlarına göre koagülaz pozitif stafilokok ve MRSA izolatlarının ürün düzeyinde dağılımı.

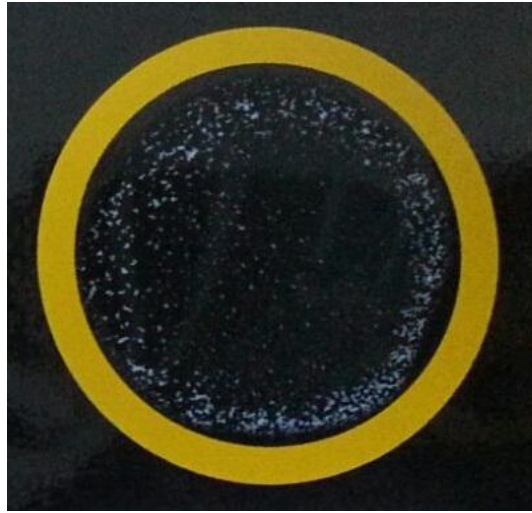
Örnek Cinsi	Örnek Sayısı (n)	Koagülaz Pozitif Stafilokok	%	MRSA	%
Tank Sütü	50	16	32.0	2	4
Yoğurt	15	-	-	-	-
Beyaz Peynir	40	2	5.0	-	-
Kaşar Peyniri	10	3	30.0	-	-
Tulum Peyniri	15	2	13.3	1	6.6
Mihaliç	12	2	16.6	-	-
Sepet Peyniri	10	1	10.0	-	-
Lor Peyniri	13	-	-	-	-
Tereyağı	10	-	-	-	-
TOPLAM	175	26	14.8	3	1.7



Şekil 4.1. CHROMagar'da üreyen MRSA şüpheli kolonilerin görüntüsü.



Şekil 4.2. Staptech Plus Lateks Aglütinasyon testi pozitiflik görüntüsü.



Şekil 4.3. Slidex MRSA Lateks Aglütinasyon testi pozitiflik görüntüsü.

4.2. Genotipik Bulgular

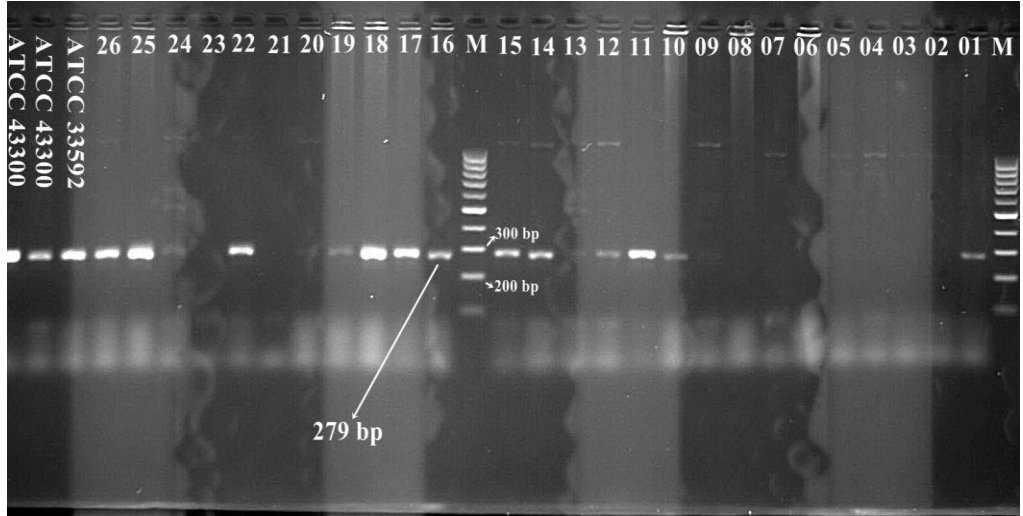
4.2.1. *S. aureus* ve MRSA İzolatlarının PCR Sonuçları

Fenotipik olarak koagülaz pozitif stafilokok olduğu tespit edilen 26 izolatın 17'si (%65.3) PCR tekniği ile *S. aureus* olarak doğrulanmıştır. Diğer 9 örnekte ise *nuc* genine spesifik nükleik asitler tespit edilememiştir.

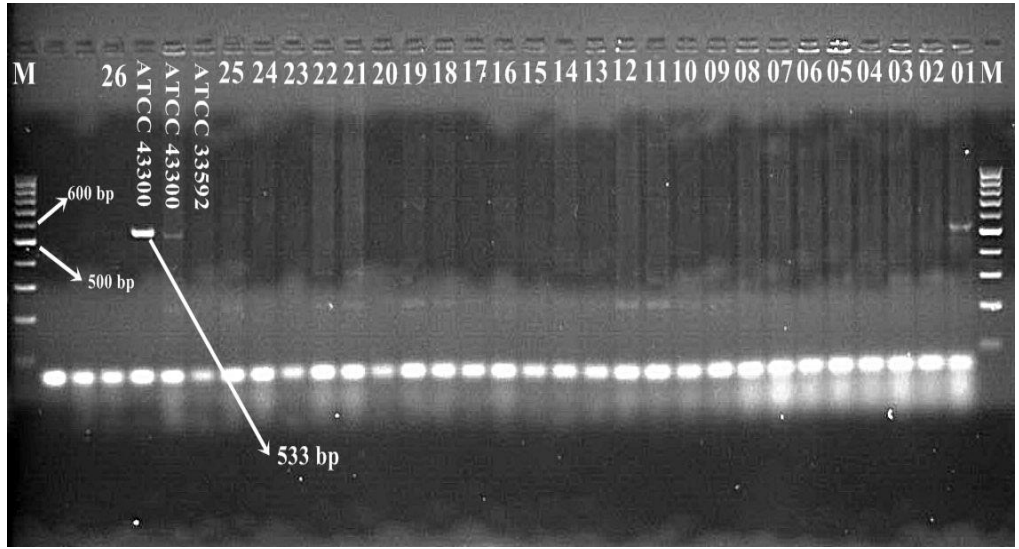
Tüm izolatlara *mecA* genine spesifik primerler kullanılarak yapılan PCR analizinde ise, 17 *S. aureus* izolatından 1'inin (%5.88) *mecA* genine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.2. PCR sonuçlarına göre *S. aureus* ve MRSA izolatlarının ürün düzeyinde dağılımı.

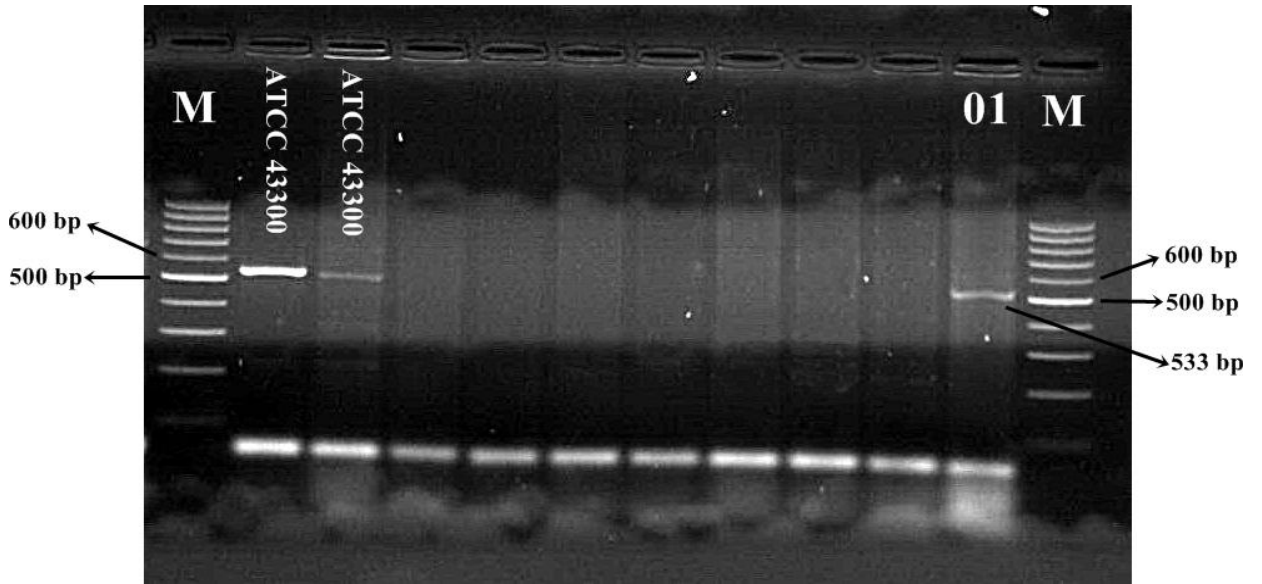
Örnek Cinsi	<i>S. aureus</i>	%	MRSA	%
Tank Sütü	14	87.5	-	-
Yoğurt	-	-	-	-
Beyaz Peynir	1	50	-	-
Kaşar Peyniri	-	-	-	-
Tulum Peyniri	1	50	1	100
Mihaliç	-	-	-	-
Sepet Peyniri	1	100	-	-
Lor Peyniri	-	-	-	-
Tereyağı	-	-	-	-
TOPLAM	17	65.3	1	33.3



Şekil 4.4. *nuc* genine göre *S. aureus* olarak doğrulanan izolatların PCR görüntüsü. (M: Marker, ATCC 33592 ve ATCC 43300: Pozitif Kontrol Suşu, 1-9-10-11-12-13-14-15-16-17-18-19-20-22-24-25-26: *S. aureus* Pozitif (279 bp), 2- 3-4-5-6-7-8-21 ve 23: *S. aureus* negatif.)



Şekil 4.5. *mecA* geni için tüm izolatlar için yapılan PCR görüntüsü. (M: Marker, ATCC 43300: Pozitif Kontrol Suşu, ATCC 33592: Negatif Kontrol Suşu, 1: *mecA* pozitif 533 bp, 2-3-4-5-6-7-8-9-10-11-12-13-14-15-16-17-18-19-20-21-22-23-24-25-26:*mecA* negatif).



Şekil 4.6. *mecA* genine göre MRSA olarak doğrulanan suş ve referans suşların PCR görüntüsü. (M: Marker, ATCC 43300: Pozitif Kontrol Suşu, 1:*mecA* pozitif 533 bp).

