

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZİ

HASTANE VE GIDA İŞLETMELERİNDEKİ GIDA
ÇALIŞANLARINDAN *Staphylococcus aureus* İZOLASYONU VE
KARAKTERİZASYONU

Nesrin ÇAKICI

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 03/07/2015

Tez Danışmanı:

Yrd. Doç. Dr. Nükhet DEMİREL ZORBA

Eş Danışman:

Doç. Dr. Alper AKÇALI

ÇANAKKALE

Nesrin ÇAKICI tarafından Yrd. Doç. Dr. Nükhet DEMİREL ZORBA ve eş danışman Doç. Dr. Alper AKÇALI yönetiminde hazırlanan ve **03/07/2015** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Hastane ve Gıda İşletmelerindeki Gıda Çalışanlarından *Staphylococcus aureus* İzolasyonu ve Karakterizasyonu**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**’nda **DOKTORA TEZİ** olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Yrd. Doç. Dr. Nükhet DEMİREL ZORBA

Başkan

Doç. Dr. Alper ŞENER

Üye

Yrd. Doç. Dr. Handan BAYSAL

Üye

Prof. Dr. Duygu KIŞLA

Üye

Doç. Dr. Yonca YÜCEER

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:.....

Bu tez çalışması TUBİTAK tarafından 113S562 (2014) numaralı projeden desteklenmiştir.

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Nesrin ÇAKICI

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen saygı değer danışman hocalarım Yrd. Doç. Dr. Nükhet N. DEMİREL ZORBA ve Doç. Dr. Alper AKÇALI'ya sonsuz teőekkürlerimi sunarım. Tez projemize mali kaynak sağlayarak bir bilim insanının yetişmesine verdiği destekten dolayı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TUBİTAK) teőekkürü borç bilirim.

Çalışmamızın istatistiksel analizlerinin gerçekleştirilmesini sağlayan Doç. Dr. Coşkun BAKAR'a (Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çanakkale), alışma esnasında kullanılan referans suşların edinildiği Prof. Dr. Ömer AKINEDEN (Giessen Üniversitesi, Gıda Bilimleri Veterinerlik Enstitüsü, Almanya), Yrd. Doç. Dr. Ali GüCüKOğLU (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi, Samsun) ve Yrd. Doç. Dr. Pınar KADIROğLU'na (Adana Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana) ok teşekkür ederim. Örneklerin toplanması sırasında bana yardımcı olan Merve MARAŐ'a ayrıca çalışma süresince bana her konuda destek olan başta sevgili eşim Hasan ÇAKICI olmak üzere kızlarım Göksu ve Doğa ÇAKICI'ya ve değerli aileme sonsuz teőekkürler.

Nesrin ÇAKICI

anakkale, Temmuz 2015

SİMGELER VE KISALTMALAR

kDa	Kilodalton
pmol	Pikomol
pH	Hidrojen yükü
aw	Su aktivitesi
°C	Santigrat
bp	Baz çifti
n	Kişi/izolat sayısı
NaCl	Sodyum klorür
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
TE	Tris EDTA solüsyonu
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate
BHI	Brain Heart Infusion Broth
BPA	Baird Parker Agar
MHA	Muller Hinton Agar
KNS	Koagulaz Negatif Stafilokok
MRSA	Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	Metisilin duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
TK- MRSA	Toplum kaynaklı Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
PBP	Penisilin Bağlayan Protein
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
MLST	Multilocus Sequence Typing
PFGE	Pulsed-Field Gel Electrophoresis
<i>spa</i>	Stafilokokal protein A geni
<i>MecA</i>	Metisilin direnci geni
<i>SCCmec</i>	Stafilokokal Kaset Kromozom (<i>mec</i> genini taşıyan)
<i>sea</i>	Stafilokokal enterotoksin A geni
<i>seb</i>	Stafilokokal enterotoksin B geni
<i>sec</i>	Stafilokokal enterotoksin C geni
<i>sed</i>	Stafilokokal enterotoksin D geni
<i>see</i>	Stafilokokal enterotoksin E geni
ELISA	Enzim İşaretli İmmun Deney
SE	Stafilokokal Enterotoksinler

SEA	Stafilokokal enterotoksin A
SEB	Stafilokokal enterotoksin B
SEC	Stafilokokal enterotoksin C
SED	Stafilokokal enterotoksin D
SEE	Stafilokokal enterotoksin E
TSST-1	Toksik Şok Sendromu Toksini
TSS	Toksik Şok Sendromu
ETA	Eksfoliatif Toksin A
ETB	Eksfoliatif Toksin B
SGZ	Stafilokokal Gıda Zehirlenmesi

ÖZET

HASTANE VE GIDA İŞLETMELERİNDEKİ GIDA ÇALIŞANLARINDAN *Staphylococcus aureus* İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU

Nesrin ÇAKICI

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Nükhet N. DEMİREL ZORBA

Eş Danışman: Doç. Dr. Alper AKÇALI

03/07/2015, 93

Bu çalışma, Çanakkale ilindeki hastaneler ve bazı gıda işletmelerindeki gıdaların işlenmesi ve dağıtımında görevli kişilerin *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığının tespiti, *S. aureus* izolatlarının antibiyotik direnç profillerinin, enterotoksin üretme özelliklerinin ve staphylococcal protein A (*spa*) tiplerinin belirlenmesi amacı ile gerçekleştirilmiştir.

Araştırmaya 228'i gıda işletmelerinde, 72'si hastanede görevli 300 gıda çalışanı katılmıştır. Bu kişilere sosyodemografik özellikler, hijyen ve gıda güvenliği ile ilgili 14 soruluk anket uygulanmıştır. *S. aureus* taşıyıcılık durumlarını belirlemek için burun deliklerinden ve ellerden sürüntü örnekleri alınmıştır. Gıda işletmelerindeki kişilerin 93'ünde (%40.8), hastane mutfak görevlilerinin 32'sinde (%44.4) *S. aureus* taşıyıcılığı (burun ve/veya el) tespit edilmiştir.

Gıda çalışanlarından elde edilen 215 *S.aureus* izolatının 15 adet antibiyotiğe karşı duyarlılığı araştırılmıştır. Metisilin direnci disk difüzyon, lateks aglütinasyon ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile araştırılmıştır. Elde edilen *S. aureus* izolatlarında metisilin direnci (MRSA) oranı %1.39 olarak belirlenmiştir.

125 *S.aureus* izolatında enterotoksin genleri (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*) multipleks PZR yöntemi ile analiz edilmiştir. İzolatların 20'sinin *sea*, 8'inin *seb*, 12'sinin *sec*, 8'inin *sed* genine sahip oldukları, 6'sının *sea* ve *sed* genlerini birlikte taşıdıkları saptanmıştır. İzolatların enterotoksin üretilip üretilmediği ELISA yöntemiyle araştırılmıştır. 18'inin A, 9'unun B, 16'sının C, 14'ünün D, 26'sının E toksini üretmiş olduğu saptanmıştır.

S. aureus izolatları arasında 61 *spa* tip elde edilmiştir. Bir izolatta yeni *spa* tip (t14963) belirlenmiş ve Ridom SpaServer veritabanına eklenmiştir. Bir izolatın kullanılan primerler ile *spa* gen bölgesi çoğaltılamamıştır. İzolatların 11'i t084, 9'u t008, 8'i t005, MRSA izolatları ise t223(n=2) ve t786 olarak tespit edilmiştir.

Anahtar sözcükler: Hastane, Gıda işletmeleri, Gıda çalışanları, *Staphylococcus aureus*, Enterotoksin, MRSA, *spa*.

ABSTRACT

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF *Staphylococcus aureus* FROM FOOD HANDLERS IN HOSPITALS AND FOOD SERVICE ESTABLISHMENTS

Nesrin ÇAKICI

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Doctoral Dissertation in Food Engineering

Advisor: Asst. Prof. Nükhet N. DEMİREL ZORBA

Coadvisor: Assoc. Prof. Alper AKÇALI

03/07/2015, 93

This research was carried to detect the prevalence of the *S.aureus* carriage of food handlers in hospitals and some food service establishments in Çanakkale and to determine the antibiotic resistance profile, staphylococcal enterotoxin production and staphylococcal protein A (*spa*) types of *S.aureus* isolates.

Among the 300 participants 228 of them were working in community food service establishments while 72 of them were working in hospitals. It was applied a questionnaire of 14 questions related to sociodemographic characteristics, food hygiene and safety to these people. Hand and nasal swabs were collected from food workers to determine the prevalence of *S. aureus* carriage. *S. aureus* was isolated from 93 (40.8%) and 32 (44.4%) of food handlers in community food service and hospital food service staff respectively. 215 isolates were obtained from 125 from participants. Methicillin resistance of isolates were evaluated by disc diffusion method, latex agglutination test and polymerase chain reaction (PCR). The percentage of methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) was determined as 1.39%.

In 125 *S.aureus* isolates, the presences of staphylococcal enterotoxin genes were investigated by multiplex PCR. The number of the isolates that carry *sea*, *seb*, *sec* and *sed* genes were determined as 20, 8, 12 and 8 respectively, 6 of the isolates carry both *sea* and *sed* genes. The enterotoxin productions of the isolates were also investigated with ELISA method. The number of isolates that produce SEA, SEB, SEC, SED and SEE were determined as 18, 9, 16, 14 and 26 respectively.

61 *spa* type was obtained between *S. aureus* isolates. A new *spa*-type (t14963) was determined and has been added to Ridom SpaServer database. Among the *spa* types, 11 of them were t084, 9 of were t008, 8 of were t005. The *spa* type of MRSA were determined as t223 (n=2) and t786.

Keywords: Hospital, Food Service Establishments, Food handlers, *Staphylococcus aureus*, Enterotoxin, MRSA, *spa*.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEZ SINAV SONUÇ FORMU	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
BÖLÜM 1 – GİRİŞ	1
BÖLÜM 2 – ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	4
2.1. Stafilokoklar, Morfolojik ve Kültür Özellikleri	4
2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	5
2.3. Virülans Faktörler.....	6
2.3.1. Hücre duvar yapısı.....	6
2.3.2. Hücre dışı faktörler	7
2.3.2.1. Enzimler	7
2.3.2.2. Toksinler	8
2.3.2.2.1. Sitolitik toksinler	8
2.3.2.2.2. Toksik şok sendromu toksini (TSST-1)	9
2.3.2.2.3. Eksfoliyatif toksin	9
2.3.2.2.4. Enterotoksin	9
2.4. Neden Olduğu Hastalıklar	11
2.4.1. İnvaziv hastalıklar.....	11
2.4.2. Sistemik enfeksiyonlar	12
2.4.3. Toksik enfeksiyon hastalıkları	12
2.4.3.1. Toksik şok sendromu (TSS)	12
2.4.3.2. Stafilokokal haşlanmış deri sendromu	12
2.4.3.3. Stafilokokal gıda zehirlenmesi.....	12
2.5. Antibiyotik Direnci.....	15
2.6. Gıda Çalışanlarının <i>S. aureus</i> Taşıyıcılığı.....	16
2.7. Stafilokokal Protein A (<i>spa</i>) Tiplendirme Yöntemi	17
BÖLÜM 3 – MATERYAL VE YÖNTEM	20
3.1. Örnekleme	20

3.2. Yöntem	21
3.2.1. Örneklerin alınması	21
3.2.2. İzolatların fenotipik yöntemlerle tanımlanması.....	22
3.2.2.1. Gram boyama.....	22
3.2.2.1. Katalaz testi.....	22
3.2.2.1. Koagülaz testi.....	22
3.2.2.1. Lateks aglütinasyon testi.....	22
3.2.3. İzolatların genotipik yöntemlerle tanımlanması.....	22
3.2.3.1. DNA ekstraksiyonu.....	23
3.2.3.2. <i>spa</i> geninin PZR yöntemi ile belirlenmesi.....	24
3.2.4. Antimikrobiyal duyarlılık testleri	26
3.2.5. Metisilin direncinin lateks aglütinasyon yöntemi ile belirlenmesi.....	28
3.2.6. <i>MecA</i> geninin PZR yöntemi ile belirlenmesi.....	28
3.2.7. Stafilokokal enterotoksin genlerinin multipleks PZR yöntemi ile belirlenmesi.....	28
3.2.8. Stafilokokal enterotoksinlerin ELISA yöntemiyle belirlenmesi	31
3.2.9. İzolatların <i>spa</i> tiplerinin belirlenmesi.....	32
3.3. İstatistiksel Analizler	34
BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	35
4.1. Gıda Çalışanlarına Ait Bulgular	35
4.1.1. Gıda çalışanlarının cinsiyetleri	35
4.1.2. Gıda çalışanlarının yaş ortalamaları	35
4.1.3. Katılımcı anket formunun değerlendirilmesi.....	36
4.1.4. Gıda çalışanlarının <i>S. aureus</i> taşıyıcılığı	42
4.1.5. <i>S.aureus</i> taşıyıcılarının cinsiyetlere göre dağılımı	45
4.1.6. Burun taşıyıcılığının el taşıyıcılığına etkisi	45
4.1.7. <i>S. aureus</i> taşıyıcılarının eğitim seviyesi	46
4.1.8. Eldiven kullanımının <i>S. aureus</i> taşıyıcılığına etkisi	47
4.1.9. Eldiven kullanımının <i>S. aureus</i> el taşıyıcılığına etkisi	48
4.1.10. Maske kullanımının <i>S. aureus</i> taşıyıcılığına etkisi.....	49
4.1.11. Maske kullanımının <i>S. aureus</i> burun taşıyıcılığına etkisi.....	49
4.1.12. Gıda güvenliği eğitiminin <i>S. aureus</i> taşıyıcılığına etkisi.....	50
4.1.13. Gıda güvenliği eğitiminin el taşıyıcılığına etkisi.....	51
4.1.14. Gıda güvenliği eğitiminin burun taşıyıcılığına etkisi	51
4.2. <i>S. aureus</i> İzolatlarına Ait Bulgular	52

4.2.1. Gıda çalışanlarından elde edilen <i>S.aureus</i> izolatlarının dağılımı	52
4.2.2. <i>S. aureus</i> izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçları.....	54
4.2.3. MRSA lateks aglütünasyon testi sonuçları	55
4.2.4. <i>S. aureus</i> izolatlarında <i>mecA</i> geninin saptanması.....	55
4.2.5. <i>S. aureus</i> izolatlarında <i>sea</i> , <i>seb</i> , <i>sec</i> genlerinin saptanması.....	56
4.2.6. <i>S. aureus</i> izolatlarında <i>sed</i> ve <i>see</i> genlerinin saptanması	57
4.2.7. Stafilokokal enterotoksin geni saptanan izolatların işyeri tipine göre dağılımı.....	58
4.2.8. Stafilokokal enterotoksin A, B, C, D ve E varlığının ELISA yöntemiyle belirlenmesi	63
4.2.9. <i>S. aureus</i> izolatlarının <i>spa</i> tiplerinin belirlenmesi	66
4.2.9.1. <i>Spa</i> tiplerinin gıda işletmelerine göre dağılımı.....	70
4.2.9.2. <i>Spa</i> tiplerinin hastanelere göre dağılımı	74
BÖLÜM 5 – SONUÇLAR VE ÖNERİLER	80
KAYNAKLAR	84
EKLER.....	I
EK 1. Etik Kurul Bilgilendirme Formu	I
EK 2. Onam Formu	II
EK 3. Katılımcı Anket Formu	III
ÖZGEÇMİŞ	IV