4.3. Antibiyotik Dirençlilik Sonuçları

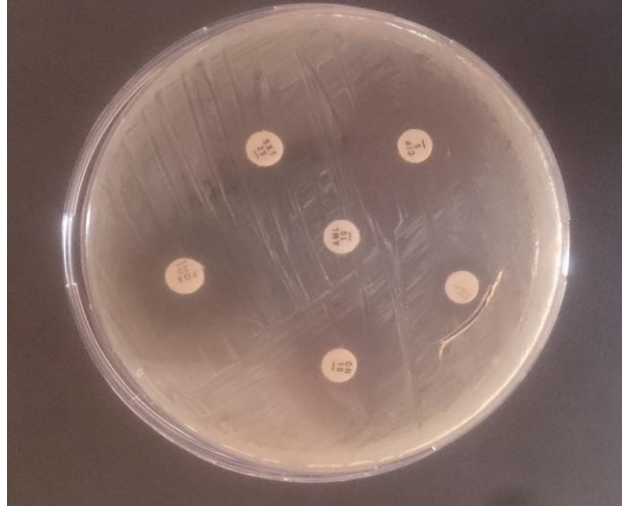
Çalışma kapsamında fenotipik olarak MRSA olduğu tespit edilen 3 izolat, yapılan agar disk difüzyon yöntemine göre 11 farklı antibiyotiğe karşı dirençlilikleri yönünden test edilmiş olup, bunlara ilişkin sonuçlar Tablo 4.3.'de gösterilmiştir.

İzolatların antibiyotik dirençlilik düzeyleri CLSI (2012; 2014)'ye göre değerlendirilmiştir.

Tablo 4.3. MRSA izolatlarının çalışmada kullanılan antibiyotiklere dirençlilik düzeyleri.

İzolat No	Antibiyotik Diskleri										
	VA	AMP	P	CN	E	SXT	TE	CIP	C	FOX	OX
1	R	R	R	S	R	R	R	I	R	R	R
2	S	R	R	S	I	R	S	S	S	R	R
3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

(S: Duyarlı, I: Orta Duyarlı, R: Dirençli, VA: Vankomisin, P: Penisilin, CN: Gentamisin, E: Eritromisin, AMP: Ampisilin, SXT: Sulfametoksazol trimetoprim, TE: Tetrasiklin, CIP: Siprofloksasin, C: Kloramfenikol, FOX: Sefoksitin, OX: Oksasilin)



Şekil 4.7. MRSA izolatlarının disk difüzyon testi görüntüsü.

Tablo 4.3.'de görüldüğü gibi antibiyotik dirençliliği testleri sonucunda MRSA izolatlarından 2'si vankomisine, 1'i gentamisine, 2'si eritromisine, 2'si tetrasikline, 1'i siprofloksasine ve 2'si kloramfenikole dirençli bulunurken, tamamı ampisilin, penisilin, sulfametoksazol trimetoprim, sefoksitin ve oksasiline dirençli bulunmuştur. İzolatların 1'i eritromisine, 1'i de siprofloksasine orta duyarlı olarak tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA

Süt, yapısında insan yaşamı için gerekli bütün makro ve mikro besin öğelerini barındırabilen zengin bir gıdadır. Süt ve süt ürünleri, özellikle protein, karbonhidrat, kalsiyum, fosfor, A vitamini ile bazı B vitaminleri (özellikle riboflavin ve B12) açısından iyi bir kaynak olarak değerlendirilmektedir. Sütten elde edilen başta peynir, yoğurt, tereyağı olmak üzere süt ürünleri insan hayatında vazgeçilmez gıdalar arasında yer almaktadır. Süt ve süt ürünleri bu kadar çok sayıda ve önemli fonksiyonları olan besin öğelerini yapısında bulundurması nedeniyle insanlarda hastalığa neden olabilen zararlı mikroorganizmaların üremesi açısından elverişli bir ortam oluşturmaktadır.

S. aureus, neden olduğu enfeksiyonlar ile dünya çapında yüksek morbidite ve mortaliteye neden olması ile öne çıkmıştır (Alozhairy, 2011). Bakterinin günümüzde kullanılan birçok antibiyotiğe hızla direnç kazandığı bilinmektedir. Özellikle MRSA suşları, dünyanın birçok bölgesinde hızla artan prevalansı ile dikkat çekmektedir (Ito ve ark., 2003). Metisilin dirençli suşlar genellikle çoklu direnç özelliğine sahip oldukları için bu durum neden oldukları enfeksiyonların tedavisinde önemli bir sorun oluşturmaktadır. Dirençli suşlarla kontamine olmuş gıdaların ise insanlar tarafından işlenmesi ve tüketilmesi ile insanlara bulaşma riski bulunmaktadır (Ferreira ve ark., 2014). Bu nedenle metisilin direnç genlerini taşıyan *S. aureus* izolatları ile kontamine gıdaların insan sağlığı açısından büyük bir risk oluşturma potansiyeline sahip olduğu söylenebilmektedir.

Ülkemiz, süt endüstrisi yönünden dünyanın önde gelen ülkelerinden olup TÜİK verilerine göre, yılda 18.498.630 ton çiğ süt elde edildiği ve 632.850 ton peynir, 1.101.253 ton yoğurt ve 45.817 ton tereyağı üretildiği bildirilmektedir (TÜİK, 2014). En fazla sütün üretildiği iller sıralamasında ise Balıkesir 790.732 ton ile üçüncü sırada yer almaktadır (Tablo 5.1.).

Tablo 5.1. Balıkesir ili 2009-2014 yılları arası süt üretim miktarları (TÜİK, 2014).

YIL	2009	2010	2011	2012	2013	2014
SÜT (ton)	693.776	683.191	707.647	740.104	750.711	790.732

Bu veriler doğrultusunda Türkiye genelinde ve Balıkesir ilinde ekonomik açıdan süt endüstrisinin önemli bir yer tuttuğu görülmekte olup, süt ve süt ürünlerinde MRSA prevalansının hızlı ve güvenilir metotlarla tespiti ve identifiye edilmesi halk sağlığının korunması açısından önem kazanmaktadır. Yapılan literatür taramalarında ülkemizde süt ve süt ürünlerinde MRSA prevalansı ile ilgili yapılmış az sayıda çalışmaya rastlanırken, Balıkesir ilinde ise bu konuda yapılmış bir çalışma görülmemiştir.

Bu çalışmada, Balıkesir ilindeki çiftliklerden toplanan tank sütleri ile piyasada tüketime sunulan bazı süt ürünlerinden (yoğurt, beyaz peynir, kaşar peyniri, tulum peyniri, mihaliç peyniri, lor peyniri, sepet peyniri ve tereyağı) örnekler alınarak gıda hijyeni ve halk sağlığı açısından risk oluşturabilen MRSA prevalansı fenotipik ve genotipik olarak araştırılmış ve elde edilen izolatların antibiyotik dirençlilik profilleri belirlenmeye çalışılmıştır.

Literatürler taramalarında EFSA'ya göre (2009) gıdalardan MRSA izolasyonu için iki metot kullanıldığı görülmektedir. Bunlardan birincisi Baird-Parker Agar kullanılan ISO 6888-1:1999 metodu, ikincisi ise kromojenik besiyerleri kullanılan metottur. Bu çalışmada kromojenik besiyerlerinin kullanıldığı metot tercih edilmiştir. Kromojenik besiyerlerinde bulunan substratların hedef mikroorganizmanın enzimleri tarafından kullanılması yani parçalanması sonucu mikroorganizmanın boyanmasına bağlı olarak ortamda üreyen koloniler renklidir. Yapılan çalışmalarda kromojenik besiyerlerinin konvansiyonel besiyerlerine göre etken patojenleri daha kısa sürede saptama ve karışık kültürlerden ayırma yönünden daha etkili olduğu bildirilmiştir (Cherkaoui ve ark., 2007). Bu besiyerleri maliyeti daha fazla olmasına karşın, MRSA tanımlamasını daha seçici yapabildiğinden ek testlere olan ihtiyacı azaltarak zaman tasarrufu açısından önemli avantajlar sağlamaktadır (Sepin Özen ve ark., 2011).

Elde edilen izolatlarla identifikasyon amacıyla uygulanan yöntemlerden birincisi fenotipik olarak PBP2a'nın saptanmasını temel alan lateks aglütinasyon testidir. Uygulaması kolay, hızlı sonuç veren (15-20 dakika) ve çok sayıda örneğin aynı anda incelenmesine olanak sağlayan bir yöntemdir. Koloni süspansiyonlarından PBP2a ekstraksiyonu yapıldıktan sonra, lateksle kaplanmış olan PBP2a'nın monoklonal antikolarla reaksiyona girerek aglütinasyon oluşturması prensibine dayanmaktadır (Velasco ve ark., 2005). İkincisi ise PCR ile yapılan genotipik identifikasyon metodudur. MRSA türlerinin tespiti, PCR kullanılarak *mecA* geninin varlığının doğrulanması ile yapılmaktadır (Normanno ve ark., 2007; Vanderhaeghen ve ark., 2010). *mecA* geni stafilokok türlerinde metisilin direncinden sorumlu olan genidir (Louie ve ark., 2002). Günümüzde metisilin direncinin saptanmasında *mecA* geninin moleküler yöntemlerle saptanması altın standart olarak kabul edilmiş ve en çok kullanılan metot olarak belirlenmiştir (Brown, 2001).

Yapılan bu çalışmada 50 tank sütü örneğinin 14'ünde (%28) *S. aureus* tespit edilmiş olup, *S. aureus* suşlarının fenotipik olarak 2'si (%14.2) MRSA olarak belirlenmiştir. Ancak bu izolatların genotipik olarak *mecA* geni taşımadıkları tespit edilmiştir. Fenotipik olarak MRSA olduğu tanımlanan 2 izolatın aynı zamanda metisilin dirençliliğinin belirlenmesinde kullanılan sefoksitin ve oksasilin antibiyotiklerine dirençli olduğu saptanmıştır.

Yapılan literatür taramalarında süt ve süt ürünlerinde MRSA prevalansı ile ilgili ulusal ve uluslararası pek çok çalışma rapor edilmiştir. Türkyılmaz ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada mastitisli süt örneklerinden izole ettikleri 93 *S. aureus* suşunun 16'sının (%17.2) fenotipik olarak MRSA olduğunu ve bunların tamamının genotipik olarak da *mecA* geni taşıdıklarını bildirmişlerdir. Pehlivanoğlu ve Yardımcı (2012) yaptıkları çalışmada 306 mastitisli süt örneklerinden izole ettikleri 100 stafilokok izolatının 65'ini (%65) *S. aureus* olarak, bunların da fenotipik olarak 20'sinin (%30.7) metisilin dirençli olduğunu ve 37'sinin (%56.9) *mecA* geni taşıdığını rapor etmişlerdir. Kaynarca ve Türkyılmaz (2010) 339 mastitisli süt örneğinden 71'inde (%46.1) koagülaz pozitif *S. aureus* tanımlanmış ve bunların 6'sının (%8.4) fenotipik olarak metisilin dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Erdem ve Türkyılmaz (2013) 145 mastitisli sütü örneği kullanarak yaptıkları çalışmada örneklerin 2'sinde (%1.3) genotipik olarak MRSA tespit etmişlerdir. Ünal (2013)

subklinik mastitisli sütlerinden elde edilen 60 *S. aureus* izolatu kullanarak yaptığı çalışmada izolatların 2'sinde (%3.30) *mecA* geni belirlediğini bildirmiştir.

Daka ve ark. (2012) 160 süt örneğinin 78'inin (%48.7) *S. aureus* ve bunların da %60.3'ünün fenotipik olarak MRSA olduğunu bildirmişlerdir. Huber ve ark. (2010) mastitisli sütlerden izole ettikleri 142 *S. aureus* izolatının 2'sinde (%1.4) *mecA* geni belirlemişlerdir. Vanderhaeghen ve ark. (2010) klinik ve subklinik mastitisli sütlerden elde edilen 118 *S. aureus* suşunun 11'inde (%9.3) *mecA* geni saptamışlardır. Bu sütlerden 2'sinin (%18.1) klinik mastitisli, 9'unun (%81.8) subklinik mastitisli sütlere ait olduğunu bildirmişlerdir. Vyletelova ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada 703 tank sütü örneğinin 326'sının *S. aureus* (%46.3) ve bunların da 20'sinin (%6.1) hem fenotipik hem de genotipik olarak MRSA olduğunu saptamışlardır. Paterson ve ark. (2012) 1500 tank sütü örneğinin 7'sinde (%0.46) *mecA* geni saptamışlardır. Haran ve ark. (2012) 150 tank sütü örneğinin 2'sinde (%1.3) *mecA* geni saptamışlardır. Kanaan ve Al-Shammery (2013) yaptıkları çalışmada 15 süt örneğinin 4'ünde (%13.4) fenotipik olarak MRSA tespit etmişlerdir.

Yapılan bu çalışmanın bulguları, bazı araştırmacıların (Türkyılmaz ve ark. 2010, Pehlivanoğlu ve Yardımcı 2012, Daka ve ark. 2012) bulgularından düşük, bazı araştırmacıların (Kaynarca ve Türkyılmaz 2010, Erdem ve Türkyılmaz 2013, Ünal 2013, Huber 2010, Vanderhaeghen ve ark. 2010 ve Vyletelova ve ark. 2011) bulgularından ise yüksek bulunmuştur. Bu farklılıkların çiğ süt örneklerinin toplandığı çiftliklerin büyüklüğü, hayvanlara antibiyotik kullanıma geçmişleri, çalışılan örneğin niteliği ve sayısı, bölgeler arası farklılıklar ile etkenin izolasyon ve identifikasyon aşamalarında uygulanan analiz metodları gibi nedenlerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Diğer yandan sağım işlemi esnasında sağım personelinden, sağım için kullanılan ekipmanlardan ve ortam şartlarından süte bakteriyel bulaşma olması sonuçları etkileyebilmektedir (Kalsoom ve ark., 2004). Yapılan araştırmalara göre sütte ve süt ürünlerinde MRSA prevalansı farklı ülkelerde veya aynı ülke içindeki bölgeler arasında bile önemli farklılıklar gösterebilmektedir. Bu farklılıklar ülkeler arasındaki hayvan yetiştirme sistemlerinin farklılığından kaynaklanabilmektedir. Farklı ulusal antimikrobiyal politikalar ve düzenlemelerin de farklı yaygınlık tahminlerine katkıda bulunmuş olabileceği bildirilmiştir (Grave ve ark., 2010). Örneğin aynı bölgede birden fazla hayvan türünün varlığı gibi *S. aureus*

izolatları arasında genetik materyalin transferini kolaylaştıran diğer faktörler MRSA prevalansını etkileyebilmektedir (Spohr ve ark., 2011).

Literatür taramalarında peynirlerde MRSA prevalansı ile ilgili gerek ulusal gerekse uluslararası düzeyde fazla çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılan bu çalışmada toplam 100 peynir (40 beyaz peynir, 10 kaşar, 15 tulum peyniri, 12 mihaliç peyniri, 10 sepet peyniri, 13 lor peyniri) örneğinin 3'ünde *S. aureus* (%3), bunların fenotipik olarak 1'inde (%33.3) MRSA tespit edilmiş ve *mecA* genine sahip olduğu doğrulanmıştır. MRSA pozitif olarak tespit edilen izolat tulum peyniri örneklerinden izole edilmiştir. Yücel ve Anıl (2011) 90 peynir örneğinin 16'sında (%20.2) *S. aureus* izolatu elde etmişler, peynirlerden elde edilen 79 koagülaz pozitif izolatın 9'unda (%11.3) fenotipik olarak metisilin direnci saptamışlardır. Özpınar (2011) yapmış olduğu çalışmada 100 Erzincan tulum peynirinden 61'inde (%61) *S. aureus*, bunların da 10'unda (%16.3) *mecA* geni tespit etmiştir. Can ve Çelik (2012) 200 paketlenmemiş peynir örneğinin (100 beyaz peynir, 100 tulum peyniri) 12'sinde (%6) (5'i beyaz peynir, 7'si tulum peyniri) *S. aureus*, bunların da 2'sini (%16.6) *mecA* pozitif olarak saptamışlardır. Pozitif olarak MRSA saptanan örneklerin tulum peyniri olduğunu rapor etmişlerdir.

Huber ve ark. (2010) 200 çiğ süttten yapılan peynir örneğinde *mecA* geni saptayamadıklarını bildirmişlerdir. Mirzaei ve ark. (2011) 50 geleneksel peynir örneğinin 2'sinde (%4) *mecA* geni saptamışlardır. Arefi ve ark. (2014) 50 Feta peyniri ve 50 beyaz peynir örneğinin sırasıyla 7'sinde (%14) ve 18'inde (%36) *S. aureus*, bunların ise 2'sinde (%28.5) ve 6'sında (%33.3) fenotipik ve genotipik olarak MRSA olduğunu belirlemişlerdir. Kanaan ve Al-Shammary (2013) yaptıkları çalışmada 15 beyaz peynir örneğinin 6'sında (%20) fenotipik olarak MRSA tespit etmişlerdir.

Yapılan bu çalışmanın bulguları, Arefi ve ark. (2014)'ın bulgularına benzer, bazı araştırmacıların (Yücel ve Anıl 2011, Özpınar 2011, Can ve Çelik 2012, Huber ve ark. 2010, Mirzaei ve ark. 2011, Kanaan ve Al-Shammary 2013) bulgularından ise yüksek bulunmuştur. Peynir örneklerindeki sonuçlar arası farklılıklar peynir üretim teknolojilerindeki farklılıklara, analizlerde kullanılan örnek sayılarına, üretimde kullanılan süttün çiğ veya pastörize edilip edilmediğine bağlı olabilmektedir. Ayrıca

peynirin üretildiği ortam hijyeni ve üretimdeki personel ile depolama ve satış aşamalarındaki hijyen koşullarının yetersizliğinden kaynaklanabilmektedir.

Tulum peyniri kurumadde ve yağ oranı yüksek, özellikle bölgelere göre yapım tekniği farklılık gösteren bir peynir çeşididir (Tekinşen, 2000). Tulum peynirinde MRSA tespit edilmesinin, üretiminde genellikle çiğ süt kullanılması veya üretimde kullanılan sütlere yeterli pastörizasyon uygulanmaması, olgunlaştırma aşamasında deri tulumlar kullanılması, tulumlara dolumun kalın sopa ya da elle bastırılarak yapılması (Tekinşen, 2000; Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği, 10 Temmuz 2015), bu peynirlerin yaygın olarak starter kültür kullanılmadan çoğunlukla hijyenik olmayan şartlarda çalışan geçici mandıralarda ilkel usullerle üretilmesi ile olgunlaşma süresi tamamlanmadan erken tüketime sunulmasından kaynaklı olabileceği bildirilmektedir (Çakır, 2011).

Bu çalışmada 10 tereyağı örneğinden MRSA tespit edilememiştir. Mirzaei ve ark. (2011) da 50 tereyağı örneğinden *mecA* geni tespit edemediklerini bildirmişlerdir. Çalışmamızdan elde edilen bulgular bu çalışmanın bulguları ile benzerlik göstermektedir.

Disk difüzyon, antimikrobiyal duyarlılık testinde en eski yaklaşımlardan biri olup rutin klinik laboratuvarlarda en yaygın kullanılan antimikrobiyal duyarlılık test yöntemlerinden biridir. Birçok antimikrobiyal ajanın eş zamanlı test edilmesi sağlanır ve özel bir ekipmana gerek yoktur (T.C.Sağlık Bakanlığı, 20 Ekim 2015). *S. aureus* izolatları, *mecA* genine sahip olmamasına rağmen oksasilin, sefoksitin gibi metisilin duyarlılığını belirleyen testler ile pozitif sonuç vererek fenotipik olarak direnç gösterebilirler. Bu durumun muhtemel sebepleri arasında *mecA* homoloğu olan ve yeni tespit edilen *mecC* geni ile diğer β -laktam direnci sağlayan faktörler gösterilebilir. Bu faktörler arasında ise beta laktamazın aşırı üretimi ve PBP'lerin yapısında meydana gelen mutasyonlar yer almaktadır (Garcia-Alvarez ve ark., 2011; Petersen ve ark., 2013).

Bu sebepten fenotipik olarak MRSA olduğu düşünülen izolatların disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik duyarlılıklarının tespit edildiği çalışmamızda, MRSA izolatlarından 2'si vankomisine, 1'i gentamisine, 2'si eritromisine, 2'si tetrasikline, 1'i siprofloksasine ve 2'si kloramfenikole dirençli bulunurken tamamı

ampisilin, penisilin, sulfametoksazol trimetoprim, sefoksitin ve oksasiline dirençli bulunmuştur. İzolatların 1'i eritromisine, 1'i de siprofloksasine orta duyarlı olarak tespit edilmiştir.