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. <i>S. aureus</i> protein A gen haritası.....	17
Şekil 2.2. Baz dizileri kısa tekrar bölgelerinin <i>spa</i> tipini belirlemesi	19
Şekil 3.1. Bakteri kolonilerinin Baird Parker Agar besiyerindeki görünümü.....	21
Şekil 3.2. DNA ekstraksiyon protokolü denemesinin jel elektroforez görüntüsü.....	23
Şekil 3.3. RZR ürünlerinin jele yüklenmesi.....	25
Şekil 3.4. Agaroz jel elektroforezi	25
Şekil 3.5. İzolatlarda (1-31) <i>spa</i> genine ait bandların görüntüsü	26
Şekil 3.6. Forward ve reverse dizilerinin DNAGear programında görüntülenmesi	33
Şekil 3.7. DNA dizilerinin DNAGear programı kullanılarak tanımlanması.....	34
Şekil 4.1. 13 numaralı <i>S. aureus</i> izolatının sefoksitin direnci.....	54
Şekil 4.2. 38 numaralı izolatın <i>mecA</i> gen jel görüntüsü.....	55
Şekil 4.3. <i>S. aureus</i> izolatlarının <i>sea</i> , <i>seb</i> , <i>sec</i> multipleks PZR jel görüntüsü	57
Şekil 4.4. <i>S. aureus</i> izolatlarının <i>sed</i> , <i>see</i> multipleks PZR jel görüntüsü.....	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. İnsanda klinik açıdan önemi bulunan stafilokokların temel özellikleri.....	5
Çizelge 2.2. <i>S. aureus</i> gelişimini, enterotoksin oluşumunu etkileyen faktörler	11
Çizelge 3.1. Gıda çalışanlarının hastanelere göre dağılımı	20
Çizelge 3.2. Gıda çalışanlarının gıda işletmelerine göre dağılımı.....	20
Çizelge 3.3. Reaksiyon karışımı hazırlanması.....	24
Çizelge 3.4. Antibiyotiklerin disk içerikleri ve zon çapları.....	27
Çizelge 3.5. Multipleks PZR reaksiyon karışımı karışımı-1 (<i>sea, seb, sec</i>).....	30
Çizelge 3.6. Multipleks PZR reaksiyon karışımı karışımı-2 (<i>sed, see</i>)	30
Çizelge 4.1. Gıda çalışanlarının cinsiyetlerinin işyeri tipine göre dağılımı.....	35
Çizelge 4.2. Gıda çalışanlarının yaş ortalamalarının işyeri tipine dağılımı.....	36
Çizelge 4.3. Gıda çalışanlarının anket sorularına verdikleri cevapların dağılımı.....	38
Çizelge 4.4. <i>S. aureus</i> taşıyıcılarının işyeri tipine göre dağılımı.....	43
Çizelge 4.5. <i>S. aureus</i> taşıyıcılarının cinsiyetlere göre dağılımı	45
Çizelge 4.6. El taşıyıcılığının burun taşıyıcılığına göre dağılımı	46
Çizelge 4.7. <i>S. aureus</i> taşıyıcılık durumlarının eğitim seviyesine göre dağılımı	47
Çizelge 4.8. <i>S. aureus</i> taşıyıcılarının eldiven kullanma alışkanlıkları.....	48
Çizelge 4.9. <i>S. aureus</i> el taşıyıcılarının eldiven kullanma alışkanlıkları.....	49
Çizelge 4.10. <i>S. aureus</i> taşıyıcılarının maske kullanma alışkanlıkları	49
Çizelge 4.11. <i>S. aureus</i> burun taşıyıcılarının maske kullanma alışkanlıkları	50
Çizelge 4.12. <i>S. aureus</i> taşıyıcılarının gıda güvenliği eğitimi alma durumları	50
Çizelge 4.13. <i>S. aureus</i> el taşıyıcılarının gıda güvenliği eğitimi alma durumları	51
Çizelge 4.14. <i>S. aureus</i> burun taşıyıcılarının gıda güvenliği eğitimi alma durumları	51
Çizelge 4.15. <i>S. aureus</i> izolatlarının vücut bölgelerine göre dağılımı.....	52
Çizelge 4.16. Hastane gıda çalışanlarından elde edilen <i>S. aureus</i> izolatlarının vücut bölgelerine göre dağılımı	53
Çizelge 4.17. Gıda işletmelerindeki gıda çalışanlarından elde edilen <i>S.aureus</i> izolatlarının vücut bölgelerine göre dağılımı	53
Çizelge 4.18. Enterotoksin geni tespit edilen <i>S. aureus</i> izolatları	58
Çizelge 4.19. Toksin geni taşıyan izolatların işyeri tipine göre dağılımı	59
Çizelge 4.20. <i>S. aureus</i> izolatlarının toksin geni çeşidine göre işyeri tiplerine dağılımı	60
Çizelge 4.21. Toksin geni taşıyan izolatların işyeri adlarına göre dağılımı	61
Çizelge 4.22. PZR ve ELISA bulgularının karşılaştırılması.....	64

Çizelge 4.23. <i>Spa</i> tiplerinin işyeri tiplerine göre dağılımı	68
Çizelge 4.24. <i>Spa</i> tiplerinin gıda işletmeleri arasındaki dağılımı	71
Çizelge 4.25. <i>Spa</i> tiplerinin hastaneler arasındaki dağılımı.....	75

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Birçok sistemik ve lokal enfeksiyona neden olabilen stafilocoklar, hem hastane enfeksiyonlarında hem de gıda sektöründe epidemiyi yapabileceği özellikleri bulunduğundan halk sağlığı açısından önemli mikroorganizmalardır. Stafilocok türleri içerisinde en önemli insan patojenlerinden biri olan *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*), insanlarda önemli bir flora üyesi olmasının yanında hayatı tehdit eden osteomyelit, endokardit, toksik şok sendromu gibi hastalıkların ve dünya çapında en yaygın gıda kaynaklı intoksikasyonlardan biri olan stafilocokal gıda zehirlenmesinin sebebidir.

Gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyonlarına neden olan çok sayıda mikroorganizmadan bazıları özel öneme sahiptir. *S. aureus*' da bu bakterilerden biri olup birçok ülkede gıda kaynaklı hastalıkların en önemli üçüncü nedeni olarak kabul edilmektedir (Morandi ve ark., 2007; Veras ve ark., 2008). Enterotoksin üreten *S.aureus* türlerinin sebep olduğu stafilocokal gıda zehirlenmesi, pek çok ülkede önemli bir gıda kaynaklı hastalık olup enterotoksijenik yapıya sahip stafilocokların gıdalarda 10^6 kob/g veya daha yüksek sayıya ulaşması sırasında sentezlenen bir ekzotoksin olan enterotoksinin sindirim yolu ile alımı sonucu oluşmaktadır. Stafilocokal enterotoksinler (SE) gıda zehirlenmelerinin yanı sıra, toksik şok benzeri sendroma, artrite, alerjik reaksiyonlara ve otoimmün hastalıklara neden olmaktadır (Erol ve İşeri, 2004; Cha ve ark., 2006).

Tüm dünyada giderek artan oranda rapor edilmekte olan burun *S.aureus* taşıyıcılığı, stafilocok enfeksiyonlarının bilinen en önemli risk faktörlerinden biridir (Soriano ve ark., 2002). *S.aureus*, pekçok vücut bölgesinde, deri ve mukozada hastalık oluşturmaksızın taşınabilmekle beraber esas kaynağının burun bölgesi olduğu düşünülmektedir. Burundaki mevcut suşlar genellikle ellere, parmaklara ve yüze bulaşabilmekte ve böylece burun taşıyıcıları kolayca cilt taşıyıcısı olabilmektedir. *S. aureus*'un burun taşıyıcılığı ile ellerdeki taşıyıcılık arasında kuvvetli bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (Wertheim ve ark., 2005).

Stafilocokal gıda zehirlenmesine sebep olan *S. aureus* bakterileri gıda işleyicilerinin ellerinde bulunabilmekte ve gıda işleme sırasında gıdalara kolaylıkla bulaşabilmektedirler. Özellikle proteince zengin, pişmiş gıdalara bulaşan bu bakteriler uygun üreme şartları oluştuğunda intoksikasyon sebebi olabilmektedir. Gıda hazırlanması ve/veya servisinde çalışan enterotoksijenik stafilocok taşıyıcıları gıdaların kontaminasyonunda, dolayısıyla stafilocoklara bağlı gıda zehirlenmelerinde önemli rol oynar.

Sağlıklı kişilerde stafilokokal gıda zehirlenmesi her ne kadar kendini sınırlayan intoksikasyona yol açsa da hem bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde ciddi enfeksiyonlara yol açabilmesi, hem de epidemik bulaş açısından önem taşımaktadır.

Tüm dünyada toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonların en önemli etkenlerinden biri olan *S. aureus* suşlarında antibiyotiklerin çoğuna dirençli izolatların ortaya çıkışı ve tüm dünyada hızlı yayılışı stafilokok enfeksiyonlarının tedavisinde önemli bir sorun olmuştur. Tedavide problem yaratan direnç özellikleri içerisinde kuşkusuz en önemlisi metisilin direncidir (Hiramatsu ve ark., 2002). Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) enfeksiyonlarının büyük çoğunluğunun hastane kaynaklı olmasına karşın, son yıllarda antibiyotik duyarlılık profili açısından hastane kökenlerinden belirgin farklılıklar gösteren toplum kökenli MRSA (TK-MRSA) enfeksiyonlarında önemli artışlar gözlenmektedir. Hastane ortamında MRSA ile kolonize olan bireylerle yakın temasta bulunan kişilere MRSA aktarılmakta ve bunun fark edilmemesi sonucunda MRSA toplumda yayılabilmektedir. Çoklu ilaç direnci gösteren bir patojen olması nedeniyle MRSA'nın önemi büyüktür (Ulusoy ve ark., 2006). Çoklu antibiyotik direnci, artan rastlanma sıklığı nedeniyle gıda işleyicileri ve gıdalardan izole edilen MRSA suşları önemli bir problemdir.

Moleküler tiplendirme mikroorganizmalar arasındaki klonal ilişkilerin belirlenmesini sağlayarak moleküler epidemiyolojik çalışmalarda özellikle salgınların kaynaklarının ve yayılımının belirlenmesinde önem kazanmıştır. *S.aureus*'ların sebep olduğu salgınlarda Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE), Multilocus Sequence Typing (MLST), Staphylococcal Cassette Chromosome *mecA* (*SCCmec*) ve stafilokokal protein A (*spa*) tiplendirme yöntemi gibi çok sayıda moleküler tiplendirme metodu kullanılmaktadır. Son yıllarda diğer yöntemlerde karşılaşılan maliyet, hız ve tekrarlanabilirlik gibi zorluklar *spa* tiplendirme yöntemini ön plana çıkarmıştır. Klonal ilişkinin araştırılmasında ve epidemiyolojik çalışmalarda *spa* geni poliformik X bölgesinin analizine dayanan bu yöntemin önemi gittikçe artmaktadır (Al-Tam ve ark., 2012). Araştırmacıların belirlemiş oldukları yeni *spa* tipleri ve tekrarlarının günümüzde kolayca erişilebilen veritabanında (<http://www.spaserver.ridom.de/>) paylaşımları mümkündür. Güncel olarak web sitesinde 667 tekrar bölgesi, 14731 *spa* tipi tanımlanmış bulunmaktadır (Ridom SpaServer, 2015). Bu yolla sağlanacak olan epidemiyolojik veri paylaşımı ulusal ve global anlamda *spa* tiplerinin benzerliklerinin ortaya koyulmasına olanak sağlamaktadır.

Bu araştırma, Çanakkale ilindeki hastaneler ve bazı gıda işletmelerindeki gıda çalışanlarının bazı sosyodemografik özelliklerinin, gıda güvenliği ve hijyen konusundaki bilgi düzeylerinin tespit edilmesi, bu kişilerdeki *S. aureus* taşıyıcılık oranlarının

belirlenmesi, *S. aureus* suşlarının antibiyotik direnci ve enterotoksin üretip üretmediklerinin ortaya koyulması ayrıca Çanakkale ilinden izole edilen *S. aureus* suşları arasında *spa* tiplendirme metoduna dayalı klonal ilişkinin araştırılması ve epidemiyolojik verilerin elde edilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Stafilokoklar, Morfolojik ve Kültür Özellikleri

Stafilokoklar, insan normal florasında bulunmakla birlikte ciddi enfeksiyona da neden olabilen bakterilerdir. Doğada, tozda, hayvanların çıkartılarında da yaygın olarak bulunabilir ve insanların deri, burun boşluğu ve lezyonlarında üreyebilirler. Son zamanlarda gittikçe artan oranda hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyon etkeni olmaya başlamışlardır (Madigan ve Martingo, 2010).

Stafilokokları, ilk kez 1878’de Robert Koch tanımlamış, 1880’de Pasteur sıvı besiyerinde üretmiş ve 1881’de Alexander Ogston fare ve kobaylar için patojen olduklarını vurgulamıştır. Stafilokoklar 0.8-1.0 µm çapında hareketsiz, sporsuz, katalaz pozitif, gram pozitif koklardır. Bu organizmalar tekli, ikili, dördü ve kısa zincirler şeklinde dizilim gösterebilirler fakat en sık üzüm salkımı şeklinde görünürler. Dış çevre şartlarına, kuruluğa, yüksek tuz konsantrasyonuna dayanıklıdır. Stafilokoklar sporlanmaz ancak kuruluğa dayanıklı olduğu için havadaki ve yüzeylerdeki toz partikülleri içinde kolayca yayılabilirler. Bilinen adi besiyerinde aerob ve anaerob, çoğunluğu %10’a kadar NaCl’lü tuz konsantrasyonlarında ve 6.5-45°C’ler arasında üreyebilirler. Bu bakterilerin optimal üreme ısıları 30-37°C ve pH:7-7.5’dir. Stafilokoklar, kanlı agarda 18-24 saatte yuvarlak, düzgün, 1-4 mm çapında, hafif konveks koloniler oluştururlar. Gliserol monofosfat ve yağ asitleri ile zenginleştirilmiş besiyerlerinde, 37°C de ürediklerinde, keratenoidlerden dolayı, pigment oluştururlar. *S.aureus* altın sarısı *S.epidermidis* tebeşir beyazı renginde koloniler oluştururlar. Anaerobik koşullarda ve sıvı besiyerinde pigment yapmazlar. Glikozun parçalanması sonucu oluşturulan esas ürün laktik asit olup aerobik koşullarda asetik asit ve CO₂ oluşturmalarıdır. Stafilokoklar lizostafine duyarlı ancak lizozime dirençlidirler (Kayser ve ark., 2002; Bilgehan, 2004; Miksits ve Hahn, 2013).

Staphylococcus cinsine ait 30’dan fazla tür ve alt türler bulunmaktadır. İnsan ve hayvanlarda görülen stafilokok türleri; *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*, *S.warneri*, *S. hominis*, *S. simulans*, *S. lugdunensis*, *S. schleiferi*, *S. capitis*, *S. auricularis*, *S. pasteurii*, *S. caprea*, *S. cohnii*, *S. xylosum*, *S. saccharolyticus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S.sciuri*, *S. chromogenes*, *S. gallinarum*, *S. lentus*, *S. equorum*, *S. delphini*, *S. felis*, *S. lutrae*, *S. vitulinus*, *S. muscae*’dir. Bu bakterilerden etken olarak en sık rastlanana *S. aureus*’tur. Ondan sonra sırasıyla *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus* gelir. *S. aureus*’u diğerlerinden ayıran en önemli özellik koagülaz pozitifliğidir. Bu bakteri dışındakiler,

koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) olarak adlandırılırlar. *S. aureus* insanda hastalık etkeni olarak sık rastlanan, virülansı yüksek bir mikroorganizmadır. İnsanlarda hastalık etkeni olarak en sık rastlanan stafilokokların temel biyokimyasal özellikleri Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. İnsanda klinik açıdan önemi bulunan stafilokokların temel özellikleri (Ustaçelebi, 1999; Bilgehan, 2004; Madigan ve Martingo, 2010)

Özellik	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Koagülaz	+	-	-
Hemoliz	+	-	-
Oksijensiz ortamda üreme ve glukoz fermentasyonu	+	+	-
Oksijenli ortamda mannitolden asit oluşturma	+	-	-
Oksijensiz ortamda mannitolden asit oluşturma	+	-	-
DNase varlığı	+	-	-
Alfa toksin	+	-	-
Novobiosin direnci	S	S	R

(+): Pozitif, (-): Negatif, (S): Duyarlı, (R): Dirençli

2.2. *Staphylococcus aureus*

Yaklaşık 1µm çapında koklar olup üç yönde ve birbirine yapışık olarak çoğalarak, üzüm salkımına benzer kümeler oluştururlar. Bazı kökenlerinde belirgin ve polisakkarit yapısında bir kapsül ya da bir mukus katmanı olur (Ustaçelebi ve Cengiz,, 1999). *S. aureus*, kanlı agar besiyerinde kolayca üreyen, altın sarısı pigmentli, hemolizli, katalaz, koagülaz pozitif bakterilerdir. İnsan ve diğer sıcakkanlı hayvanlarda, geniş çapta enfeksiyonlara yol açan ayrıca gıda zehirlenmesi niteliğinde enfeksiyonlara neden olan bir suştur. *S. aureus*, *E.coli*'nin yanısıra insanlarda en sık rastlanan enfeksiyon etkenidir. Ortam şartlarına dayanıklı olduklarından doğada çok yaygındırlar (Bilgehan, 2004; Madigan ve Martinko, 2010).