Lee (2003) sığır sütlerinden izole ettiği 12 MRSA izolatının tamamını oksasiline, penisiline ve ampisiline dirençli bulurken, 6'sını sefoksitine, 3'ünü siproflaksosine, 8'ini eritromisine, 11'ini gentamisine, 5'ini tetrasikline dirençli bulmuştur. İzolatların hiçbirinde TMP-SXT direnci tespit edememiştir. Moon ve ark. (2007) mastitisli sığır sütlerinden elde edilen ve fenotipik olarak MRSA olduğu saptanan 21 izolatın 19'unu penisiline, 19'unu ampisiline, 7'sini gentamisine, 5'ini tetrasikline ve 12'sini eritromisine dirençli bulmuşlardır. Normanno ve ark. (2007) 4'ü sığır sütünden, 1'i suş mozerella peynirinden ve 1'i de pecorino peynirinden izole ettikleri 6 MRSA izolatının 3'ünü ampisiline, 2'si TMP-SXT'e dirençli bulurken, tüm izolatları gentamisin, tetrasiklin, eritromisin ve vankomisine duyarlı olarak tespit etmişlerdir. Vanderhaeghen ve ark. (2010) mastitisli sütlere ait 11 MRSA izolatının tamamını tetrasikline dirençli iken 2'sini siprofloksasine dirençli, klorafenikol, gentamisin, eritromisine ise duyarlı olduğunu saptamışlardır. Paterson ve ark. (2012) tank sütlerinden elde ettikleri 7 MRSA suşunun tamamını penisilin, metisilin ve sefoksitin dirençli tespit etmiştir. 6'sını tetrasikline, 1'ini eritromisine dirençli bulurken, tüm suşları TMP-SXT'e duyarlı bulmuşlardır

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan çalışmada analize alınan tank sütleri ve tulum peyniri örneklerinde MRSA tespit edilmiştir. MRSA çoğunlukla hastane ve toplum kaynaklı bir patojen olarak düşünülürken yapılan bu çalışmada süt ve süt ürünlerinde de bulunabileceği görülmüştür. Özellikle tulum peynirlerinde MRSA saptanmasının ülkemizde üretimin çoğunlukla küçük ölçekli işletmelerde yapılması, hijyenik olmayan koşullarda elde edilen çiğ süt kullanılması ve bu peynirin üretiminde bir standardın olmamasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Çalışmadan elde edilen izolatların birden fazla antibiyotiğe karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. Genotipik olarak yalnızca birinde *mecA* genine rastlanmasına rağmen, metisilin dirençliliğinin belirlenmesinde kullanılan oksasilin ve sefoksitin antibiyotiklerine karşı tamamının dirençli olduğu belirlenmiştir. Bu durum bu izolatların tedavisi zor hastalıklara sebep olabileceğinin göstergesidir.

Süt ve süt ürünlerinde MRSA prevalansını düşürmek ve önlemek için öncelikle üretimde kullanılacak sütler sağlıklı hayvanlardan elde edilmeli, sağım, taşınma ve soğutma aşamalarında gerekli hijyen kurallarına uyulmalıdır. Ayrıca peynir yapımında çiğ süt kullanımından kaçınılmalı, yeterli pastörizasyon uygulanmalı ve pastörizasyon sonrası bulaşmaların önlenmesi için gerekli tedbirler alınmalıdır. Bunların yanı sıra süt ve süt ürünleri işletmelerinin düzenli bir şekilde denetlenmesi, başta semt pazarları olmak üzere açıkta denetimsiz ve kontrolsüz bir şekilde yapılan peynir satışının engellenmesi gerekmektedir. Prosesinde olgunlaştırma periyodu bulunan peynirler gerekli olgunlaştırma süre ve şartlarına uyularak tüketime sunulmalıdır.

Süt ve süt ürünlerinde “çiftlikten çatala” prensibi ile üretimden tüketime kadar etkili HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points), GMP (Good Manufactured Practice) ve GHP (Good Hygiene Practice) gibi Gıda Güvenliği Yönetim Sistemleri eksiksiz uygulanmalıdır. Başta süt ve süt ürünlerinde olmak

üzere tüm hayvansal gıdalarda yalnız *S. aureus* değil aynı zamanda MRSA analizinin Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinde yer alması önerilmektedir.

Gıda kaynaklı izolatlardaki direnç gelişiminin engellenmesi için bilhassa süt hayvanlarının tedavisinde kontrollü ve bilinçli antibiyotik kullanılmalı ve aynı zamanda antibiyotiklerin direnç durumları da düzenli olarak izlemeye alınmalıdır. Böylece bakterilere karşı en etkili antibiyotiğin kullanımı sağlanarak gereksiz antibiyotik kullanımının da önüne geçilmesi sağlanacaktır.

Sonuç olarak bu çalışmada tank sütlerinde ve tulum peynirlerinde MRSA tespit edilmesi, gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından risk teşkil etmektedir. Bu nedenle gıdalarda MRSA varlığının potansiyel tehlikesi konusunda tüketiciler aydınlatılmalıdır. Başta hayvansal gıdalar olmak üzere diğer gıdalarda ve gıda üretim tesisleri ortamlarında da MRSA prevalans ve antibiyotik dirençlilik çalışmalarının yapılması faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

Acton DS, Plat-Sinnige MJT, Van Wamel W, De Groot N, Van Belkum A. Intestinal carriage of *Staphylococcus aureus*: how does its frequency compare with that of nasal carriage and what is its clinical impact? *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 2009, 28:115–127.

Adams MR, Moss MO. *Food Microbiology*, 3d ed. UK, The Royal Society of Chemistry, 2008:252-257.

Ağalar C, Göçmen JS, Kılıç D, Kaygusuz S, Karabıçak Ç. Üçüncü basamak bir referans hastanesinde izole edilen metisilin dirençli stafilokok suşlarında duyarlılık. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 2012, 3(1):71-74.

Allison DG. The biyofilm matrix. *Biofouling*, 2003, 19(2):139-150.

Alozhairy MA. Colonization and antibiotic susceptibility pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among farm animals in Saudi Arabia. *Journal of Bacteriological Research*, 2011, 3(4):63-68.

Andreoletti O, Budka H, Buncic S, Colin P, Collins JD, de Koeijer A, Griffin J, Havelaar A, Hope J, Klein G, Kruse H, Magnino S, Antonio LM, McLauchlin J, Nguyen-The C, Noeckler K, Noerrung B, Maradona MP, Roberts T, Vagsholm I, Vanopdenbosch E. Assessment of the public health significance of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in animals and foods. *EFSA J*, 2009, 993:1-73.

Aras Z, Aydın I, Kav K. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from caprine mastitis cases. *Small Ruminant Research*, 2012, 102:68-73.

Arefi F, Mohsenzadeh M, Razmyar J. Isolation, antimicrobial susceptibility and *mecA* gene analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Iranian white cheeses. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 2014, 15(2):127-131.

Argudin MA, Mendoza MC, Rodicio MR. Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, 2010, 2(7):1751–1773.

Asao T, Kumeda Y, Kawai T, Shibata T, Oda H, Haruki K, Nakazawa H, Kozaki S. An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. *Epidemiol Infect*, 2003, 130:33-40.

Ay S, Tekerekoğlu MS, Bayraktar M, Abut L, Duman B. Klinik örneklerden izole edilen koagülaz negatif Stafilokok türlerinde “slime” oluşumu ve antibakteriyellere duyarlılığı, *ANKEM Derg*, 2002, 16(1):40-3.

Bannerman TL, Peacock SJ. Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA

(eds). *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Washington, ASM Press, 2007:390-411.

Barrett FF, McGehee RF Jr, Finland M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at Boston City Hospital: bacteriologic and epidemiologic observations. *New Eng J Med*, 1968, 279:441-448.

Barton D. Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. *Nut. Res. Reviews*, 2000, 13:279-99.

Baz E, Gülmez M, Güven A, Sezer Ç, Duman, B. Kars ilinde satısa sunulan çiğ süt ve beyaz peynirlerin koliform grubu bakteri, E.coli, E. coli O157: H7 yönünden incelenmesi. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Dergisi*, 2003, 9(2):165-67.

Beam JW, Buckley B. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Prevalence and risk factors. *Journal of Athletic Training*, 2006, 41:337-340.

Belay N, Rasooly A. *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin A production in an anaerobic environment. *J Food Prot.*, 2002, 65(1):199-204.

Bergdoll MS, Lee Wong AC. Staphylococcal intoxications. In: Rieman HP, Cliver DO (eds). *Foodborne Infections and Intoxications*, 3d ed. California, Academic Press, 2006:523–562.

Bergdoll MS. *Staphylococcus aureus*. In: Doyle MP (ed). *Foodborne bacterial pathogens*, New York, Marcel Dekker, Inc., 1989:463-523.

Bhalla A, Aron DC, Donskey CJ. *Staphylococcus aureus* intestinal colonization is associated with increased frequency of *S. aureus* on skin of hospitalized patients. *BMC Infectious Diseases*, 2007, 7:105.

Bhatia A, Zahoor S. *Staphylococcus aureus* enterotoxins: A review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 2007, 1(2):188-197.

Bochev I, Russenova N. Resistance of *Staphylococcus spp.* strains isolated from goats with subclinical mastitis. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 2005, 8(2):109-18.

Boost MV, Wong A, Ho J, O'Donoghue M. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from retail meats in Hong Kong. *Foodborne Pathog. Dis.*, 2013, 10:705-710.

Borg MA, Kraker M, Scicluna E, Van deande B, Tiemersma E, Monen J, Grundmann H. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in invasive isolates from southern and eastern mediterranean countries. *Journal Antimicrobial Chemother*, 2007, 60(6):1310-5.

Boussard P, Pithsy A, Devleeschouwer MJ. Relationship between slime production, antibiotic sensitivity and the phagotype of coagulase negative staphylococci. *J Clin Pharm Ther*, 1993, 18:271-4.

Bradley SF. Eradication or decolonization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage: What are we doing and why are we doing it? *Clinical Infection Diseases*, 2007, 44:186-9.

Bremer PJ, Fletcher GC, Osborne C. *Staphylococcus aureus*. *New Zealand Crop Institute for Crop and Food Research*, 2004, 4704:1-6.