S. aureus, toplumda edinilmiş enfeksiyonlar kadar hastane enfeksiyonlarının da en başta gelen etkenidir. Sağlıklı insanların en az %5-20'sinde sürekli, %70-90'ında ise geçici *S.aureus* burun taşıyıcılığı bildirilmektedir. Bakteri toplumda ve hastane ortamında kolonize bireyler ya da enfeksiyonu olan hastalar veya sağlık personeli aracılığı ile yayılmaktadır. *S. aureus*, insanların % 10-40'ının, hastane personeli ve yatan hastaların % 70 - 80'nin burun deliği mukozasında kolonize olmuştur (Tünger ve ark., 2003).

S. aureus fakültatif anaerobtur. Minimal besiyerlerinde üreyebilmeleri yanında kanlı besiyerlerinde 1–3 mm çapında koloniler oluşturur. 24 saatte porselen görünümlü, konveks, düzgün yüzeyli, sıklıkla sarı pigmentli koloniler oluşturur. Kolonilerin etrafında genellikle karakteristik hemoliz zonları oluşur (Kayser ve ark., 2002). Optimal üreme koşulları 37 °C'de ve pH 7.4'dür. Çeşitli pentozları, heksozları, disakkaritleri ve şeker alkollerini fermente ederek çoğunlukla laktik asit oluşturur. Mannitolü aerobik ve anaerobik koşullarda asit oluşturarak parçalar, novobiosine duyarlıdır. Aerobik koşullarda ise daha iyi ürer ve birçok karbonhidratı enerji kaynağı olarak kullanabilir. Aerobik glikoz kullanımı sonucu karbondioksit ve asetat oluşturur. %10 ve daha az NaCl içeren ortamlarda iyi, %15 NaCl'li ortamda zayıf ürerler (Bilgehan, 2004; Madigan ve Martinko, 2010).

S. aureus, yumuşak doku enfeksiyonları, toksik şok sendromu, solunum sistemi enfeksiyonları, endokardit, gıda zehirlenmesi, septik artrit, osteomyelit, menenjit, sepsis ve bakteriyemi gibi birçok enfeksiyonun primer etkenidir. Ayrıca gıdalarda zehirlenmelere yol açan ve hastane enfeksiyonlarında ilk sıralarda yer alan fırsatçı patojendir (Karabay ve ark., 2006).

2.3. Virülans Faktörler

2.3.1. Hücre duvar yapısı

S. aureus'ların virülans faktörlerini hücre duvarı yapısını oluşturan murein tabakasındaki polisakkaritler, taykoik asitler, kümeleştirici faktör, Protein A, ayrıca enzim ve toksinler oluşturmaktadır. N-asetilmüramik asit ve N-asetilglukozamin'den oluşmuş polisakkaritler, Interlökin-1 üretimini sağlamakta, endotoksin benzeri aktivite göstermekte ve ayrıca komplemanı aktive ederek antikorların üretimini sağlamaktadır.

Sitoplazma zarındaki lipoteikoik asitler tüm murein tabakası boyunca bulunurlar ve murein tabakasının dışına doğru uzanırlar. Taykoik asitler ve lipotaykoik asitler komplemanı alternatif yoldan aktive ederler ve makrofajlardan sitokin salınımını uyarırlar. Kümeleştirici faktör, fibronektin bağlayıcı protein ve kollejen bağlayıcı protein spesifik

olarak fibrinojen, fibronektin ve kollejene bağlanır ve doku ile ilgili matriks proteinleri ile kaplı yabancı cisimlere yapışmadan sorumludur (Kayser ve ark., 2002). *S. aureus*' ların bazı suşlarında bulunan kapsüller polisakkaritler hücreyi fagositoza karşı korumaktadır (Koneman ve ark., 1997).

Stafilokokkal Protein-A (SpA): *S. aureus* hücre duvarı bileşenlerinden birisi olup Wervey tarafından 1940'da tanımlanmıştır. Son zamanlarda *S. aureus* pnömonisinde, invaziv enfeksiyonlarda ve biofilm oluşumunda rol oynayan önemli bir virulans faktör olduğu gösterilmiştir. Büyük bir kısmı peptidoglikan yapıya kovalent olarak bağlanmıştır. Bir kısmı ise hücre dışı ortama salınmaktadır. Birçok memeli serumundaki IgG3 dışındaki tüm IgG ve IgA2 ile bazı IgM'nin Fc parçasına bağlanır. Immunglobulinlerin protein A ile "yanlış" bağlanmasının opsonize edici antikorların "doğru" bağlanmasını engelleyerek fagositozu zorlaştırdığı kabul edilmektedir. SpA komplemanı aktive eder, antifagositik, kemotaktik, mitojenik etkileri vardır. Söz konusu etkilerden dolayı patojenite etkisi yarattığı düşünülmektedir. Moleküler ağırlığı 42 kDa olan protein farklı fonksiyonlara sahip birkaç bölge ihtiva eden *spa* geni tarafından sentez edilir (Uhlen ve ark., 1984; Ustaçelebi ve Cengiz, 1999; Kayser ve ark., 2002).

2.3.2. Hücre dışı faktörler

2.3.2.1. Enzimler

Koagülaz: Ekstraselüler bir proenzimdir. *S. aureus* tarafından üretilen bir plazma pıhtılaştırma proteindir. *S. aureus* suşlarında iki tip koagülaz bulunmaktadır. Bunlar serbest koagülaz ve bağlı koagülazdır (kümeleştirici faktör). Serbest koagülaz plazmada "coagulase-reaction factor (CRF)" ile birleserek trombine benzer yapıdaki "stafilotrombin"i oluşturmakta, stafilotrombin de fibrinojeni fibrine dönüştürmeyi katalizlemektedir. Bağlı koagülaz ise hücre duvarında bulunmakta ve doğrudan fibrinojene bağlanarak fibrine dönüştürebilmektedir. Ayrıca stafilokokların kümeleşmesine de neden olmaktadır. Böylece bakteri hücresinin etrafı fibrinle sarılmaktadır. Fibrinden oluşan bu zırh bakteriyi fagositoza karşı dirençli hale getirmektedir (Tünger ve ark., 2003).

Katalaz: Tüm stafilokoklar tarafından üretilir. Bu enzim stafilokokların fagosite edilmesinden sonra oluşturulan toksik hidrojen peroksiti yıkarak su (H₂O) ve oksijene (O₂) dönüşümünü katalizler. Böylece bakteri fagositoz sonrası da hayatta kalmaktadır (Bilgehan, 2004).

Lipaz: Tüm *S. aureus* ve bazı koagülaz negatif stafilokoklar tarafından salgılanmaktadır. Bu enzim dokuda bulunan lipit yapıyı parçalayarak bakterinin deri ve

deri altı bölgelerde yayılmasını sağlamaktadır (Tünger ve ark. 2003).

Hyaluronidaz (Yayıma faktörü): *S. aureus*' ların % 90'ı tarafından üretilir. Bağ dokunun yapısında bulunan hyalüronik asidin yıkılmasını dolayısı ile bakterinin dokularda yayılmasını sağlamaktadır (Ustaçelebi ve Cengiz, 1999).

Deoksiribonükleaz (DNAase): Birçok *S. aureus* tarafından üretilen Dnaz DNA'yı hidrolize etmektedir (Bilgehan, 2004).

Stafilokinaz (fibrinolizin): Plazmada bulunan plazminojen veya profibronizin isimli maddeyi aktive ederek plazmin (fibrinoloizin) oluşturmaktadır. Fibrinolitik etki bu madde aracılığıyla oluşmakta ve sonuçta fibrin parçalanarak organizmanın yayılması kolaylaşmaktadır (Bilgehan, 2004).

2.3.2.2. Toksinler

2.3.2.2.1. Sitolitik toksinler

A-Hemoliziner: Alfa hemolizin (Alfa Toksin): ilk kez 1900'de Kraus ve Clairmont tarafından tanımlanan bu toksin, *S. aureus* suşlarının en temel hemolizindir. Tavşan plazmasına hemolitik etkinliği en fazladır. İnsan trombosit ve makrofajları ile doku kültürleri üzerine hemolitik etkisi vardır. Monositler ise bu toksine dirençlidir.

Beta hemolizin (Beta Toksin): antijenik özellik taşıyan bu toksin Glenny ve Stevens tarafından 1935'de tanımlanmıştır. Stafilotoksin olarak da bilinmektedir. En iyi koyun, daha az olarak da insan ve tavşan alyuvarlarını eritir.

Gama hemolizin (Gama Toksin): Smith ve Price tarafından 1938'de tanımlanmıştır. İnsan, tavşan ve koyun alyuvarları dirençlidir.

Delta hemolizin (Delta Toksin): 1947'de Williams ve Harper tarafından bildirilmiştir. İnsan, koyun, tavşan ve maymun alyuvarlarını eritir. Eritrosit, lökosit, trombosit, makrofaj ve lenfositleri hasara uğratan bir proteindir (Ustaçelebi ve Cengiz, 1999).

B-Lokosidin (Panton-Valentine toksin): İnsan ve tavşan lökositleri ile makrofajları etkiler. Hemolitik degildir. Sadece insan ve tavşan nötrofilleri ile makrofajları için sitotoksiktir. Granülositler üzerinde hücre membranında delikler oluşturarak degranülasyona neden olmaktadır. Lökosidin iki alt birimden meydana gelmektedir. Toksin aktivitesi için bu alt birimlerin her ikisi de gereklidir. Özel antijen yapısındadır. Lökositleri harabiyete uğratar, fagositozu engeller. Lökosidin yapan stafilokoklar,

lökositler tarafından fagosite edilseler bile lökositin yapmayan stafilokokların aksine hücre içinde üremelerini sürdürebilmektedirler (Bilgehan, 2004).

2.3.2.2.2. Toksik şok sendromu toksini (TSST-1)

Süperantijen özelliği olan bir toksindir. TSST-1, moleküler ağırlığı 22 kDa olan küçük bir protein olup sıcaklığa ve proteolitik enzimlere dirençli bir toksin olarak bilinmektedir. Çok sayıda T-lenfositin klonal oluşumunu indükler, bu olay sonucunda yoğun sitokin üretimi olur. Buna bağlı olarak toksik şokun klinik belirtileri ortaya çıkar. Suşların yaklaşık %1'i tarafından oluşturulur.

Toksik şok sendromu; ateş, kusma, ishal, deride yaygın kırmızı döküntüler, mental konfüzyon, ciddi hipotansiyon ve çoklu organ yetmezliği ile karakterize klinik bir tablo olarak gözlemlenmektedir. Aynı zamanda kalp kası, iskelet sistemi, karaciğer ve böbrek dokusuna doğrudan etki etmektedir (Kayser ve ark., 2002; Koneman ve ark., 2006).

2.3.2.2.3. Eksfoliatif toksin

Eksfoliatif toksinler stafilokok kaynaklı soyulmuş deri sendromuna yol açan toksinlerdir (kavlanmış deri sendromu). Moleküler ağırlığı 24 kDa olan, ekzotoksinin A ve B tipi bulunmuştur. Eksfoliatif Toksin A (ETA) ve Eksfoliatif Toksin B (ETB) olmak üzere iki proteinden oluşmaktadır. ETA ısıya dayanıklı, kromozomal kökenlidir. Buna karşın ETB ısıya duyarlı, plazmid kökenli bir proteindir. İki toksin immünolojik ve biyokimyasal olarak birbirinden farklı olarak nitelendirilmektedir. Bu toksinlerin ortak noktaları süperantijen özelliğinde ve proteolitik aktiviteye sahip olmalarıdır (Ustaçelebi ve Cengiz, 1999; Tünger ve ark., 2003; Koneman ve ark., 2006).

2.3.2.2.4. Enterotoksin

S. aureus tarafından oluşturulan toksinlerin sindirim sistemine etkisini gösterenlere enterotoksin denilmiştir. Stafilokokal enterotoksinler (SE) tek zincirli basit proteinlerden oluşan heterojen bir gruptur. Bunların çoğu nötral ya da bazik hücre dışı proteinlerdir. Hidroliz yoluyla 18 aminoasitten üretmektedirler. Yapılarında yüksek oranda lizin, aspartik asit, glutamik asit ve tirozin içerirler. Moleküler ağırlığı 28-35 kDa arasındadır (Bhatia ve Zahoor, 2007; Can ve Çelik, 2012). SE'ler su ve tuzlu solüsyonlarda çözünebilirlik özelliğine sahiptirler, pH<2'de pepsin hariç insan bağırsak sisteminin proteolitik enzimlerine dirençlidir. SE'lerin en önemli özelliği ısıya dayanıklı olmasıdır, 100°C'de 1 saat sonunda aktif kalabildikleri gösterilmiştir. Bu nedenle gıda maddesi bir kere enterotoksin üreten stafilokoklarla kontamine olduktan sonra, yiyeceğin tekrar ısıtılması ya

da sindirim süreci, intoksikasyonu önleyici olmayacaktır. Termal dayanıklılıkta önemli kriterler; toksinin saflığı, serolojik tipi, toksin miktarı, ısı işlem uygulanan ortam ve ortamın pH değeridir. Gıdalardaki enterotoksinlerin pişirme, pastörizasyon veya diğer ısı uygulamaları ile tamamen inaktive edilemedikleri bildirilmektedir (Erol ve İşeri, 2004; Argudin ve ark., 2010).

Serolojik olarak beş temel tipten oluşan (SEA, SEB, SEC, SED, SEE) enterotoksinlerden SEA ve SED yaygın olarak stafilokokal gıda zehirlenmelerinden sorumludur. SEA stafilokokal gıda zehirlenmelerinde en sık rastlanan enterotoksindir, bunu SED izlemektedir. Amerika'daki gıda zehirlenmeleri vakalarında en yaygın olarak karşılaşılan enterotoksinin tipinin SEA (%77.8) olduğu, bunu SED (%37.5) ve SEB (%10) tiplerinin izlediği bildirilmiştir (Balaban ve Rasooly, 2000). Son yıllarda yapılan çalışmalarda SE'lerin yeni tiplerinin de var olduğu (SEIG, SEIH, SEI, SEIJ, SEIK, SEIL, SEIM, SEIN, SEIO, SEIP, SEIQ, SER, SES, SET, SEIU, SEIV) bildirilmiş ancak bu enterotoksinlerin gıda zehirlenmeleri ile ilişkileri henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (Hennekinne ve ark., 2012). SE'ler gıdalardaki *S.aureus*'un üremesi sırasında sentezlenmektedir. SEA ve SED logaritmik faz sırasında SEB ve SEC ise geç logaritmik faz ile durma döneminde üretilmektedir. Toksin üretimi ortam pH'sı, su aktivitesi (aw), bakterinin üreme evreleri gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Can ve Çelik, 2012).

Stafilokokal gıda zehirlenmeleri enterotoksin üreten gıdaların tüketilmesi sonucu oluşmaktadır. *S.aureus* intoksikasyonu olması için, vücuda en az 1µg toksin, çok hassas kişilerde 100-200 ng) alınması hastalığın belirtilerini ortaya çıkarabilmektedir (Müşak ve Esendal, 2008; Hait ve ark., 2014).