Brown DFJ. Detection of methicillin/oxacillin resistance in staphylococci. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2001, 48(1):65-70.

Buckingham SC, McDougal LK, Cathey LD, Comeaux K, Craig AS, Fridkin SK, Tenover FC. Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a Memphis, Tennessee children's hospital. *Pediatr Infect Dis J*, 2004, 23:619-24.

Byrd-Bredbenner C, Berning J, Martin-Biggers J, Quick V. Food safety in home kitchens: a synthesis of the literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2013, 10:4060-4085.

Calfee DP, Durbin LJ, Germanson TP. Spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among household contacts of individuals with nosocomially acquired MRSA. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 2003, 24:422-426.

Campbell JA. Survival of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* during various thermal lethality processes used to manufacture pork products. *Meat Science*. Doctor of philosophy, Iowa:Iowa State University, 2012.

Can HY, Çelik TH. Detection of enterotoxigenic and antimicrobial resistant *S. aureus* in Turkish cheeses. *Food Control*, 2012, 24:100-103.

Cauwelier B, Gordts B, Descheemaecker P, Van Landuyt H. Evaluation of disk diffusion method with cefoxitin (30µg) for detection of Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *European Journal Clinical Microbiology Infection Diseases*, 2004, 2:389-392.

Cengiz AT. *Staphylococcus*. *İçinde: Ustaçelebi Ş (editör). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, 1.Baskı. Ankara, Güneş Kitabevi, 1999:339-347.

Centers for Disease Control and Prevention. Four pediatric deaths from community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*—Minnesota and North Dakota, 1997–1999. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm4832a2.htm>. 26 Nisan 2015.

Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic resistance. www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar_MRSA_ca_clinicians.html. 10 Eylül 2013.

Centers for Disease Control and Prevention. CDC Estimates of Foodborne Illness in the United States. <http://www.cdc.gov/foodborneburden/2011-foodborne-estimates.html#illness>. 10 Haziran 2015.

Chambers HF. Community-associated MRSA-resistance and virulence converge. *The New England Journal of Medicine*, 2005, 352:1485–7.

Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: Molecular and biochemical basis and clinical implications. *American Society for Clinical Microbiology*, 1997, 4:781-91.

Cherkaoui A, Renzi G, François P, Schrenzel J. Comparison of four chromogenic media for culture-based screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol*, 2007, 56(4):500-3.

CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012, M100-S22, 32(3). ISBN 1-56238-785-5. ISSN 1558-6502.

CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014, M100-S24, 34(1). ISBN 1-56238-897-5. ISSN 1558-6502.

Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchemer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: A meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases*, 2003, 36(1):53-59.

Cucarella C, Solano C, Valle J, Amorena B, Lasa I, Penadés JR. Bap, a *Staphylococcus aureus* surface protein involved in biofilm formation. *J Bacteriol* 2001, 183:2888-96.

Cunha MLRS, Calsolari RAO. Toxigenicity in *Staphylococcus* with emphasis on coagulase negative staphylococci, *Formatex*, 2007, 778-782.

Daka D, G/silassie S, Yihdego D. Antibiotic-resistance *Staphylococcus aureus* isolated from cow's milk in the Hawassa area, South Ethiopia. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 2012, 11:26.

David MZ, Daum RS. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. *Clinical Microbiology Reviews*, 2010, 23:616–687.

de Boer E, Zwartkruis-Nahuis JT, Wit B, Huijsdens XW, de Neeling AJ, Bosch T, Van Oosterom RA, Vila A, Heuvelink A. Prevalence of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat, *International Journal of Food Microbiology*, 2009, 134(1-2):52-56.

de Jonge R, Verdier JE, Havelaar AH. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* amongst professional meat handlers in the Netherlands, March–July 2008. *Euro Surveill*, 2010, 15(46).

DeLeo FR, Chambers HF. Re-emergence of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* in the genomics era. *J Clin Invest*, 2009, 119(9):2464-74.

Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Infection*, 2007, 13(3):222–235.

Devriese LA, Vandamme LR, Fameree L. Methicillin(cloxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis cases. *Zbl. Veterinarmed. Reihe B*, 1972, 19:598–605.

Diep BA, Sensabaugh GF, Somboona NS, Carleton HA, Perdreau-Remington F. Widespread skin and soft-tissue infections due to two methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains harboring the genes for Panton-Valentine leucocidin. *J. Clin. Microbiology*, 2004, 42:2080-2084.

Dietrich DW, Auld DB, Mermel LA. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in southern New England children. *Pediatrics*, 2004, 113:347-52.

Dinges MM, Orwin MP, Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol Rev.*, 2000, 13:16-34.

Donlan RM. Role of biofilms in antimicrobial resistance, *ASAIQ Journal*, 2000, 46(6):47-52.

Doyle ME, Hartmann FA, Lee Wong AC. Methicillin-resistant staphylococci: implications for our food supply? *Anim Health Res Rev*, 2012, 13(2):157-180.

Drago L, De Vecchi E, Nicola L, Gismondo MR. In vitro evaluation of antibiotic combinations for empirical therapy of suspected methicillin resistant *Staphylococcus aureus* severe respiratory infections. *BMC Infect Dis*, 2007, 7:111.

Duquette RA, Nuttal TJ. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dogs and cats: An emerging problem?, *Journal of Small Animal Practices*, 2004, 45(12):591-7.

Durupınar B. Antibiyotiklere Dirençlerde Yeni Eğilimler. *Klinik Dergisi*, 2001, 14(2):47-55.

Dutfield G. *Intellectual Property Rights and the Life Science Industries: Past, Present, and Future*, 2nd ed. London, World Scientific Publishing Co, 2009:139-140.

ECDC. Point Prevalence Survey of Healthcare-Associated Infections and Antimicrobial use in European Acute Care Hospitals.
http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/publications/forms/ECDC_-DispForm.aspx?ID=1155. 30 Nisan 2015.

EFSA (European Food Safety Authority). Assessment of the Public Health significance of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in animals and foods. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards (Question No EFSA-Q-2008-300). *EFSA J*, 2009, 993:1-73.

Ekici L, Telli R, Yetim H. Gıda Kaynaklı Enfeksiyon ve İntoksikasyon Bakterileri-I. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2008, 2:29-42.

Enoch DA, Carter NM, Karas JA. MRSA screening of elective surgery day-case patients. *Journal of Hospital Infection*, 2010, 74:291-292.

Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spratt BG. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proc Natl Acad Sci*, 2002, 99(11):7687-7692.

Erdem Z, Türkyılmaz S. Molecular typing of methicillin resistant *Staphylococcus* strains isolated from cows and farm workers. *Kafkas Univ. Vet.Fak. Derg.*, 2013, 19:963-968.

Erkmen O. Gıda Mikrobiyolojisi. Ankara: 2010.

European Food Safety Authority Panel on Biological Hazards. Foodborne antimicrobial resistance as a biological hazard. Scientific Opinion. *The EFSA Journal*, 2008, 765, 1-87.

FAO. Antibiotics in Farm Animal Production.
www.fao.org/fileadmin/user_upload/animalwelfare/antibiotics_in_animal_farming.pdf. 22 Eylül 2015.

Ferreira JS, Costa WLR, Cerqueira ES, Carvalho JS, Oliveria LC, Almedia RCC. Food handler-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in public hospitals in Salvador, Brazil. *Food Control*, 2014, 395-400.

Feßler AT, Kadlec K, Hassel M, Hauschild T, Eidam C, Ehricht R, Monecke S, Schwarz S. Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from Food and Food Products of Poultry Origin in Germany, *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(20):7151-7157.

Fluit AC, Welders CLC, Verhoef J, Schimitz FJ. Epidemiology and susceptibility of 3.051 *Staphylococcus aureus* isolates from 25 University hospitals participating in the European SENTRY Study. *J Clin Microbiol*, 2001, 39(10):3727-32.

Fluit AC. Livestock-associated *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect*, 2012, 18:735-744.

Frank DN, Feazel LM, Bessesen MT, Price CS, Janoff EN, Pace NR. The human nasal microbiota and *Staphylococcus aureus* carriage. *Plos One*, 2010, 5(5):e10598.

Fraser JD, Proft T. The bacterial superantigen and superantigen-like proteins. *Immunological Reviews*, 2008, 225:226-243.

French GL, Otter JA. Molecular epidemiology of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *The Lancet*, 2010, 10:227-239.

Garcia-Alvarez L, Holden MTG, Lindsay H, Webb CR, Brown DFC, Curran MD, Walpole E, Brooks K, Pickard DJ, Teale C, Parkhill J, Bentley SD, Edwards GF, Girvan EK, Kearns AM, Pichon B, Hill RLR, Larsen AR, Skov RL, Peacock SJ, Maskell DJ, Holmes MA. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet Infect Dis*, 2011, 11:595-603.

Garipçin M, Şeker E. İnsanlarda ve hayvanlarda metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) infeksiyonları. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 2013, 11(1):44-60.

Garrity GM, Bell JA, Lilburn TG. Taxonomic outline of the prokaryotes. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed. New York, Springer Inc, 2004:223.

Ghidey F, Igbinosa O, Igbinosa E. Nasal colonization of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) does not predict subsequent infection in the intensive care unit. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* 3, 2014, 81-86.

Gillaspay AF, Iandolo JJ. *Staphylococcus*. In: Batt CA (ed). *Encyclopedia of Food Microbiology*, 2nd ed. New York, Academic Press, 2014:482-507.

Goering RV, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain USA300: Origin and epidemiology. *J. Antimicrob. Chemother*, 2009, 64(3): 441-446.

Götz F. *Staphylococcus* and biofilms. *Molecular Microbiology*, 2002, 43:1367-1378.

Götz F, Bannerman T, Schleifer KH. The genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*. *Prokaryotes*, 2006, 4:5-75.

Grave K, Torren-Edo J, Mackay D. Comparison of the sales of veterinary antibacterial agents between 10 European countries. *J Antimicrob Chemother*, 2010, 65:2037-2040.

Graveland H, Wagenaar JA, Bergs K, Heesterbeek H, Heederik D. Persistence of livestock associated MRSA CC398 in humans is dependent on intensity of animal contact. *Plos One*, 2011, 6(2):16830.