Enterotoksin üreten stafilokoklar içerisindeki en önemli tür *S. aureus*'dur. *S. aureus* dışında *S. intermedius*, *S. hyicus* ve *S. epidermidis* türleri de enterotoksin oluşturma özelliğine sahiptirler (Sutherland ve Varnam, 2002; Rall ve ark., 2010). *S.aureus* suşlarının %30-50'si bu toksinleri üretmektedir. Bir *S. aureus* suşu bu enterotoksinlerden yalnız birisini üretebildiği gibi, bir kaçını bir arada oluşturabilmektedir. Stafilokokal enterotoksinler hem gastrointestinal toksin olma hem de spesifik olmayan T hücre proliferasyonunu uyaran süperantijen fonksiyonlarına sahiptir. Gıda zehirlenmelerinin yanı sıra, toksik şok benzeri sendroma, artrit, alerjik reaksiyonlara ve otoimmün hastalıklara da neden olmaktadır. (Dinges ve ark., 2000; Erol ve İşeri, 2004; Argudin ve ark., 2010).

Gıdalarda *S. aureus*'un üreme ve toksin oluşturması birçok faktöre bağlıdır. Bunlar aw, pH, ortam sıcaklığı, tuz miktarı, rutubet, gıdanın özelliği (içerik, çiğ, fermente) ve rekabetçi floradır. Çiğ gıdalarda *S.aureus* izolasyonu pişmiş gıdalardan izole edilenlerden daha azdır. Bunun sebebi sayıca az olan enterotoksijenik stafilokokların çiğ gıdalardaki mevcut rekabetçi floranın karşısında baskılanmasıdır (Soriano ve ark., 2002; Schelin ve ark., 2011). *S. aureus* gelişimini, enterotoksin oluşumunu etkileyen faktörler ve etkilenen enterotoksinler Çizelge 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. *S. aureus* gelişimini, enterotoksin oluşumunu etkileyen faktörler ve etkilenen enterotoksinler (Schelin ve ark., 2011)

Faktör	<i>S. aureus</i> gelişimi		Enterotoksin oluşumu		Etkilenen Enterotoksinler
	Optimum	Min-Max	Optimum	Min-Max	
Sıcaklık	35-41°C	6-48°C	34-40 °C	10-46 °C	SEA, SEB, SEC, SED
pH	6-7	4-10	7-8	5-9.6	SEA, SEB, SEC, SED, SEE
aw	0.99	0.83≥0.99	0.99	0.86≥0.99	SEA, SEB, SEC, SEH
NaCl	% 0	% 0-20	% 0	% 12	SEA, SEB, SEC
Oksijen	Aerobik	Aerobik- Anaerobik	Aerobik	Aerobik- Anaerobik	SEA, SEB, SEC, SEH

2.4. Neden Olduğu Hastalıklar

S.aureus, virülans faktörlerinin yardımıyla ilişkide buldukları konak organizmanın durumuna da bağlı olarak birçok hastalığa neden olabilmektedir. Bu hastalıklar kabaca invaziv, sistemik ve toksijenik enfeksiyonlar olarak incelenebilmektedir.

2.4.1. İnvaziv hastalıklar

Normal olarak deri ve mukozalar üzerinde kolonize olmuş stafilokokların derinin içerisine girmeleri sonucunda oluşmaktadır. Bu tip enfeksiyonlarda *S. aureus* 'lar ürettikleri toksinleri aracılığı ile lokalize bir nekroz ya da alfa ve delta hemolizin ve lökositinleri aracılığı ile hücreleri eriterek irin oluştururlar. Bu şekilde *S. aureus* 'lar lokalize abselere ve

yaygın iltihaplanmalara yol açabilirler (Kayser ve ark., 2002). Folikülit, fronkül, karbonkül, İmpetigo, mastit, sellülit, yara enfeksiyonları (travmatik veya cerrahi) *S. aureus* 'ların sebep olduğu cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarıdır (Bilgehan, 2004).

2.4.2. Sistemik enfeksiyonlar

Pnömoni, bakteriyemi ve sepsis, menenjit, akut endokardit, osteomyelit, artrit, alt ve üst genitoüriner sistem enfeksiyonları *S. aureus* 'ların sebep olduğu sistemik enfeksiyonlardır (Topçu ve ark., 1996; Ustaçelebi ve Cengiz, 1999).

2.4.3. Toksikjenik hastalıklar

Toksijenik hastalıkların nedeni *S. aureus* tarafından oluşturulan ekzotoksinlerin neden olduğu intoksikasyonlardır.

2.4.3.1. Toksik şok sendromu (TSS)

Bu hastalık *S. aureus* 'un Toksik şok toksini -1 ile meydana gelmektedir (TSS-1). TSS-1 üreten *S. aureus* 'un lokal enfeksiyonu sonucu oluşan, septik şoka benzer bir klinik tablodur. Ani başlayan yüksek ateş, şiddetli bulantı, kusma, diyare, yaygın döküntüler, el ve ayak tabanında ekfoliasyon kızılın yüzeysel formlarına benzemektedir. Tipik olarak 20–40 yaş arası ve mensturasyon sırasında tampon kullanan genç kadınlarda vajinal kolonizasyon TSS'ye neden olmaktadır. Ayrıca yara enfeksiyonları, postpartum enfeksiyonlar ve burun içi tampon kullanımlarında da *S. aureus* 'a bağlı TSS'u gelişebilir (Ustaçelebi ve Cengiz., 1999; Tunail, 2009)

2.4.3.2. Stafilokokal haşlanmış deri sendromu

Faj II grubu *S. aureus* ' lar tarafından oluşturulan eksfoliatin toksini nedeniyle gelişen bir hastalıktır. En çok çocuklarda ve yeni doğanlarda görülmektedir. Vücutta, özellikle ağız çevresinde güneş yanığına benzer parlak kırmızı pül (çevresi belirgin, büyük vezikül) oluşumu ve deride geniş alanları kaplayan soyulma ile karakterizedir. Bu sendroma soyulmuş derinin görünümü nedeniyle “haşlak bebek sendromu” da denir (Topçu ve ark., 1996)

2.4.3.3. Stafilokokal gıda zehirlenmesi

Stafilokokal gıda zehirlenmesi (SGZ) başta *S. aureus* olmak üzere enterotoksijenik stafilokoklar tarafından üretilen enterotoksinleri içeren gıdaların tüketilmesi sonucu oluşan ve tüm dünyada yaygın olarak görülen önemli intoksikasyonlardan biridir.

İntoksikasyonun klinik belirtilerinin görülmesinde en az 100 ng stafilokokal enterotoksin çeşitlerinden birinin bulunmasının yeterli olduğu bildirilmiştir (Soriano ve ark., 2002; Hennekinne ve ark., 2012).

SGZ önceden oluşturulmuş toksinlerin yenmesinden sonra 2-6 saat arasında kısa bir inkübasyon süresinin ardından bulantı, kusma, karın ağrısı ve ishal ile karakterizedir. Hastalığın şiddeti alınan gıdanın miktarına, toksin çeşidine ve kişinin genel sağlık durumuna bağlı olarak değişmektedir. Yaşlılar genç bireylere göre gıda kaynaklı gastroenteritlere daha çok duyarlılık gösterirler. Akut SGZ kendi kendini sınırlayan bir gastroenterittir, çok nadir durumlarda komplikasyonları nedeniyle ölüme neden olabilir. 24 saat içinde belirtiler ortadan kalkmakta ve yalnızca destek tedavisi uygulaması yeterli olmaktadır (Balaban ve Rasooly, 2000; Dinges ve ark., 2000; Schelin ve ark., 2011).

SE'lerin stafilokokal gıda zehirlenmesi semptomlarına nasıl sebep oldukları hakkında çok az şey bilinmektedir. Muhtemelen abdominal visera ile temaslarının sonucu vagus ve semptomatik sinirler aracılığı ile kusma merkezi uyarılmaktadır (Loir ve ark., 2003). SGZ kontamine gıdalarla oluşmuş zehirlenmelerin yılda %14-20'sini oluşturarak akut gıda zehirlenmeleri arasında ikinci sırada yer almaktadır. Amerika'da *S. aureus*'a bağlı rapor edilmeden görülen gıda zehirlenmelerinin yaklaşık 185000 kişiyi etkilediği tahmin edilmektedir (Jones ve ark., 2002).

Bazı gıdalar stafilokokal gıda zehirlenmesine diğerlerinden daha fazla sebep olurlar. Aynı şekilde bazı gıdaların hazırlanma şekilleri de (peynir üretiminde olduğu gibi) bakterilerin üreme hızını artırır (Can ve Çelik, 2012). Oluşan toksin miktarı da gıda çeşidiyle yakından ilgilidir. Proteinli ve nişastalı gıdalar *S.aureus*'ların üremeleri, çoğalmaları ve toksin oluşturmaları için daha uygun gıda maddeleridir. Zehirlenmelerde daha çok et, tavuk, balık, yumurta, kabuklu deniz ürünleri, kıymalı yemekler, et suyu ile yapılmış çorba ve soslar, yumurtalı, şekerli ve sütlü karışımlar, kremalı pastalar, patates gibi gıdalar rol oynamaktadır.

Bu gıdalar asit içermediklerinden stafilokoklar buralarda kolayca üreyip çoğalabilirler. Bunun yanında süt, peynir ve dondurma gibi hayvansal ürünler de yine bu mikroorganizmaların üremeleri için uygun birer ortam olup, stafilokokal gıda zehirlenmesi bakımından tehlikeli görülmektedir (Tunail, 2000; Hennekinne ve ark., 2012).

Dünyada görülen gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyonlar içerisinde hayvan kaynaklı olguların önemli bir yere sahip olduğu özellikle gelişmiş ülkelerde yapılan epidemiyolojik çalışmalarla ortaya konmuştur. Gerek kanatlı hayvanların yetiştirildiği,

gerekse işleme ve dağıtım gibi aşamalarda, etlerini hijyenik olmayan koşullarda işlem görmesine bağlı olarak *S.aureus* gibi bakterilerle kontaminasyonu gerçekleştirmekte ve gıda zehirlenmesi bakımından risk oluşturabilmektedir (İşeri ve Erol, 2009). Marketlerde satışa sunulan hindi kıymaları üzerine yapılan bir çalışmada 23 örneğin 11'inden (%48,0) koagülaz pozitif stafilokoklar izole edilmiş ve PZR analizleri sonucunda izolatların 4'ünün (%36,3) *seb* ve *sec* genleri yönünden pozitif olduğu saptanmıştır (Bystron ve ark., 2005).

Enterotoksijenik *S. aureus* ile kontamine olan süt ve süt ürünleri sıklıkla stafilokokal gıda zehirlenmesine neden olur. Sığır, koyun, keçi ve bufalo süt ve süt ürünlerinden elde edilen 112 izolatın SE yönünden incelendiği bir çalışmada %67 oranında enterotoksin bulundurduğu tespit edilmiştir (Morandi ve ark., 2007). 100 adet koyun peyniri 50 adet sütlü tatlı örneğinden elde edilen 80 adet *S. aureus* enterotoksin yönünden incelendiğinde 12 örnekte SE tespit edildiği bildirilmiştir. Enterotoksinlerin dağılımı peynirden elde edilen izolatlarda SEA (%1.6), SEB (%0.6), SED (%0.3), tatlılardan elde edilen izolatlarda SEA (%2.3), SEC (%0.76), SED (% 0.76) olarak tespit edilmiştir (Ertaş ve ark., 2010). İzmir ilinde satılan beyaz, tulum, kaşar, Van otlu ve örgü peynirlerde enterotoksin varlığının araştırıldığı bir çalışmada 75 peynir örneğinin 27 sinde enterotoksin tespit edilmiştir. Örneklerde en çok tespit edilen toksin tipi SEA (19 örnek) olarak belirlenmiştir (Demirel ve Karapınar, 2006).

Hindistan'dan bildirilen başka bir gıda zehirlenmesi salgınında yağda kızartılmış patates toplarının tüketilmesinin ardından 100'den fazla yetişkin ve çocuk tipik hastalık belirtilerinden dolayı hastaneye kaldırılmıştır. Gıda ve klinik örneklerin incelenmesi sonucunda çok fazla *S. aureus* suşu izole edilmiştir. Tüm enterotoksijenik suşların SEB ve SED taşıdığı tespit edilmiştir (Nema ve ark., 2007). İtalya'nın Torino şehrinde öğle yemeğinden sonra muhtemelen deniz ürünleri salatasından stafilokokal gıda zehirlenmesi meydana gelmiştir. 47 kişiden 26'sında gastrointestinal belirtiler görülmüş, 9'u ise hastaneye kaldırılmıştır. Bu kişilerden alınan dışkı ve kusmuk, gıda artıkları ve gıda hazırlayıcılardan alınan burun mukozası örneklerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarının genetik profilini ortaya koymak üzere genotipik testler uygulanmıştır. Salgının kaynağının büyük bir olasılıkla gıda işleyicilerinin olduğu düşünülmüştür (Gallina ve ark., 2013). Bir okulda meydana gelen SGZ salgınında hastalardan ve 2 gıda işleyicisinden elde edilen *S. aureus* izolatları PFGE ve farklı PZR temelli teknikleri kullanılarak genotiplendirilmiştir. PFGE yöntemine göre hastalardan ve gıda işleyicilerinin burun ve ellerindeki yaralardan elde edilen izolatların genetik profillerinin iki pulsotip içinde olduğu gösterilmiştir. Kontaminasyon kaynağını büyük bir olasılıkla gıda işleyicilerinin oluşturduğu

düşünülmüştür (Wei ve ark., 2002)

Ülkemizde olduğu gibi birçok ülkede *S.aureus*'a bağlı gıda zehirlenmelerinin çoğunlukla kendini sınırlayan klinikle seyretmesi, sağlık merkezlerine başvurulmamasına ve gerçek verilerin tam olarak bilinmemesine neden olmaktadır.

2.5. Antibiyotik Direnci

S.aureus'lar antibiyotikler keşfedilmeden önce çok ağır seyreden, tedavisi güç, ölümcül enfeksiyonlara neden olmaktaydı. Penisilinin keşfi ile stafilokokkal enfeksiyonların tedavisinde önemli bir aşama kaydedilmiş, ancak penisilinin yaygın klinik kullanıma girmesiyle birlikte penisilini parçalayan stafilokok suşları ortaya çıkmıştır. İlk kez 1944 yılında bir *S. aureus* suşunda penisilini inaktive eden bir enzim izole edilmiş ve daha sonra “penisilnaz” olarak adlandırılan bu enzimin penisilinin beta laktam halkasının hidrolizasyonunu katalizleyip, antimikrobiyal olarak hiçbir etkinliği olmayan penisilonik asit haline gelmesine neden olduğu saptanmıştır. Bu tarihten itibaren stafilokoklarda penisilin direnci giderek artmış, 1950'li yıllarda penisilinin yanı sıra eritromisin, tetrasiklin, streptomisin gibi o dönemde kullanılan diğer antibiyotiklere de direnç geliştiği ortaya çıkmıştır (Tanır ve Göl, 1999).

Sonraki yıllarda gelişen direnç mekanizmaları nedeni ile metisilin, oksasilin, nafsilin gibi yarı sentetik penisilinler kullanılmaya başlanmıştır. Metisilin, 1959'da klinik kullanıma girmiş ve ilk MRSA olgusu da, bir yıl sonra bildirilmiştir (Hardy ve ark., 2004). Metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) izolatlarında beş adet penisilin bağlayan protein (PBP) bulunmaktadır. MRSA izolatlarında ise bunlara ek olarak *mecA* geni tarafından kodlanan PBP2a veya PBP2' olarak adlandırılan ve 78 kDa moleküler ağırlığa sahip farklı bir PBP olduğu bildirilmiştir. *mecA* genine sahip *S. aureus* suşları metisiline direnç gösterirler ve tüm beta-laktam grubu antibiyotiklerin yanı sıra linkozamidler, makrolidler ve aminoglikozidlere karşı da direnç gösterdikleri bildirilmiştir (Sancak, 2011).