Graveland H, Wagenaar JA, Broekhuizen-Stins MJ, Oosting- Schothorst I, Schoormans AH, Van Duijkeren E, Huijsdens X, Mevius D, Heederik D. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in veal calf farmers and veal calves in the Netherlands. American Society for Microbiology (ASM) Conference on Antimicrobial Resistance in Zoonotic Bacteria and Foodborne Pathogens, Copenhagen, 2008, 62-63.

Grundmann H, Aires-de-Sousa M, Boyce J, Tiemersma E. Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *Lancet*, 2006, 368:874–885.

- Hadler JL, Petit S, Mandour M, Cartter ML. Trends in invasive infection with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Connecticut, USA, 2001–2010. *Emerging Infectious Diseases*, 2012, 18: 917–924.
- Hanselman BA, Kruth SA, Rousseau J, Low DE, Willey BM, McGeer A, Weese JS. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in veterinary personnel. *Emerg Infect Dis*, 2006, 12(12):1933-1938.
- Hanssen AM, Ericson Sollid, JU. SCCmec in *staphylococci*: Genes on the move. *FEMS Immunol. Med. Microbiol*, 2006, 46:8-20.
- Haran KP, Godden S. M, Boxrud D, Jawahir S, Bender JB, Sreevatsa S. Prevalence and Characterization of *Staphylococcus aureus*, including Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, isolated from bulk tank milk from Minnesota dairy farms. *J Clin Microbiol.*, 2012, 50(3): 688-695.
- Hardy KJ, Hawkey PM, Gao F, Oppenheim BA. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the critically ill. *Br. J. Anaesthesia*, 2004, 92:121-130.
- Hartman BJ, Tomasz A. Expression of methicillin resistance in heterogeneous strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents and Chemother*, 1986, 29:85-92.
- Hata E, Katsuda K, Kobayashi H, Uchida I, Tanaka K, Eguchi M. Genetic variation among *Staphylococcus aureus* strains from bovine milk and their relevance to methicillin-resistant isolates from humans. *J. Clin. Microbiol*, 2010, 48(6):2130-2139.
- Hawkey PM. The growing burden of antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother*, 2008, 62(1): i1-9.
- Hennekinne JA, Ostyn A, Guillier F, Herbin H, Prufer AL, Dragacci D. How should staphylococcal food poisoning outbreaks be characterized? *Toxins*, 2010, 2:2106-2116.
- Henry R. *Staphylococcus*. *Emerging Infectious Diseases*, 2013, 19(9):1553.
- Hososaka Y, Hanaki H, Endo H, Suzuki Y, Nagasawa Z, Otsuka Y, Nakae T, Sunakawa K. Characterization of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus*: A new type of MRSA. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 2007, 13:79-86.
- Huber H, Koller S, Giezendanner N, Stephan R, Zweifel C. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in humans in contact with farm animals, in livestock and in food of animal origin, Switzerland, 2009. *Euro Surveill*, 2010, 15:19542.
- Huijsdens XW, van Dijke BJ, Spalburg E, van Santen-Verheuvél MG, Heck ME, Pluister GN, Voss A, Wannet WJ, de Neeling AJ. Community-acquired MRSA and pig-farming. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 2006, 5:26.

Ito T, Okuma K, Ma XX, Yuzawa H, Hiramatsu K. Insights on antibiotic resistance of *S. aureus* from its whole genome: genomic island SCC. *Drug Resist Opda*, 2003, 6:41-52.

İnegöl E, Türkyılmaz S. Determination of SCCmec types in methicillin resistant *staphylococci* isolated from cows and farm workers. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 2012, 59:89-93.

Jay JM, Loessner MJ, Golden DA. Staphylococcal Gastroenteritis. In: *Modern Food Microbiology*, 7th ed. New York, Springer, 2005:545-66.

Jones TF, Kellum ME, Porter SS, Bell M, Schaffner W. An outbreak of community-acquired foodborne illness caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Disease*, 2002, 8:82-84.

Juhasz-Kaszanyitzky E, Janosi S, Somogyi P, Dan A, van der Graaf-van Bloois L, van Duijkeren E, Wagenaar JA. MRSA transmission between cows and humans. *Emerging Infectious Diseases Journal*, 2007, 13:630-632.

Kallen AJ, Mu YI, Bulens S, Reingold A, Petit S, Gershman KEN, Ray SM, Harrison LEEH, Lynfield R, Dumyati G, Townes JM, Schaffner W, Patel PR, Fridkin SK. Health care associated invasive MRSA infections, 2005–2008. *Journal of the American Medical Association*, 2010, 304:641-648.

Kamal RM, Bayoumi MA, Abd El Aal SFA. MRSA detection in raw milk, some dairy products and hands of dairy workers in Egypt, a mini-survey. *Food Control*, 2013, 33(1):49-53.

Kalsoom F, Syed NHS, Farzana J. Antibiotic resistance pattern against various isolates of *Staphylococcus aureus* from raw milk samples. *J Res Sci.*, 2004, 15:145-151.

Kanaan MHG, Al-Shammary AHA. Detection of methicillin or multidrug resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in locally produced raw milk and soft cheese in Baghdad markets. *The Iraqi Journal of Veterinary Medicine*, 2013, 37(2):226-231.

Karpiškova R, Štastkova Z, Karpiškova S. Nalezly methicilin rezistentnich *Staphylococcus aureus* u zviřat. *Veterinařstvi*, 2009, 59:34-36.

Kaynarca S, Türkyılmaz S. Sığır mastitislerinden izole edilen stafilocoklarda metisilin direnci ve slaym pozitifliği. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2010, 16(4):567-572.

Kılıç S. Hindi etlerinden izole edilen koagülaz pozitif stafilocokların enterotoksin oluşturma yeteneklerinin EIA (Enzyme Immuno Assay) yöntemiyle belirlenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü. Yüksek Lisans tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, 2007.

Kireççi E. Evcil hayvanlarda MRSA taşıyıcılığı. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2009, 16(4):45-49.

Kitai S, Shimizu A, Kawano J, Sato E, Nakano C, Uji T, Kitagawa H. Characterization of methicillin-resistant *S. aureus* isolated from retail raw chicken meat in Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 2005, 67(1):107-110.

Klalus J, Vaughan, NL, Boswell TC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* contamination of hospital curtains. *J. Hosp. Infect.*, 2008, 68:189-190.

Klein E, Smith DL, Laxminarayan R. Hospitalizations and deaths caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, United States, 1999–2005. *Emerging Infectious Diseases*, 2007, 13:1840-1846.

Klevens RM, Morrison MA, Nadle J, Petit S, Gershman K, Ray S, Horison LH, Lynfield R, Dumyati G, Townes JM, Craig AS, Zell ER, Fosheim GE, McDougal LK, Carey RB, Fridkin SK. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *JAMA*, 2007, 298:1763-71.

Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology, underlying mechanisms and associated risks. *Clin Micro Rev.*, 1997, 10:505-520.

Kluytmans J, van Leeuwen W, Goessens W, Hollis R, Messer S, Herwaldt L, Bruining H, Heck M, Rost J, Leeuwen NV, Belkum AV, Verbrugh H. Food-initiated outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* analyzed by pheno and genotyping. *J Clin Microbiol*, 1995, 33:1121-1128.

Kluytmans JA. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in food products: Cause for concern or case for complacency? *Clin. Microbiol. Infect*, 2010, 16:11-15.

Knox R. Correspondence. *Brit Med Jour*, 1961, 1(5219):126.

Köck R, Becker K, Cookson B, van Gemert-Pijnen JE, Harbarth S, Kluytmans J, Mielke M, Peters G, Skov RL, Struelens MJ, Tacconelli E, Navarro Torne´ A, Witte W, Friedrich AW. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): Burden of disease and control challenges in Europe. *Euro Surveillance*, 2010, 15:19688.

Kreusikon K, Fetsch A, Kraushaar B, Alt K, Müller K, Krömker V, Zessin KH, Käsbohrer A, Tenhagen BA. Prevalence, antimicrobial resistance and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from bulk tank milk of dairy herds. *J. Dairy Sci.*, 2012, 95:4382-4388.

Kuwahara-Arai K, Kondo N, Hori S, Tateda-suzuki E, Hiramatsu K. Suppression of methicillin resistance in a *mecA* containing pre-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain is caused by the *mecI* mediated repression of PBP 2' production. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996, 40:2680-5.

Kwon NH, Park KT, Moon JS, Jung WK, Kim SH, Kim JM, Hong SK, Koo HC, Joo YS, Park YH. Staphylococcal cassette chromosome MEC (SCCMEC) characterization and molecular analysis for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and novel SCCMEC subtype IVG isolated from bovine milk in Korea. *J Antimicrob Chemother*, 2005, 56:624-632.

- Le Loir Y, Baron F, Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research*, 2003, 2(1):63-76.
- Lee JH, Suh JT, Kim YS, Lenz W, Bierbaum G, Schaal KP. Typing and antimicrobial susceptibilities of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains isolated in a hospital in Korea. *J Korean Med Sci* 2001, 16:381-385.
- Lee JH. Methicillin (Oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(11):6489-6494.
- Lentino JR, Narita M, Yu VL. New antimicrobial agents as therapy for resistant gram-positive cocci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2008, 27(1):3-15.
- Leonard FC, Markey BK. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals: A review. *Vet J*, 2008, 175:27-36.
- Lewis HC, Molbak K, Reese C, Aarestrup FM, Selchau M, Sorum M, Skov RL. Pigs as source of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 infections in humans, Denmark. *Emerging Infectious Diseases*, 2008, 14:1383-1389.
- Li M, Cheung GY, Hu J, Wang D, Joo HS, Deleo FR, Otto M. Comparative analysis of virulence and toxin expression of global community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *J Infect Dis.*, 2010, 202:1866-1876.
- Louie L, Goodfellow J, Mathieu P, Glatt A, Louie M, Simor AE. Rapid detection of methicillin-resistant staphylococci from blood culture bottles by using a multiplex PCR assay. *J Clin Microbiol*, 2002, 40:2786-2790.
- Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med*, 1998, 339:520-532.
- Maes N, Magdalena J, Rottiers S, De Gheldre Y, Struelens MJ. Evaluation of a triplex PCR assay to discriminate *Staphylococcus aureus* from coagulase-negative staphylococci and determine methicillin-resistance from blood cultures. *J Clin Microbiol*, 2002, 40:1514-1517.
- Maltezou HC, Giamarellou H. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Int J Antimicrob Agents*, 2006, 27:87-96.
- Mattner F, Biertz F, Ziesing S, Gastmeier P, Chaberny IF. Long-term persistence of MRSA in re-admitted patients. *Infection*, 2010, 38:363-371.
- McCallum N, Berger-Bachi B, Senn MM. Regulation of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol*. 2010, 300:118-129.
- McCarthy NL, Sullivan PS, Gaynes R, Rimland D. Health care-associated and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: A comparison of definitions. *Am J Infect Control*, 2010. 38:600-606.