Son 10 yıldır MRSA ile meydana gelen enfeksiyonların epidemiyolojisinde önemli değişiklikler meydana gelmiştir. Gerek vankomisine dirençli gerekse vankomisine azalmış duyarlılık gösteren izolatlar bir tehdit oluşturmaktadır. Yakın zamanda kunipristin/dalfopristin, linezolid, tigesiklin ve daptomisin gibi yeni ilaçlar MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. *mecA* geni, stafilokokal kaset kromozomu (*Staphylococcal Cassette Chromosome mec*; *SCCmec*) olarak adlandırılan kaset bölgesinde yerleşim göstermektedir. *Ccr* (*ccrAB* veya *ccrC*) ve *mecA* gen

komplekslerinde görülen yapısal değişikliklere göre bugün için tanımlanmış 11 SCCmec alt tipi (Tip I-XI) bulunmaktadır. (Ito, 2001; Sancak, 2011; IWG-SCC, 2015)

Metisiline direncin saptanmasında ideal yöntem *mecA* geninin veya PBP2a proteininin doğrudan saptanmasıdır. Ancak her laboratuvarında uygulanabilir yöntemler değildir. Oksasilin, metisiline göre daha stabil bir madde olması nedeniyle klinik laboratuvarında daha fazla tercih edilmektedir. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) önerilerine göre uygulanan disk difüzyon, agar tarama ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile MRSA suşlarının tanınması mümkündür. Sefoksitin, oksasilin yerine kullanılabilir. Sefoksitin disk testi ve oksasilin disk testi benzer sonuçlar vermektedir. Ancak, sefoksitin değerlendirmesi daha kolaydır. Bu nedenle sefoksitin, metisilin direncini belirlemede kullanılabilirliği belirtilmiştir (Derbentli, 2005; Ünal, 2006).

2.6. Gıda Çalışanlarının *S.aureus* Taşıyıcılığı

Sağlıklı kişilerde *S.aureus*'un burun taşıyıcılığı en yoğun çocukluk yaş döneminde olmakla birlikte genel popülasyonda %10-50 arasında değişmektedir. (Sepin-Özen ve ark., 2013). *S.aureus* taşıyıcısı olan kişilerin gıdalara teması olan işlerde (hazırlama, depolama veya dağıtım) çalışması, o gıdaya söz konusu mikroorganizmaların bulaşma olasılığını arttırmakta, bu kişilerce kontamine edilen gıdalar gıda zehirlenmesine neden olabilmektedir. Bu anlamda gıda sektöründe çalışan kişilerin *S.aureus* taşıyıcılığı üzerine birçok çalışma yapılmış hatta meydana gelen gıda zehirlenmelerindeki etkileri araştırılmıştır.

Ülkemizde yapılan çalışmaların birinde Gülhane Askeri Tıp Akademisi Hastanesinde çalışan 30 mutfak personelinin sağ ve sol ellerinden işe başlamadan önce ve iş sırasında, çıplak ve eldivenli ellerden olmak üzere toplam 180 örnek alınmış, alınan örneklerin %70'inden *S. aureus* izole edilmiştir (Aycicek ve ark., 2004). Bursa'da yapılan bir çalışmada gıda işleyicisi olan 1115 kişinin *S. aureus* burun taşıyıcılığı %15.2, Manisa'daki 8895 kişi üzerinde yapılan benzer çalışmada %0.77 olarak bildirilmiştir (Gündüz ve ark., 2008; Pala ve ark., 2010).

Brezilya'daki 13 farklı ilköğretim okulunda çalışan toplam 44 gıda işleyicisinin taranması sonucunda %29.5'inin burun taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir (Souza ve ark., 2009). Sudan'da 259 gıda çalışanı üzerinde yapılan çalışmada (restoran çalışanı, fırıncı, kasap, süt ve meyve /sebze dağıtıcısı) bu oran %21.6 (56) olarak tespit edilmiştir (Saeda ve Hamid, 2010). Hongkong'da 6 yemek şirketindeki gıda çalışanlarının *S. aureus* burun

taşıyıcılık oranının %22.8 olduğu tespit edilmiştir. Bu oran çalışırken çiğ et kullananlarda %30, kullanmayanlarda %13.4 olarak belirlenmiştir. Söz konusu mesleki tehlikenin enfeksiyon riskini arttırabileceği, işyeri hijyeninin geliştirilmesi gerektiği vurgulanmıştır (Ho ve ark., 2014).

Bu çalışmalar üreticiden tüketiciye kadar uzanan zincirde gıda sektöründe çalışan taşıyıcılar *S.aureus*'a bağlı gıda zehirlenmelerinin önemli bir kaynağı olabileceğini göstermektedir.

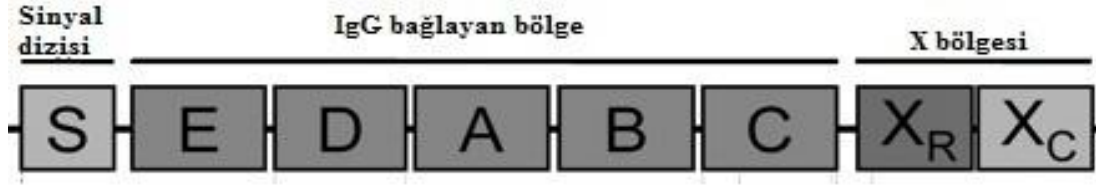
2.7. Stafilokokal Protein A (*spa*) Tiplendirme Yöntemi

Salgınlarda kaynak tespiti ve epidemiyolojik çalışmalar için moleküler tiplendirme günümüzde en kabul gören yöntemdir. *S. aureus*'ların genotiplendirilmesinde birçok moleküler tiplendirme yöntemi geliştirilmiştir. PFGE, MLST aynı zamanda sekans polimorfizmlerine dayalı *SCCmec* ve *spa* tiplendirme yöntemi bunlardandır. PFGE *S. aureus*'lar için moleküler tiplendirmede “altın standart” olarak kabul edilmektedir. Geçmişte PFGE protokollerinde uyum sağlayabilmek ve standart bir adlandırma oluşturabilmek için önemli çalışmalar yapılmıştır. Ancak analizler hız, tekrarlanabilirlik ve maliyet açısından değerlendirildiğinde kısmen başarı sağlanabildiği görülmüştür (Murchan ve ark., 2003).

Tiplendirmede hızı arttırmak için DNA dizi analizi tabanlı yaklaşımlar örneğin MLST *S.aureus*'lar için daha sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır (Enright ve ark., 2000). Ancak MLST yöntemi PFGE ile karşılaştırıldığında MRSA rutin tarama çalışmaları için daha yüksek maliyet ve daha düşük ayırım gücüne sahip olduğundan dolayı uygun değildir (Aires-De-Sousa ve ark., 2006).

Ferenay ve ark. (1996) tarafından geliştirilen tek lokus dizi analizine dayanan *spa* tiplendirme yöntemi son zamanlarda tercih edilmeye başlanmıştır. *Spa* tiplendirme metodu *spa* geninin poliformik X bölgesinin sekansına dayanmaktadır.

Spa gen haritasında N-terminal bölgesindeki işaret sekansını (S bölgesi) ard arda dizilen ve IgG bağlayan bölgeler takip eder (E, D, A, B, C). C-terminal veya X bölgesi iki alana bölünmüştür (*Xr*, *Xc*). Değişken tekrarları içeren tekrar bölgesi olan *Xr spa* tiplendirme yönteminde kullanılır (Baum ve ark., 2009; Votintseva ve ark. 2014).



Sekil 2.1. *S.aureus* protein A gen haritası. S: Sinyal dizisi, E-C: IgG bağlayan bölgeler, X_r: Kısa tekrar bölgeleri, X_c: Hücre duvarı bağlama dizisi (Baum ve ark., 2009)

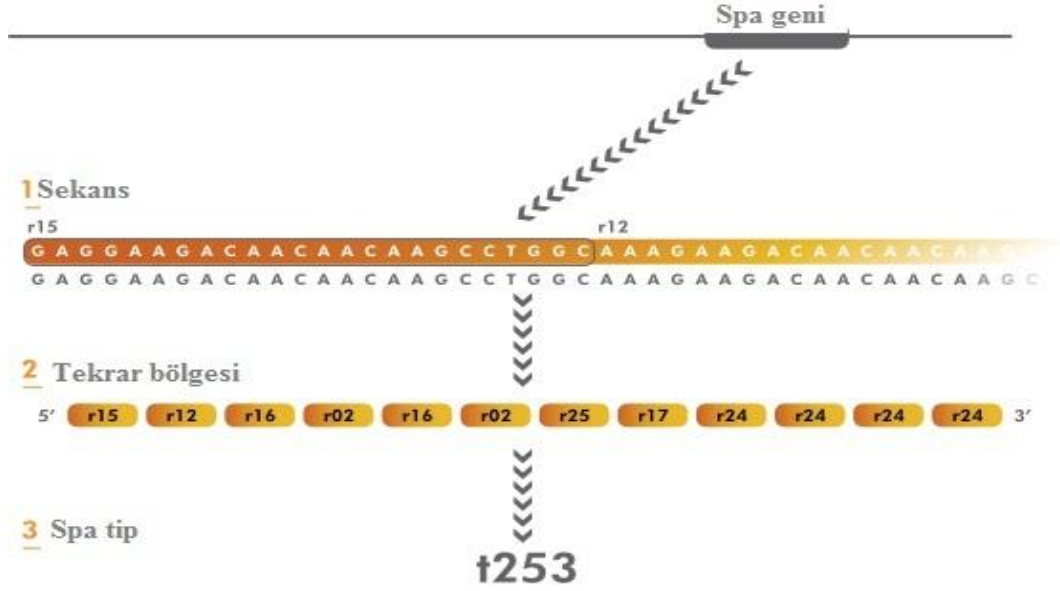
Son on yıldır *spa* geninin (110-422 bp) polimorfik X bölgesinin dizi analizine dayanan *spa* tiplendirme yöntemi tercih edilen metod haline gelmiştir. Bu bölgeler yüksek polimorfizme sahiptir ve özellikle hastane ortamındaki MRSA'ların hızlı bir şekilde tiplendirilmesi için potansiyel olarak uygun bulunmaktadır. Bu bölgenin polimorfizmi tekrarların ve noktasal mutasyonların silinmesi veya kopyalanmasına dayanmaktadır. X bölgesi değişken sayısı 21-27 baz çiftlik tekrarlardan oluşur, en yaygın olanlardan biri 24 baz çiftliktir. *Spa* tiplendirme yöntemi tek lokusu içermesinden dolayı salgın etmeninin belirlenmesinde daha hızlı ve pratik bulunmuştur (Harmsen ve ark., 2003; AL-Tam ve ark., 2012).

Spa tiplendirme yönteminde ilk olarak bakteriden DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilir. Spesifik primerler kullanılarak *spa* geninin X bölgesi PZR yöntemi ile amplifiye edilir ve bir sekans cihazı kullanılarak DNA dizileri belirlenir. Yazılım programları aracılığıyla *spa* tipleri belirlenebilir. Bu amaçla en çok kullanılan yazılım Ridom StaphType (Ridom GmbH) programıdır.

Spa tiplendirme metodunda belirlenen tekrarlardan bir kod elde edilir ve bu tekrar kodları bir *spa* tipini tanımlar. Bu metod PFGE'den düşük ayırım yeteneğine sahip olsada ucuz, kullanımını kolay, hızlı, tekrarlanabilirliği mükemmel, *invitro* ve *invivo* şartlarda istikrarlı ve uluslararası isimlendirme standart uygulamaya sahiptir. Ayrıca Ridom veritabanı (<http://spaserver.ridom.de>) sayesinde verilerin taşınabilirliği bu yöntemi bölgesel, ulusal ve uluslararası düzeylerde *S. aureus*' izolatlarının karakterizasyonunu belirlemede en kullanışlı hale getirmiştir. Bütün bu avantajlara rağmen *spa* tiplendirme metodunun dezavantajı tek lokus temeline dayalı olmasıdır (Sabat ve ark., 2013).

Tek tip kod terminolojisi kullanımını sağlamak için yazılım programı beraberindeki web sitesi aracılığı ile yeni *spa* tekrarlarının ve *spa* tiplerinin girilmesi mümkün olmaktadır. Açık erişim sistemi olan web sitesinden (<http://www.ridom.de/spaserver/>) *spa* tipleri ve tekrarları fasta formatında indirilebilmektedir. Küresel anlamda *spa* tekrarlarını

ve tiplerini aynı terminolojik kodu kullanarak tanımlamak söz konusu yazılım programı ile sağlanabilmektedir (Harmsen ve ark., 2003; Hallin ve ark., 2009). Bunun yanında ücretsiz olan yazılımlar da geliştirilmektedir. Buna NetBeans platformu üstüne kurulmuş Java’da yazılmış olan DNAGear programı örnek verilebilir (Al-Tam ve ark., 2012).



Şekil 2.2. Baz dizilerinin kısa tekrar bölgelerini oluşturması, bu tekrarların *spa* tipini belirlemesi (Applied Maths, 2015)

Londra’daki bir üniversite hastanesinde 2012 yılında *spa* tiplendirme metodunun fayda ve sınırlamalarının incelendiği bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada *S. aureus* bakteriyemisi olan kişilerin çeşitli klinik örneklerinden (yatan/ayaktan) elde edilen 82 *S. aureus* izolatın *spa* tipi belirlenmiştir. En yaygın olan *spa* tiplerinin t002 (%6), t008, t127, t318 (%3) olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmada *spa* tiplendirme metodu hızlı, hastanelerdeki kümeleşmeyi tanımlayıcı ve bakteriyemi etkeni *S. aureus*’ları ayırt edici bulunmuştur. Bu metodun hastanelerde yüksek oranda görülebilen *S. aureus*’lar için uygun maliyetli rutin tarama yöntemi olabileceği belirtilmiştir. Ancak klinisyenlerin hastane salgınlarında ikinci bir tiplendirme metodu ile teyit etmeleri gerektiği bildirilmiştir (Satta ve ark., 2013).

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Örneklem

Araştırma, Çanakkale il merkezi ve ilçelerindeki hastaneler ile bazı gıda işletmelerinde görevli mutfak çalışanlarının el ve burun sürüntü örneklerinden izole edilen *S.aureus* bakterisi üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya 1 merkez, 4 ilçe devlet hastanesi, 1 üniversite hastanesi, 1 askeri hastane, 2 özel hastane katılmıştır. Katılım gösteren gıda işletmelerinin 2'si yemek fabrikası, 2'si lokanta 13'ü restoran olarak hizmet vermektedir. Araştırmaya katılan toplam 300 kişiden 72'si hastane, 228'i gıda işletmelerinde görevli gıda çalışanlarıdır. Gıda çalışanlarının hastanelere ve gıda işletmelerine göre dağılımı Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Gıda çalışanlarının hastanelere göre dağılımı

Hastaneler	Gıda çalışanı n (%)
Merkez Devlet Hastanesi	25(34.7)
İlçe Devlet Hastaneleri	24(33.3)
Tıp Fakültesi Hastanesi	10(13.8)
Asker Hastanesi	9(12.5)
Özel Hastaneler	4(5.5)
Toplam	72(100)

Çizelge 3.2. Gıda çalışanlarının gıda işletmelerine göre dağılımı

Gıda işletmeleri	Gıda çalışanı n (%)
Yemek fabrikası	37(16.2)
Restoran	173(75.9)
Lokanta	18(7.9)
Toplam	228(100)

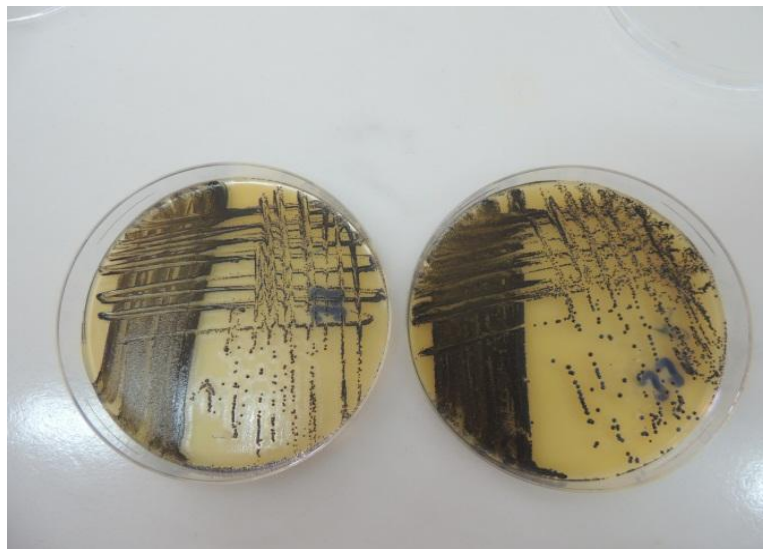
3.2. Yöntem

Proje çalışmasına katılmayı kabul eden kuruluşların ilgili personeline etik kurul izninde de belirtildiği şekilde araştırma konusu ve uygulanacak işlemler hakkında bilgi verildikten sonra katılımcılara 14 soruluk anket uygulanmıştır. Anket formunun örneği EK-1’de verilmiştir. Ayrıca kişilerin *S. aureus* taşıyıcılığının belirlenmesi amacı ile burun ve el sürüntü örnekleri alınmıştır.

3.2.1. Örneklerin alınması

Gıda çalışanlarının her iki burun deliğinden steril eküvyon çubuğu ile, sağ ve sol ellerinden (el içi, parmak araları, el bilekleri) Brain Heart Infusion Broth (BHI, Oxoid CM1135) ile ıslatılmış ayrı steril eküvyon çubukları kullanılarak sürüntü örnekleri alınmıştır (Rall ve ark., 2010).

Sağ-sol elden ve her iki burun deliğinden alınan sürüntü örnekleri cam tüplerdeki 2 ml’lik steril BHI besiyerine aktarılmıştır. Kültür tüpleri buz çantası aracılığı ile 1-2 saat içerisinde laboratuvara ulaştırılmıştır. Elde edilen inokulümler 37 C de 24 saat inkübe edildikten sonra Egg yolk tellürite emülsiyon (Merck 1.03785) içeren Baird Parker Agara (BPA, Merck 1.05406) azaltma yöntemi ile ekim yapılmıştır. 37 C’de 24 saat inkübasyondan sonra izolatların gri-siyah renkli ve etrafında 1-1.5 mm berrak bir zon oluşmuş parlak renkteki kolonileri Muller Hinton Agara (Merck 1.05437) ekim yapılarak, aerob ortamda 37° C’da 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bakteri kolonilerinin BPA besiyerindeki tipik görünümü Şekil 3.1’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Bakteri izolatlarının Baird Parker Agar besiyerindeki görünümü

3.2.2. İzolatların fenotipik yöntemlerle tanımlanması

3.2.2.1. Gram boyama

Muller Hinton Agar (MHA) besiyerinde üremiş olan 1-2 mm çaplı, düzgün yüzeyli, mat beyaz-sarı bakteri kolonilerinden gram boyama yapılmıştır. 100x objektif mikroskop incelemesinde gram pozitif, kok şeklinde görülen bakterilere katalaz testi uygulanmıştır.

3.2.2.2. Katalaz testi

Stafilokok şüpheli koloniler steril öze yardımıyla temiz bir lam üzerine bir damla %30'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) ile karıştırılmıştır. Gaz kabarcıklarının görülmesi katalaz testi için olumlu olarak değerlendirilmiştir (Bilgehan, 2004).

3.2.2.3. Koagülaz testi

Stafilokok izolatlarının koagülaz enzim testi için koagülaz kiti (Bactident Coagulase Merck 1.13306) kullanılmıştır. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda liyofilize plazma içeren her şişe 3 ml steril damıtık su ile sulandırılmıştır. Temiz bir tüpe (13 x 100 mm) koyulan 0,3 ml plazma üzerine BHI besiyerinde üretilmiş 0,1 ml kültür aktarılmıştır. Tüpler 37 °C'lik su banyosunda 6 saat boyunca inkübasyona bırakılmış, saat başı tüpler yavaşça eğilerek pıhtı oluşumu kontrol edilmiştir. Bu kontrol sırasında tüpün fazla eğilmemesine ve karıştırılmamasına dikkat edilmiştir. Tüpte belirgin pıhtı oluşumu (%75) olumlu, oluşmaması ise olumsuz sonuç olarak kabul edilmiştir (Bilgehan, 2004).

3.2.2.4. Lateks aglütinasyon testi

Lateks aglütinasyon testi, kullanılan primerlerle Stafilokokal Protein A (*spa*) genine ait bant göremediğimiz 117 numaralı suş için kullanılmıştır. Slidex Staph-Kit (Biomérieux) test kiti ile *S. aureus* olup olmadığı test edilmiştir. Koagülazın belirlenmesi için fibrinojenle duyarlılaştırılmış hemoglobin, protein A'nın belirlenmesi için spesifik monoklonal antikorlarla kaplanmış lateks partikülleri içermektedir. Ticari kit önerileri doğrultusunda bakteri kolonileri 1'er damla R1 ve R2 reaktifleri ile karıştırılmıştır. R1 reaktifi ile muamele edilen örnekte görülen aglütinasyon izolatın *S. aureus* olduğunu göstermiştir.

3.2.3. İzolatların genotipik yöntemlerle tanımlanması

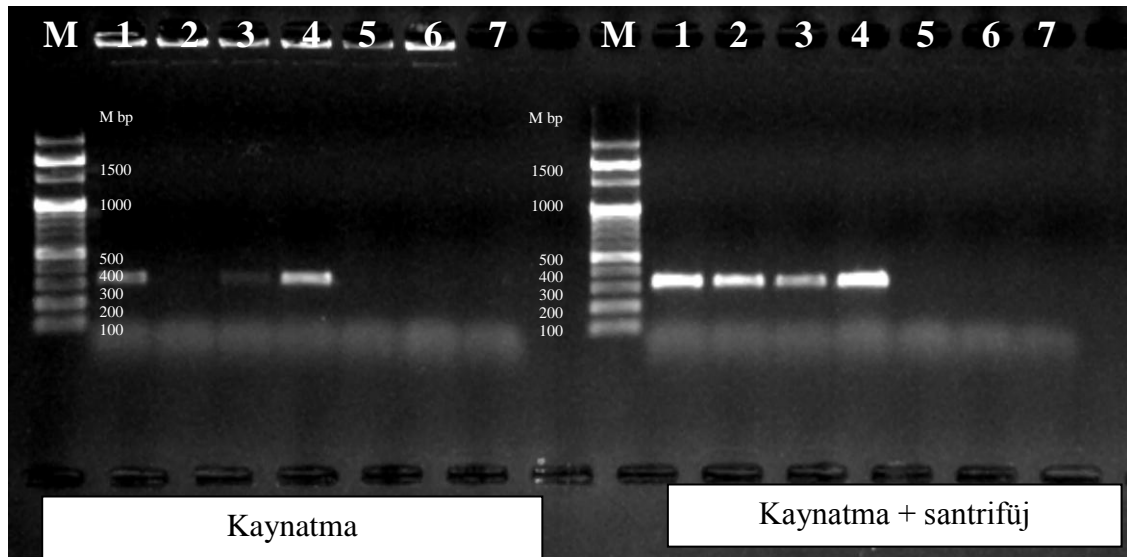
Fenotipik yöntemlerle tanımlanan *S.aureus* izolatlarında *spa* gen bölgesinin saptanması için PZR yöntemi kullanılmıştır.

3.2.3.1. DNA ekstraksiyonu

S. aureus izolatlarından genomik DNA elde edilebilmesinde lizis tampon çözeltisi içerisinde kaynatma sonrasında santrifüj yapılarak artık maddelerin ve kimyasalların çöktürülmesi sağlanmıştır.

Lizis tampon çözeltisi hazırlamak için %10'luk Sodium Dodecyl Sulfate (SDS), 2 M NaOH ve Tris EDTA buffer (TE, Fluka 93283) stok solüsyonları kullanılmıştır. Günlük çalışma için hazırlanan solüsyon (Solüsyon SN): 925 µl H₂O+25µl SDS (%10'luk), 50 µl NaOH (2M). 18-24 saatlik tek tip koloni pasajlanmış bakterilerin kullanıldığı bu yöntemde sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirilmiştir.

1. Her bakteri için 2ml'lik steril eppendorf tüpe, 50µl Solüsyon SN dağıtılmıştır.
 2. Tüplere öze dolusu bakterilerden eklenmiş iyice karıştırılmıştır.
 3. Tüpler 100°C'ye ayarlanmış ısıtıcılı blokta (Thermo Block TBD-120) 10 dakika tutularak bakterilerin lizis işlemi gerçekleştirilmiştir.
 4. Isıtıcılı bloktan alınan tüplerin her birine 50 µl TE tamponu eklenerek karıştırılmıştır.
 5. Tüplere 13000 rpm'de 10 dakika santrifüj işlemi uygulanmıştır.
 6. 2ml'lik steril eppendorf tüplere 150 µl TE tamponu dağıtılmıştır.
 7. Santrifüjlenmiş örneklerden üstte kalan 40 µl'si, yeni tüplere (temiz 150 µl TE tampon ile dolu) aktarılmıştır, kısa vorteks işlemi uygulandıktan sonra -20°C'de saklanmıştır.
- DNA ekstraksiyonu ile ilgili yapılan optimizasyon çalışmasına ait elde edilen görüntü Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. DNA ekstraksiyon protokolü denemesinin jel elektroforez görüntüsü, M: 100 bp, 1-5: 13, 38, 116, ATCC 43300, ATCC 25923

3.2.3.2. *spa* geninin PZR yöntemi ile belirlenmesi

Fenotipik olarak tanımlanan suşların genotipik olarak tanımlanması ve *spa* tiplemesinin gerçekleştirilebilmesi amacıyla *spa* PZR gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonun gerçekleştirilebilmesi için ön karışım (2X ExPrime Taq premix, GENET BIO), oligonükleotitler (Sentromer, İstanbul, Türkiye), ekstraksiyon ürünü, pozitif kontrol olarak *S. aureus* ATCC 25923 ve ATCC 29213 referans suşları kullanılmıştır

Ön karışım: 1 unit/10 µl DNA Polymerase, 20mM Tris-HCl, 80 mM KCl, 4 mM MgCl₂, enzim sabitleyici, sediment, yükleme boyası, 2.0 mM dNTP karışımı içermektedir. Araştırmamızda *spa* geninin tespiti için Aires ve ark., (2006) tarafından önerilen primer dizileri kullanılmıştır.

Spa gen Forward primer: 1113F- 5'TAA AGA CGA TCC TTC GGT GAG C-3',

Spa gen Reverse primer: 1514R- 5'CAG CAG TAG TGC CGT TTG CTT-3'

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda liyofilize ürünler steril distile su ile sulandırılarak 100 pikomol/µl ürünler elde edilmiştir. Buz kalıbı üzerinde uygun ortamda sulandırılmış stok oligonükleotitler PZR tüplerine paylaştırılarak (50 şer µl) -20°C'de saklanmıştır. Günlük çalışmadaki reaksiyon karışımı hazırlanırken stok oligonükleotitler %10'luk (10 pikomol/µl) kullanılmıştır.

Reaksiyon karışımı Hazırlanması: Her *spa* PZR deneyi için örnek sayısına göre Çizelge 3.3 kullanılarak reaksiyon karışımı hazırlanmıştır.

Çizelge 3.3. Reaksiyon karışımı

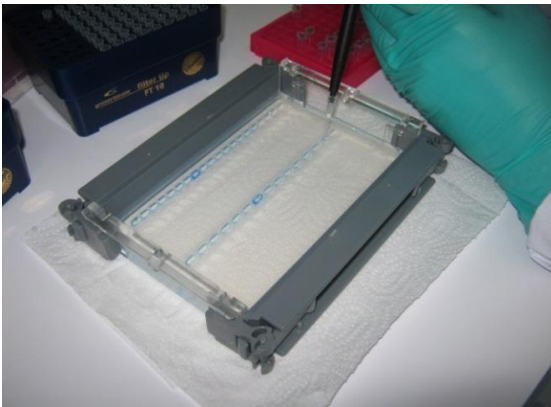
İçerik	Hacim
2X ExPrime Taq Premix	10 µl
<i>spa</i> F	1 µl (10 pmol)
<i>spa</i> R	1 µl (10 pmol)
Distile su	7 µl
Toplam	19 µl

Reaksiyon karışımı, biyogüvenlik kabini içinde, buz bloğu üzerinde hazırlanmıştır. 2 ml'lik tüplere, her bir örnek için 10 µl 2X ExPrime Taq Premix, 1 µl (10 pikomol) forward primer, 1 µl (10 pikomol) reverse primer koyulmuştur. Steril distile su ile toplam hacim örnek başına 19 µl'ye tamamlanmıştır. Son karışım iyice karıştırılıp, spin-down ile santrifüj edilmiştir. Karışımlar numaralandırılmış 200 mikrolitrelik tüplere 19 µl olarak dağıtılmıştır. Tüplerin üzerine 1 µl ekstraksiyon ürünü koyularak toplam hacim 20 µl'ye tamamlanmıştır. PZR işlemi Mastercycler gradient (Eppendorf, Almanya) termal döngü cihazında gerçekleştirilmiştir.

spa PZR Protokolü:

Başlangıç Denatürasyon	95°C 3 dakika	} 30 döngü
Denatürasyon	94°C 30 saniye	
Bağlanma	60°C 30 saniye	
Uzama	72°C 90 saniye	
Son uzama	72°C 3 dakika	

Agaroz gel elektroforezi: Elektroforez tankı 1xTris-Borate EDTA tamponu (TBE) ile yeteri kadar doldurulmuştur. 60 ml 1xTBE içinde %1'lik agaroz mikrodalgada eritilerek agaroz jel hazırlanmıştır. İçerisine 5 µl EtBr eklenerek, hafifçe karıştırılmıştır. Jel döküldükten sonra taraklar yerleştirilerek soğuması beklenmiştir. PZR ürünleri ve 100 bp DNA Ladder Marker (Enzymomics) kuyucuklara yüklenmiş (7 µl), 100V akımda, 40 dakika yürütülmüştür (Şekil 3.3 ve 3.4).

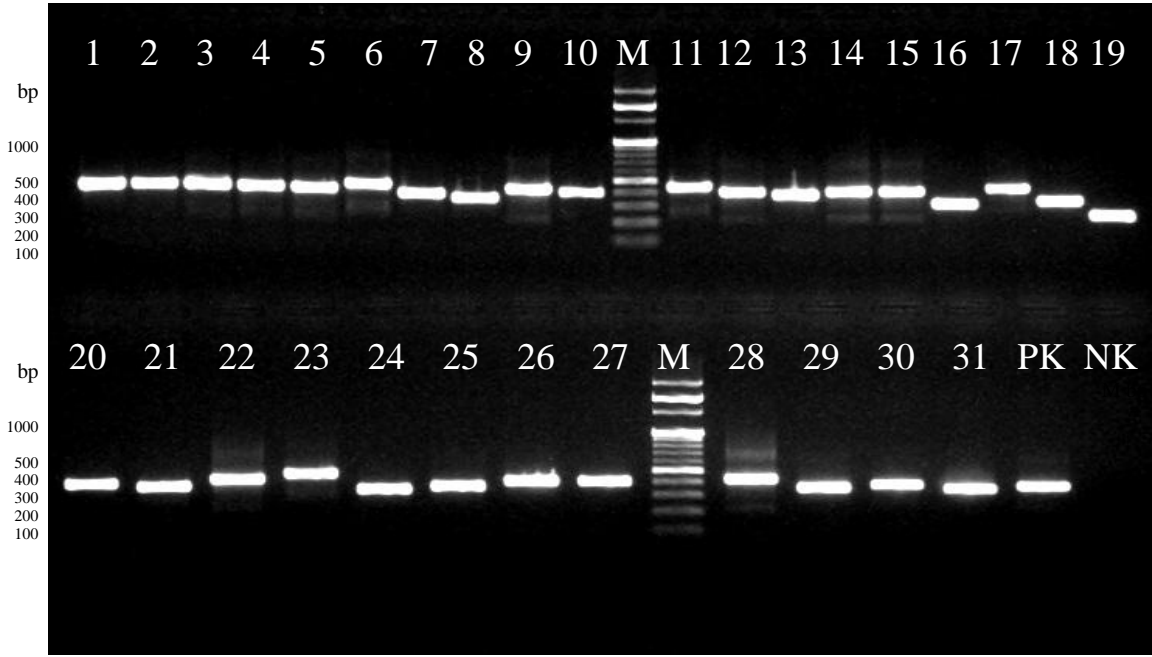


Şekil 3.3. RZR ürünlerinin jele yüklenmesi



Şekil 3.4. Agaroz jel elektroforezi

Elektroforez işleminin ardından bandların görüntülenebilmesi amacıyla jel görüntüleme ve Analiz sistemi (DNR, Minibis) kullanılmıştır. Elde edilen görüntülerden biri Şekil 3.5'de verilmiştir.