- Millar BC, Loughrey A, Elborn JS, Moore JE. Proposed definitions of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). *J Hosp Infect*, 2007, 67:109-13.
- Miller LG, Eells SJ, Taylor AR, David MZ, Ortiz, N, Zychowski D, Kumar N, Cruz D, Boyle-Vavra S, Daum RS. *Staphylococcus aureus* colonization among household contacts of patients with skin infections: Risk factors, strain discordance and complex ecology. *Clinical Infectious Diseases*, 2012, 54:1523-1535.
- Mirzaei H, Tofighi A, Sarabi HK, Farajli M. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in raw milk and dairy products in Sarab by culture and PCR techniques. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2011, 10(23):3107-3111.
- Monecke S, Ruppelt A, Wendlandt S, Schwarz S, Slickers P, Ehricht R, de Jackel SC. Genotyping of *Staphylococcus aureus* isolates from diseased poultry. *Veterinary Microbiology*, 2013, 162:806-812.
- Monno R, De Vito D, Ceci G, Costi A, Coscia F, de Nicolo T, Rizzo G. Comparative evaluation of test assays for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology and Infection*, 2003, 9:574-575.
- Montville TJ, Matthews KR. Food microbiology: An introduction, 2nd ed. Washington, DC, ASM Press, 2008.
- Moon JS, Lee AR, Kang HM, Lee ES, Kim MN, Paik YH, Park YH, Joo YS, Koo HC. Phenotypic and genetic antibiogram of methicillin-resistant staphylococci isolated from bovine mastitis in Korea. *J Dairy Sci*, 2007, 90:1176-1185.
- Moran GJ, Krishnadasan A, Gorwitz RJ, Fosheim GH, McDougal LK, Carey RB, Talan DA, EMERGENCY ID Net Study Group. Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. *N Engl J Med*, 2006, 355:666-674.
- Moreillon P, Que Y, Glauser MP. *Staphylococcus aureus* (including Staphylococcal Toxic Shock). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds.). *Principles and Practise of Infectious Diseases*, 6th ed. Philadelphia, Churchill Livingstone, 2005:2321-51.
- Morgan M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and animals: Zoonosis or humanosis? *J Antimicrob Chemother*, 2008, 62:1181-1187.
- Muder RR, Brennen C, Wagener MM, Vickers RM, Rihs JD, Hancock GA, Yee YC, Miller JM, Yu VL. Methicillin-resistant staphylococcal colonization and infection in a long-term care facility. *Ann Intern Med*, 1991, 114:107-112.
- Naas T, Fortineau N, Spicq C, Robert J, Jarlier V, Nordmann P. Three-year survey of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* producing Pantone-Valentine leukocidin in a French university hospital. *Journal of Hospital Infection*, 2005, 61:321-329.

Naimi TS, LeDell KH, Como-Sabeti K, Borchardt SM, Boxrud DJ, Etienne J, Johnson SK, Vandenesch F, Fridkin S, O'Boyle C, Danila RN, Lynfield R. Comparison of community- and health care associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Journal of the American Medical Association*, 2003, 290:2976-2984.

Nnachi AU, Emele FE, Ukaegbu CO, Agah MV, Udu-Ibiam OE, Chukwu OS, Agwu MM. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in raw meat and meat handlers in Onitsha, Nigeria. *Eur J Prev Med*, 2014, 2(1):9-15.

Normanno G, Firinu A, Virgilio S, Mula G, Dambrosio A, Poggiu A, Decastelli L, Mioni R, Scuota S, Bolzoni G, Di Giannatale E, Salinetti AP, La Salandra G, Bortoli 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. *International Journal of Food Microbiology*, 2005, 98:73-79.

Normanno G, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia NC, Corrente M, Parisi A, Santagada G, Firinu A, Crisetti E, Celano GV. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. *Int J Food Microbiol*, 2007, 115:290-296.

Nostro A, Cellini L, Ginestra G, D'Arrigo M, di Giulio M, Marino A, Blanco AR, Favalaro A, Bisignano G. Staphylococcal biofilm formation as affected by type acidulant. *APMIS*, 2014, 122:648-53.

Nunang C, Young R. MRSA in farm animals and meat: A new threat to human health. *Soil association*, 2007, USA.

Oliver SP, Boor KJ, Murphy SC, Murinda SE. Food safety hazards associated with consumption of raw milk. *Foodborne Pathog Dis*, 2009, 6:793-806.

Omoe K, Hu DL, Takahashi-Omoe H, Nakane A, Shinagawa K. Identification and characterization of a new staphylococcal entero-toxin-related putative toxin encoded by two kinds of plasmids. *Infect Immun*, 2003, 71:6088-6094.

Özel E. Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* Suşlarında *mecA* Geninin Tespitinde Evigene Testi, Latex Aglutinasyon Testi ve PZR Yöntemlerinin Karşılaştırılması. Tıp Fakültesi. Uzmanlık Tezi, Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi, 2011.

Özpınar N. Erzincan Tulum Peynirinden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* İzolatlarında Antibiyotik Direncinin ve Biyofilm Oluşturma Özelliğinin Fenotipik ve Genotipik Olarak Belirlenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Kayseri: Erciyes Üniversitesi, 2011.

Paterson GK, Larsen J, Harrison EM, Larsen AR, Morgan FJ, Peacock SJ, Parkhill J, Zadoks RN, Holmes MA. First detection of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 in bulk tank milk in the United Kingdom. *Euro Surveill*, 2012, 17(50):20337.

Peacock S. *Staphylococcus aureus*. In: Gillespie SH, Hawkey PM (eds). *Principles and Practice of Clinical Bacteriology*, 2nd ed. England, John Wiley&Sons Ltd, 2006:73-98.

Pehlivanoglu F, Yardımcı H. Detection of Methicillin and Vancomycin resistance in *Staphylococcus* strains isolated from bovine milk samples with mastitis. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2012, 18(5):849-855.

Peles F, Wagner M, Varga L, Hein I, Rieck P, Gutser K, Kereszturi P, Kardos G, Turcsanyi I, Beri B, Szabo A. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine milk in Hungary. *International Journal of Food Microbiology*, 2007, 118:186-193.

Petersen A, Stegger M, Heltberg O, Christensen J, Zeuthen A, Knudsen LK, Urth T, Sorum M, Schouls L, Larsen J, Skov R, Larsen AR. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the novel mecC gene in Denmark corroborates a zoonotic reservoir with transmission to humans. *Clin Microbiol Infect*, 2013, 19:E16-E22.

Pexara A, Solomakos N, Govaris A. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in milk and dairy products. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 2013, 64(1):17-34.

Prescott LM, Harley JP, Klein DA. The Bacteria: Gram-positive bacteria other than *Actinomycetes*. In: Sievers EM, Stanton T, Wilde JL, Schrandt LA, Banowetz JK, Hancock L (eds). *Microbiology*, 1st ed. Dubuque, Wm. C. Brown Publishers, 1996:438-443.

Projan SJ. Antibiotic resistance in the *Staphylococci*. In: Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA, Rood JI (eds). *Gram-Positive Pathogens*, Washington, DC, American Society for Microbiology Press, 2000:463-470.

Pu S, Han F, Ge B. Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from Louisiana retail meats. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75:265-267.

Reilly JS, Stewart S, Christie P, Allardice G, Smith A, Masterton R, Gould IM, Williams C. Universal screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Interim results from the NHS Scotland pathfinder project. *Journal of Hospital Infection*, 2010, 74:35-41.

Rice LB. Antimicrobial resistance in gram positive bacteria. *American Journal of Infection Control*, 2006, 34(5):11-9.

Roberson JR, Fox LK, Hancock DD, Gay JM, Besser TE. Ecology of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites on dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 1994, 77:3354-3364.

Rogmann MC, McGrail L. Novel ways of preventing antibiotic-resistant infections: What might the future hold?. *American Journal of Infection Control*, 2006, 34:469-75.

Rolinson GN, Batchelor FR, Stevens S, Wood JC, Chain EB. Bacteriological studies on a new penicillin – BRL. 1241. *Lancet*, 1960, 276(7150):561-567.

Rybak MJ, LaPlante KL. Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A review. *Pharmacotherapy*, 2005, 25(1):74-85.

Wendlandt S, Schwarz S, Silley P. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A food-borne pathogen?. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2013, 4:117-139.

Salgado CD, Farr BM, Calfee DP. Community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: A meta-analysis of prevalence and risk factors. *Clin. Infect. Dis.*, 2003, 36:131-139.

Saravolatz LD, Pohlod DJ, Arking LM. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: A new source for nosocomial outbreaks. *Ann Intern Med*, 1982, 97:325-329.

Schlegelová J, Babák V, Holasová M, Dendis M. The biofilm-positive *Staphylococcus epidermidis* isolates in raw materials, foodstuffs and on contact surfaces in processing plants. *Folia Microbiol (Praha)*, 2008, 53:500-4.

Schneewind O, Missiakas D. *Staphylococcus aureus* and related *Staphylococci*. In: Goldman E, Green LH (eds). *Practical Handbook of Microbiology*, 2nd ed. USA, CRC Press, 2009:275-294.

Sepin Özen N, Dağlar D, Özhak Baysan B, Yıldırım Ç, Yazısız H, Ögünç D, Öngüt G, Çolak D, Gültekin M. Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının saptanmasında MRSA ID kromojenik besiyerinin değerlendirilmesi. *ANKEM Derg*, 2011, 25(1):31-34.

Sepin Özen N, Tuğlu-Ataman Ş, Seyman D, Aldağ H, Emek M. Antalya ili gıda çalışanlarında nazal *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığının ve MRSA oranlarının üç farklı yöntem kullanılarak incelenmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 2013, 70(2):51-58.

Shanehbandi D, Baradaran B, Sadigh-Eteghad S, Zarredar H. Occurrence of methicillin resistant and enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in traditional cheeses in the North West of Iran. *ISRN Microbiology*, 2014, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/129580>.