Şekil 3.5. İzolatlarda (1-31) *spa* genine ait bandların görüntüsü

M: 100 bp, PK: Pozitif kontrol (ATCC: 25923), NK: Negatif Kontrol.

3.2.4. Antimikrobiyal duyarlılık testleri

S. aureus suşlarında metisilin direncinin ve 15 adet farklı antibiyotiğe (OXOID) karşı duyarlılığın araştırılmasında disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır (CLSI, 2012). Metisilin direncinin saptanmasında kullanılan sefoksitin diski zon çapı referans suş (ATCC 43300) ile kontrol edilmiştir. Duyarlılık testlerinde kullanılan antibiyotiklerin disk içerikleri ve zon çapları Çizelge 3.4’de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Antibiyotiklerin disk içerikleri ve zon çapları

Antibiyotik	Disk içeriği (µg)	Zon Çapları		
		Duyarlı (S)	Orta Duyarlı (I)	Dirençli (R)
Sefoksitin	30	≥22	-	≤21
Amoksisilin klav. asit	20	≥20	-	≤19
Safazolin	30	≥18	15-17	≤14
Sefoperazon	75	≥21	16-20	≤15
Sefotaksim	30	≥23	15-22	≤14
Seftazidim	30	≥18	15-17	≤14
Sefaklor	30	≥18	15-17	≤14
İmipenem	10	≥16	14-15	≤13
Meropenem	10	≥16	14-15	≤13
Gentamisin	10	≥15	13-14	≤12
Eritromisin	15	≥23	14-22	≤13
Tetrasiklin	30	≥19	15-18	≤14
Siprofloksasin	5	≥21	16-20	≤15
Kloramfenikol	30	≥18	15-17	≤14
Rifampin	5	≥20	17-19	≤16
Linezolid	30	≥21	-	≤20

Disk difüzyon testi için inokulum hazırlamada doğrudan koloni süspansiyonu yöntemi kullanılmıştır. 24 saatlik MHA besiyerinde üremiş kültürden 3 ml steril serum fizyolojik içinde süspansiyon hazırlanmıştır. Süspansiyonun bulanıklığı 0.5 McFarland standardına eşdeğer bulanıklığa ($\approx 10^6$ kob/ml) ayarlanmıştır. Bulanıklığı ayarlanmış bakteri süspansiyonu MHA besiyerine her seferinde 60° döndürerek agar yüzeyine ekim

yapılmıştır. Antibiyotik diskleri dağıtıcı aracılığı ile plaklara yerleştirilmiştir. 37°C’de 18 saat inkübasyona bırakılan plaklardaki inhibisyon zon çapları ölçülerek değerlendirilmiştir (CLSI, 2012).

3.2.5. Metisilin direncinin lateks aglütinasyon yöntemi ile belirlenmesi

Metisilin direnci *mecA* geni tarafından kodlanan ve penisilin bağlayan protein PBP2a / PBP2’ olarak adlandırılan bir proteinin üretimi sonucu ortaya çıkmaktadır. Söz konusu proteinin lateks yöntemi ile belirlemek amacıyla Slidex MRSA (Biomerieux, REF 73 117) test kiti kullanılmıştır. Üretici firmanın önerisi doğrultusunda Sefoksitin direnci saptanan bakteriler reaktiflerle muamele edilmiş, aglütinasyon gözlenen izolatların metisiline dirençli olduğu lateks aglütinasyon yöntemi ile de belirlenmiştir.

3.2.6. *mecA* geninin PZR yöntemi ile belirlenmesi

S.aureus izolatlarındaki *mecA* geni tespitinde kullanılacak olan DNA ekstraksiyonu Bölüm 3.2.3.1’de verilen yöntem ile elde edilmiştir. Araştırmamızda, Choi ve ark. (2003) tarafından önerilen primer dizileri ve PZR protokolü, pozitif kontrol olarak da *S.aureus* ATCC 43300 referans suşu kullanılmıştır.

mecA- Forward primer 5’- CCTAGTAAAGCTCCGGAA-3’

mecA- Reverse primer 5’- CTAGTCCATTCGGTCCA-3’ (314 bp)

reaksiyon karışımı çizelge 3.3’e göre *mecA* primerleri kullanılarak hazırlanmıştır.

mecA PZR Protokolü

Başlangıç Denatürasyon	95°C’ 5 dakika	} 30 döngü
Denatürasyon	95°C 2 dakika	
Bağlanma	58°C 30 saniye	
Uzama	72°C 30 saniye	
Son uzama	72°C 7 dakika	

PZR ürünlerinin jelde yürütülmesinden sonra jel görüntüleme sisteminde bantların varlığı gözlenmiştir. 314 bp boyutunda olan bantların görülmesi ve pozitif kontrol ile karşılaştırılması sonucunda *mecA* geni pozitif olan izolatlar tespit edilmiştir.

3.2.7. Stafilokokal enterotoksin genlerinin multipleks PZR yöntemi ile belirlenmesi

S. aureus izolatlarının sahip olduğu enterotoksin genlerinin (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*) belirlenmesi amacıyla multipleks PZR yöntemi kullanılmıştır.

Stafilokokal enterotoksin genlerinin aranmasında NCTC 10652 FDA 196E (*sea*), NCTC 10654 FDA 243 (*seb*), NCTC 10656 494 (*sed*) National Collection of Type cultures Public Health Laboratory Service, Londra), 1229/93 (*sec*) ve FRI 918 (*see*) (National Reference Laboratory for Staphylococci” Robert-Koch-Institute, Wernigerode, Germany) referans *S.aureus* suşları kullanılmıştır. Multipleks PZR uygulamasında ilk olarak referans suşlar için “tek primer tek örnek” uygulaması sayesinde taşımış oldukları toksin genlerinin doğruluğu saptanmıştır.

Multipleks PZR deneme çalışması öncelikle Monday ve Bohach (1999)’ın önerdiği primer ve protokol kullanılarak yapılmıştır. Ancak referans suşlara ait bandlar çok silik olduğundan hatta bazıları hiç görülmediğinden dolayı *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see* gen tespitinde Lovseth ve ark. (2004) tarafından önerilen protokol denenmiştir.

sea forward primer: 5’- GCA GGG AAC AGC TTT AGG C -3’ (520bp)

sea reverse primer: 5’- GTT CTG TAG AAG TAT GAA ACA CG -3’

seb forward primer: 5’- ACA TGT AAT TTT GAT ATT CGC ACT G -3’ (667 bp)

seb reverse primer: 5’- R-TGC AGG CAT CAT GTC ATA CCA -3’

sec forward primer: 5’- CTT GTA TGT ATG GAG GAA TAA CAA -3’ (283 bp)

sec reverse primer: 5’- TGC AGG CAT CAT ATC ATA CCA -3’

sed forward primer: 5’- GTG GTG AAA TAG ATA GGA CTG C -3’ (384 bp)

sed reverse primer: 5’- ATA TGA AGG TGC TCT GTG G -3’

see forward primer: 5’- TAC CAA TTA ACT TGT GGA TAG AC -3’ (170 bp)

see reverse primer: 5’- CTC TTT GCA CCT TAC CGC -3’

PZR işleminde en uygun bağlanma sıcaklığının belirlenebilmesi için 48-56°C arasında gradient PZR uygulaması gerçekleştirilmiş, bunun sonucunda 53°C’nin kullanılması kararlaştırılmıştır. Lovseth ve ark. (2004) tarafından önerildiği gibi örnekler iki ayrı grup halinde farklı tüplerde çalışılmıştır. Her *S. aureus* suşu için iki ayrı PZR tüpü hazırlanmıştır. Birinci tüpte *sea*, *seb*, *sec*, ikinci tüpte *sed* ve *see* genleri araştırılmıştır. Enterotoksin genlerinden *sea*, *seb*, *sec*’nin PZR ile araştırılmasında tek örnek için hazırlanacak reaksiyon karışımı-1 Çizelge 3.5’de, *sed* ve *see* analizinde tek örnek için hazırlanacak reaksiyon karışımı-2 Çizelge 3.6’da verilmiştir.

Çizelge 3.5. Multipleks PZR reaksiyon karışımı karışımı -1 (*sea, seb, sec*)

İçerik	Hacim
2X ExPrime Taq Premix	10 µl
sea F	1 µl (10 pmol)
sea R	1 µl (10 pmol)
seb F	1 µl (10 pmol)
seb R	1 µl (10 pmol)
sec F	1 µl (10 pmol)
sec R	1 µl (10 pmol)
Distile su	2,5 µl
Toplam	18,5 µl

Çizelge 3.6. Multipleks PZR reaksiyon karışımı karışımı-2 (*sed, see*)

İçerik	Hacim
2X ExPrime Taq Premix	10 µl
sed F	1 µl(10 pmol)
sed R	1 µl(10 pmol)
see F	1 µl(10 pmol)
see R	1 µl(10 pmol)
Distile su	4,5 µl
Toplam	18,5 µl

Reaksiyon karışımı buz üzerinde hazırlandıktan sonra iyice karıştırılıp, spin-down ile santrifüj edilmiştir. PZR tüplerine 18.5 µl dağıtılan reaksiyon karışımı üzerine 1.5 µl ekstraksiyon ürününden eklenmiştir. PZR protokolü aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir.

Multipleks PZR Protokolü

Başlangıç denaturasyon	94°C 3 dakika	
Denaturasyon	94°C 1 dakika	} 30 döngü
Bağlanma	53°C 45 saniye	
Uzama	72°C 1 dakika	
Son uzama	72°C 5 dakika	

Elektroforez işleminin ardından jel görüntüleme sisteminde mevcut olan toksin genlerine ait bandların varlığı gözlenmiştir.

3.2.8. Stafilokokal enterotoksinlerin ELISA yöntemiyle belirlenmesi

Multipleks PZR yöntemi ile toksin geni taşıdığı tespit edilen izolatlarda enterotoksin üretiminin ELISA yöntemiyle belirlenebilmesi amacıyla RIDASCREEN SET A, B, C, D, E (R-Biopharm, Art. No: R4101) kit kullanılmıştır. Her bir örnek için 8 kuyucuğa sahip 1 strip kullanılmıştır. Kuyucuklardan ilk 5 tanesi sırasıyla (A-E) A, B, C, D, E toksinlerine karşı üretilmiş antikor ile kaplanmıştır. F,G kuyucukları negatif kontrol, H kuyucuğu ise pozitif kontrol olarak dizayn edilmiştir. Pozitif kontrol herbir toksin için 1ng/ml içerir. Üretici firma bakteri kültürü için tespit limitinin 0.25 ng/ml olduğunu belirtmiştir.

5 ml Brain Heart Infusion Broth besiyerine aktarılan izolatlar 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ticari kit önerileri doğrultusunda tüplerin 3500 g devirde 10°C'de 10 dakika santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. 0.2 µm çaplı filtrelerden (Milipore) geçirilen süpernatantlar 2 ml'lik steril eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Test prosedürü aşağıdaki sırayla gerçekleştirilmiştir.

- 1- Süpernatantlardan A'dan G'ye kadar olan kuyucuklara, negatif kontrol solüsyonundan F ve G kuyucuklarına, pozitif kontrol solüsyonundan H kuyucuğuna 100'er µl aktarılmıştır. Stripleri içeren kaset 37°C'de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır.
- 2- Striplerin 1. yıkama işlemi, yıkama tamponu (%0,1 Thimerosal) ile 5 tekrarlı olmak üzere ELISA yıkama cihazında (Biotek ELx50) gerçekleştirilmiştir (300µl).
- 3- Yıkamış kuyucuklara 100'er µl konjugat (1) solüsyonu ilave edilerek 37°C'de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır.
- 4- 2. yıkama işlemi yukarıda bahsedilen şekilde gerçekleştirilmiştir.
- 5- Kuyucuklara 100'er µl konjugat (2) solüsyonu ilave edilerek 37°C'de 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır.
- 6- 3. yıkama işlemi yukarıda bahsedilen şekilde gerçekleştirilmiştir.

- 7- Kuyucuklara 100'er µl substrat/kromojen solüsyonundan ilave edilerek karanlık ortamda, 37°C'de 15 dakika inkübasyona bırakılmıştır.
- 8- Kuyucuklara 100'er µl stop solüsyon eklenerek reaksiyonun durdurulması sağlanmıştır. 5-10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyundaki absorbans değeri ELISA okuyucusu (Biotek ELx800) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

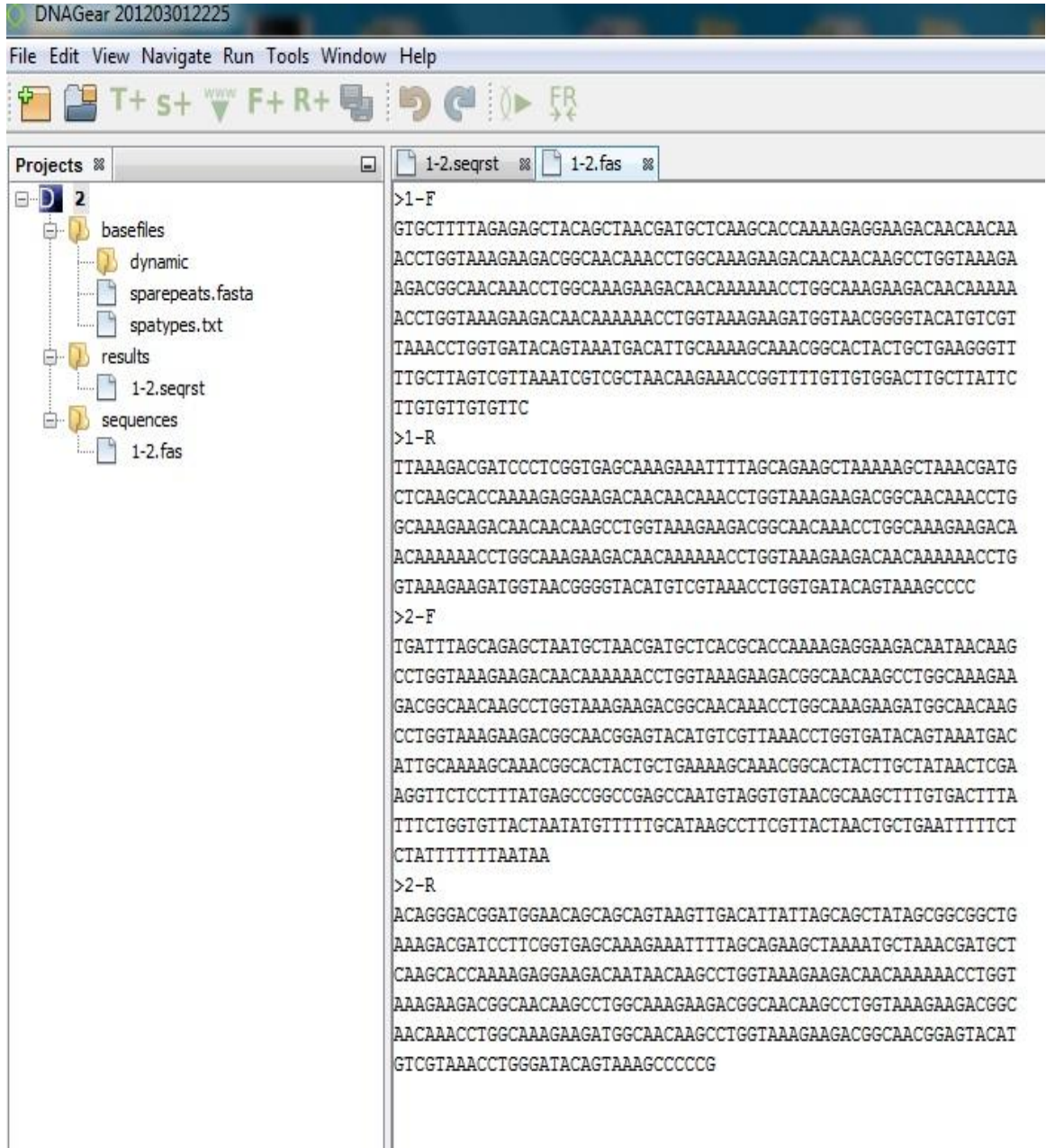
Sonuçların değerlendirilmesinde her örnek için ayrı ayrı olmak üzere cutoff değeri hesaplanmıştır. Cutoff değeri her örnek için çalışılmış stripteki negatif kontrollerin aritmetik ortamasına 0.15 ilave edilerek hesaplanmıştır. Absorbans değeri cutoff değerinin üstünde çıkan örneklerdeki toksinlerin varlığı saptanmıştır (Aydın ve ark., 2011)