Shore AC, Deasy EC, Slickers P, Brennan G, O'Connell B, Monecke S, Ehricht R, Coleman DC. Detection of staphylococcal cassette chromosome mec type XI carrying highly divergent mecA, mecI, mecR1, blaZ, and ccr genes in human clinical isolates of clonal complex 130 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55:3765-3773.

Shorr AF. Epidemiology of staphylococcal resistance. *Clin Infect Dis*, 2007, 45(3):171-6.

Shukla SK, Stemper ME, Ramaswamy SV, Conradt JM, Reich R, Graviss EA, Reed KD. Molecular characteristics of nosocomial and native American community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones from rural Wisconsin. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004, 42:3752-3757.

Silbergeld EK, Graham J, Price LB. Industrial food animal production, antimicrobial resistance and human health. *Annu Rev Public Health*, 2008, 29:151-169.

Simor AE, Phillips E, McGeer A, Konvalinka A, Loeb M, Devlin RH, Kiss A. Randomized controlled trial of chlorhexidine gluconate for washing intranasal mupirocin and rifampin and doxycycline versus no treatment for the eradication of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* colonization. *Clinical Infectious Diseases*, 2007, 44:178-85.

Singh K, Gavin PJ, Vescio T, Thomson Jr RB Jr, Deddish RB, Fisher A, Noskin GA, Peterson LR. Microbiologic surveillance using nasal cultures alone is sufficient for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in neonates. *J Clin Microbiol*, 2003, 41:2755-2757.

Smith TC. Livestock-Associated *Staphylococcus aureus*: The United States Experience. *PLoS Pathogens*, 2015, 11(2):e1004564. doi:10.1371/journal.ppat.1004564.

Snyder HL. Determination of transfer of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from retail pork products onto food contact surfaces and the potential for consumer exposure. Microbiology, Master of Science, Iowa: Iowa State University, 2012.

Soll DR, Lockhart SR, Pujol C. Laboratory procedures for the epidemiological analysis of microorganism. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds). *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed. Washington, ASM press, 2003:139-161.

Spellberg B, Guidos R, Gilbert D, Bradley J, Boucher HW, Scheld WM, Bartlett JG, Edwards J Jr, Infectious Diseases Society of America. The epidemic of antibiotic-resistant infections: A call to action for the medical community from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*, 2008, 46:155-64.

Spohr M, Rau J, Friedrich A, Klittich G, Fetsch A, Guerra B, Hammerl JA, Tenhagen BA. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in three dairy herds in Southwest Germany. *Zoonoses Public Health*, 2011, 58:252-261.

Spoor LE, McAdam PR, Weinert LA, Rambaut A, Hasman H, Aarestrup FM, Kearns AM, Larsen AR, Skov RL, Fitzgerald JR. Livestock origin for a human pandemic clone of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *mBio*, 2013, 4(4).

Stapleton PD, Taylor PW. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: Mechanisms and modulation. *Sci Prog*, 2002, 85:57-72.

Sudağıdan M, Çavuşoğlu C, Bacakoğlu F. Biyomalzeme yüzeylerinden izole edilen metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarında virulans genlerinin araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 2008, 42:29-39.

Sürücüoğlu S, Sakarya M, Gazi H, Ecemiş T, Kurutepe S. Riskli hastalarda metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığının belirlenmesinde hızlı tanı testlerinin değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 2011, 68(3):115-121.

Szczuka E, Kaznowski A. Antimicrobial activity of tigecycline alone or in combination with rifampin against *Staphylococcus epidermidis* in biofilm. *Folia Microbiol (Praha)*, 2014, 59:283-8. <http://dx.doi.org/10.1007/s12223-013-0296-9>.

T.C. Sağlık Bakanlığı. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS). <http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/Dosya/tani-rehberi/uamdss/06-AMD-TP-03-CLSI-Kirby-Bauer-disk-difuzyon-yontemi.pdf>. 20 Ekim 2015.

Tamarapu S, McKillip JL, Drake M. Development of a multiplex polymerase chain reaction assay for detection and differentiation of *Staphylococcus aureus* in dairy products. *J Food Prot*, 2001, 64:664-668.

Tenover FC, Gaynes RP. Epidemiology of *Staphylococcus* infections. In: Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA, Rood JJ (eds). *Gram positive pathogens*, 2nd ed. Washington, DC, ASM Press, 2000:414-421.

Todar K. *Staphylococcus*. <http://www.textbookofbacteriology.net/staph.html>. 30 Nisan 2015.

Tünger A. *S. aureus*: Mikrobiyoloji, patogenezi ve epidemiyoloji. *İçinde: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S (editörler). Önemli ve sorunlu gram pozitif bakteri infeksiyonları'nda*, Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004:9-22.

Türkyılmaz S, Tekbıyık S, Oryasin E, Bozdoğan B. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance mechanisms of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bovine milk. *Zoonoses Pub Health*, 2010, 57:197-203

Udo EE, Pearman JW, Grubb WB. Genetic analysis of community isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Western Australia. *J Hosp Infect*, 1993, 25:97-108.

Uğur A, Ceylan Ö. Occurrence of resistance to antibiotics, metals, in clinical strains of *Staphylococcus aureus* spp. *Arch Medical Res*, 2003, 34:130-136.

Ünal N. Subklinik mastitisli inek sütlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* izolatlarında bazı toksin genleri ve metisilin direnç geninin araştırılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 2013, 60:21-26.

van Duijkeren E, Jansen MD, Flemming SC, de Neeling H, Wagenaar JA, Schoormans AHW, van Nes A, Fluit AC. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in pigs with exudative epidermitis. *Emerg Infect Dis*, 2007, 13:1408–1410.

Van Loo I, Huijsdens X, Tiemersa E, de Neeling A, van de Sande-Bruinsma N, Beaujean D, Voss A, Kluytmans J. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of animal origin in humans. *Emerging of infectious Diseases* 2007, 13:1834-1839.

Vanderhaeghen W, Hermans K, Haesebrouck F, Butaye P. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in food production animals. *Epidemiol. Infect.*, 2010, 138:606-625.

Velasco D, del Mar Tomas M, Cartelle M, Beceiro A, Perez A, Molina F, Moure R, Villanueva R, Bou G. Evaluation of different methods for detecting methicillin (oxacillin) resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother*, 2005, 55:379-82.

Vicca J, Vanderhaeghen W, Cerpentier T, Butaye P. Prevalence at herd-level of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* in milk samples of dairy herds. *Mastitis Control-From Science to Practice*, 2008, 71-75.

Virgin JE, Van Slyke TM, Lombard JE, Zadoks RN. *Short communication:* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* detection in US bulk tank milk. *Journal of Dairy Science*, 2009, 92:4988-4991.

Voss A, Loeffen F, Bakker J, KlaDonkeyen C, Wulf M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in pig farming. *Emerging Infectious Diseases*, 2005, 11(12):1965-1966.

Vuong C, Otto M. *Staphylococcus epidermidis* infections. *Microbes Infect*, 2002, 4:481-489.

Vyletelova M, Hanus O, Karpiskova R, Stastkova Z. Occurrence and antimicrobial sensitivity in *Staphylococci* isolated from goat, sheep and cow's milk. *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendelianae Brun*, 2011, 59:209-214.

Waldvogel FA. *Staphylococcus aureus*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and practices of infectious diseases*, 4th ed. New York, Churchill Livingstone, 1995:1754-1777.

Wannet W, Heck M, Pluister G, Spalburg E, De Neeling AJ. Panton valentine leucocidine positive MRSA in 2003: The Dutch situation. *European Surveillance*, 2004, 9(11):28-29.

Weese J, Dick H, Willey B, McGeer A, Kreiswirt B, Innis B, Low D. Suspected transmission of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and the household. *Veterinary Microbiology*, 2010a, 115:148-155.

Weese JS, Reid-Smith R, Rousseau J, Avery B. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) contamination of retail pork. *Can Vet J*, 2010b, 51:749-752.

Wenzel RP, Perl TM. The significance of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and the incidence of postoperative wound infection. *Jour Hosp Infect*, 1995, 31:13-24.

Wieneke AA, Roberts D, Gilbert RJ. Staphylococcal food poisoning in the United Kingdom, 1969–1990. *Epidemiol Infect*, 1993, 110:519-531.

Witte W, Cuny C, Klare I, Nübel U, Strommenger B, Werner G. Emergence and spread of antibiotic-resistant gram-positive bacterial pathogens. *International Journal of Medical Microbiology*, 2008, 298:365-377.

Wulf M, Voss A. MRSA in livestock animals and epidemic waiting to happen? *Clinical Microbiology and Infection*, 2008b, 14:519-521.

Wulf MW, Sørum M, van Nes A, Skov R, Melchers WJ, Klaassen CH, Voss A. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among veterinarians: an international study. *Clin Microbiol Infect*, 2008a, 14(1):29-34.

Xu Z, Li L, Shirliff ME, Peters BM, Li B, Peng Y, Alam MJ, Yamasaki S, Shi L. Resistance class 1 integron in clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in Southern China, 2001–2006. *Clinical Microbiology and Infection*, 2011, 17(5):714-718.

Yasuda R, Kawano J, Onda H, Takagi M, Shimizu A, Anzai T. Methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci isolated from healthy horses in Japan. *Am J Vet Res*, 2000, 61:1451-1455.

Yücel N, Anıl Y. Çiğ süt ve peynir örneklerinden *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilokokların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılığı. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 2011, 68(2):73-78.

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*, 2008, 127:246-251.

Zetola N, Francis JS, Nuermberger EL, Bishai WR. Community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: An emerging threat. *Lancet Infect Dis*, 2005, 5:275-286.

EKLER

EK-1. Özgeçmiş.

KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı	: Nisanur EKTİK
Doğum tarihi	: 22.05.1991
Doğum yeri	: Balıkesir
Medeni hali	: Bekâr
Uyruğu	: T.C.
Adres	: Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Çağış Kampüsü, Balıkesir
Tel	: 0541 944 92 12
E-mail	: nisanurektik@hotmail.com
EĞİTİM	
Lise	: Sırrı Yırcalı Anadolu Lisesi (2009)
Lisans	: Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi (2009-2013)
YABANCI DİL BİLGİSİ	
İngilizce	: İyi derecede (YDS: 70, Eylül 2014)