3.2.9. İzolatların *spa* tiplerinin belirlenmesi

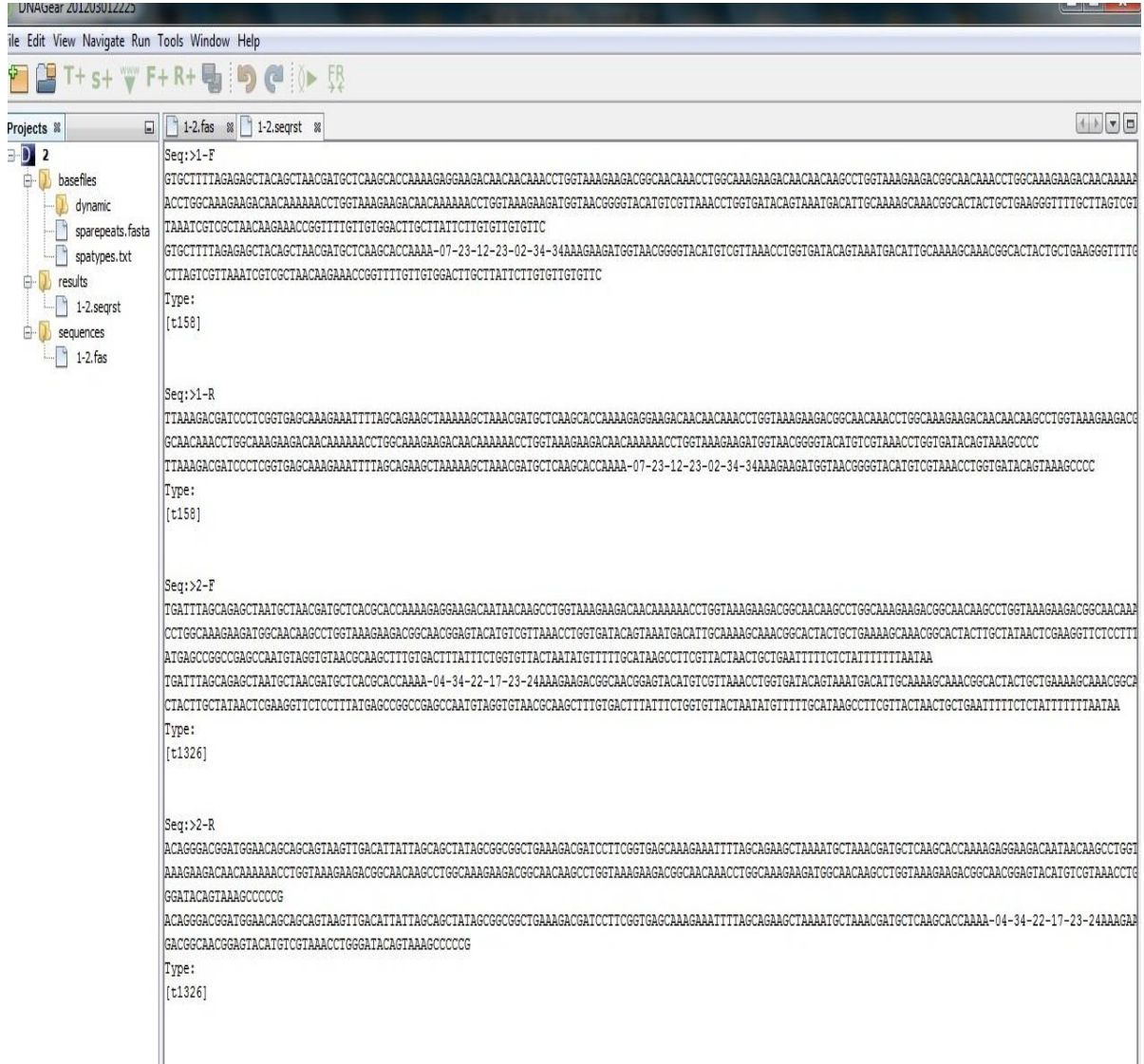
S.aureus izolatlarımızın *spa* tiplerini belirlemek için öncelikle örneklerimizin ekstraksiyon işlemi sağlanmıştır (Bölüm 3.2.3.1). Ardından uygun primerler kullanılarak PZR reaksiyonu gerçekleştirilmiştir (Bölüm 3.2.3.2). Böylelikle *spa* geninin X bölgesi PZR yöntemi ile amplifiye edilmiştir.

spa genlerinin DNA dizi analizleri çift yönlü olarak RefGen, Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji (Ankara) firmasında yaptırılmıştır. PZR ürünlerinin temizlenmesi işleminde Macherey-Nagel NucleoSpin Gel and PZR Clean-up kiti kullanılmıştır. Her örnek için Forward ve Reverse baz dizisi elde edilmiştir. Dizi analizi, Bigdye Cycle Sequencing kit (v.3.1) ile gerçekleştirilmiş olup Sanger sekanslama yöntemine göre ABI 3100 cihazında yürütülmüştür. Elde edilen kromatogramlar Sequencing Analysis (v5.1) ile analiz edilmiştir.

BioEdit programı (v7.2.0) yardımıyla reverse baz dizisinin forward dizisine çevrilmesi sağlanmıştır. *Spa* tiplerinin belirlenmesinde hatanın en aza indirilmesi için aynı program aracılığı ile çift yönlü diziler arasında alignment (hizalama) yapılmıştır. İzolatların *spa* tiplerinin belirlenmesinde DNAGear açık erişim programı kullanılmıştır (DNAGear, 2015). Program aracılığı ile yapılan tiplendirme çalışmasında öncelikle oluşturulan her proje için güncel *spa* tipleri ve tekrarları Ridom SpaServer'dan indirilmiştir. Forward ve reverse dizilerinin DNAGear programında görüntülenmesi Şekil 3.6'da gösterilmiştir. BioEdit programı ile dizilerimize ait elde ettiğimiz fas dosyalarının DNAGear programına yüklenerek *spa* tiplerinin belirlenmesi Şekil 3.7'de gösterilmiştir.



Şekil 3.6. Forward ve reverse dizilerinin DNAGear programında görüntülenmesi



Şekil 3.7. DNA dizilerinin DNAGear programı kullanılarak tanımlanması

3.3. İstatistiksel Analizler

Çalışmamızdaki verilerin istatistiksel analizlerinde SPSS 19.0 programı kullanılmıştır. Araştırmaya katılan gıda çalışanlarının bazı sosyodemografik özellikleri, hijyen ve gıda güvenliği ile ilgili bilgi düzeyleri yüz yüze anket uygulanarak belirlenmiştir. Bu bilgiler ile *S. aureus* taşıyıcılığı arasındaki ilişki Ki-kare testi ile değerlendirilmiştir. Gıda işletmeleri ile hastane mutfaklarında görevli gıda çalışanlarına ait istatistiksel verilerin karşılaştırılmasında iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi (T-testi) kullanılmıştır. Enterotoksin üreten *S. aureus* suşlarının ve belirlenmiş olan *spa* tiplerinin işyerlerine dağılımının değerlendirilmesinde frekans tablosu kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ kabul edilmiştir.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Araştırma, Çanakkale il merkezi ve ilçelerindeki hastaneler ile bazı gıda işletmelerinde görevli 300 mutfak çalışanı ve bu kişilerden elde edilen *S.aureus* izolatları üzerinde gerçekleştirilmiştir.

4.1. Gıda Çalışanlarına Ait Bulgular

4.1.1. Gıda çalışanlarının cinsiyetleri

Araştırmaya katılan 300 kişinin 228'i gıda işletmelerindeki gıda çalışanı, 72'si hastane gıda çalışanıdır. Erkek gıda çalışanı sayısı 193 (%64.3) kadın çalışan sayısı ise 107 (%35.7) dir. Gıda işletmelerinde çalışanlar ile hastane mutfaklarında çalışan kişilerin cinsiyetleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). Gıda işletmelerinde çalışanların çoğunluğunu erkekler (%71.9), hastanede çalışanların çoğunluğunu kadınlar oluşturmuştur (%59.7). Çizelge 4.1'de gıda çalışanlarının cinsiyetlerinin işyeri tipine göre dağılımı verilmiştir.

Çizelge 4.1. Gıda çalışanlarının cinsiyetlerinin işyeri tipine göre dağılımı

Cinsiyet	Gıda işletmeleri n (%)	Hastane n (%)	Toplam n (%)	p
Kadın	64(28.1)	43(59.7)	107(35.7)	
Erkek	164(71.9)	29(40.3)	193(64.3)	<0.05
Toplam	228(100)	72(100)	300(100)	

4.1.2. Gıda çalışanlarının yaş ortalamaları

Gıda çalışanlarının yaşları en az 15, en fazla 65 olup yaş ortalamaları 33.9 olarak tespit edilmiştir. Erkeklerde yaş ortalaması 31.8, kadınlarda yaş ortalaması 37.6 dır. Gıda işletmelerinde çalışan kişilerin yaş ortalaması; 32.6, hastane mutfaklarında çalışan kişilerin yaş ortalaması 37.9 olarak tespit edilmiştir. Gıda işletmelerinde çalışanlar ile hastane mutfaklarında çalışan kişilerin yaş ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). Gıda işletmelerinde çalışan kişilerin yaş ortalaması hastanede çalışanlarıkinden daha düşük bulunmuştur. Gıda çalışanlarının yaş ortalamalarının işyeri tipine dağılımı Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Gıda çalışanlarının yaş ortalamalarının işyeri tipine dağılımı

Cinsiyet	Gıda işletmesi ($\bar{X} \mp S \bar{x}$)	Hastane ($\bar{X} \mp S \bar{x}$)	Yaş Min	Yaş Max	p
Kadın	35,2 \mp 8,6	39,8 \mp 8,1	20	65	
Erkek	31,1 \mp 10,4	36,1 \mp 10,1	15	61	<0,05
Toplam	32,6 \mp 10,5	37,9 \mp 8,6	15	65	

\bar{X} :Yaş ortalaması, $S \bar{x}$: Standart hata, Min: Minumum, Max: Maksimum.

4.1.3. Katılımcı anket formunun değerlendirilmesi

Ek 1’de verilen anket sorularından eğitim durumu ile ilgili 1. soruyu cevaplayan 294 kişi arasında en fazla (%35.4) ilkokul mezunu, en az (%14.6) yüksekokul mezunu olduğu görülmüştür. 2. soruda kişilerin işyerindeki görevleri sorgulanmıştır. Çalışmaya alınan kişilerin çoğunluğunun servis elemanı olduğu (%46.6), onları aşçı olarak çalışanların izlediği (%24.0), sektördeki toplam çalışma yılının sorgulandığı 3. soruyu cevaplayan kişilerin %28.3’ünün sektörde 10 yıldan fazla çalıştığı tespit edilmiştir. 4. soruda hijyen bilgisi düzeyi sorgulanmıştır. Gıda çalışanlarından %1.3’ü hijyen bilgisi olmadığını, %65.6’sı ise hijyen bilgisinin iyi olduğunu ifade etmişlerdir.

5. Soruda gıda çalışanlarına hangi sıklıkta ellerini yıkadıkları, 6. soruda kişilere hangi sıklıkta banyo yaptıkları sorulmuştur. Katılımcıların %93’ü düzenli olarak sık sık ellerini yıkadıklarını, %86.6’sı her gün banyo yaptıklarını ifade etmişlerdir. 7. Soruda eldiven kullanma alışkanlığı, 8. soruda eldiven değiştirme sıklığı sorgulanmıştır. Çalışanların %40.1’i sürekli eldiven kullandığını, %75.3’ü eldivenlerini kirlendikçe değiştirdiklerini ifade etmişlerdir.

9. Soruda çalışanlara maske kullanıp kullanmadıkları sorulmuştur. Çalışanların çoğunluğunun (%40.7) çalışırken maske kullanmadığı tespit edilmiştir.

10. Soruda antibiyotik kullanma sıklığı, 11. Soruda hastanede üç günden fazla yatıp yatmadığı sorulmuştur. Kişilerin çoğunluğunun (%67.5) çok nadir antibiyotik kullandıkları ve katılımcıların büyük çoğunluğunun üç günden fazla hastanede kalmadığı (%77.4) görülmüştür. 12 soruda yılda bir kez burun kültürü yaptırıp yaptırmadıkları sorgulanmıştır. Çalışanların %34.3’ü yılda bir kez düzenli olarak burun kültürü yaptırdığını ifade etmiştir.

13. soruda gıda güvenliği eğitimi sorgulanmıştır. Katılımcı anketi uygulanan kişilerin %46.7'si gıda güvenliği konusunda eğitim aldığını, %52.6'sı ise almadığını ifade etmişlerdir. 14. soruda kişilere hasta oldukları zaman çalışma durumları sorulmuştur. Gıda çalışanlarının %43.9'u hasta olduklarında bile çalışmaya devam ettikleri ifade etmişlerdir. Gıda çalışanlarının anket sorularına verdikleri cevapların dağılımı Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Gıda çalışanlarının anket sorularına verdikleri cevapların dağılımı

Sorular	Cevaplar				Toplam n(%)
	A n(%)	B n(%)	C n(%)	D n(%)	
1- Eğitim durumunuz nedir?	İlkokul 104(35.4)	Ortaokul 65(22.1)	Lise 82(27.9)	Yüksekokul 43(14.6)	294(100.0)
2-İşyerinizdeki göreviniz nedir?	Aşçı 70(24.0)	Aşçı yrd. 39(13.4)	Mutfak tem. görevlisi 47(16.1)	Servis elemanı 136(46.6)	292(100.0)
3- Sektörde çalışma yılınız ne kadardır?	0-1 yıl 68(22.9)	1-4 yıl 71(23.9)	4-10 yıl 74(24.9)	10 yıldan fazla 84(28.3)	297(100.0)
4- Hijyen bilginiz ne kadardır?	Hiç bilmiyorum 4(1.3)	Az 12(4.0)	Orta 87(29.1)	iyi 196(65.6)	299(100.0)
5- Çalışırken ellerinizi hangi sıklıkta yıkarsınız?	Her tuvaletten çıkışta 7(2.3)	Yemek hazırlamaya başlamadan 3(1.0)	Yemekle uğraşırken kirlendikçe 11(3.7)	Düzenli olarak sık sık 278(93.0)	299(100.0)
6- Hangi sıklıkta banyo yaparsınız?	Haftada bir 2(0.7)	Haftada iki 7(2.3)	Haftada üç 31(10.4)	Her gün 259(86.6)	299(100.0)
7- Çalışırken eldiven kullanırmısınız?	Kullanmam 54(18.1)	Bazen 69(23.1)	Sıkça 56(18.7)	Sürekli 120(40.1)	299(100.0)

Çizelge 4.3'ün devamı Gıda çalışanlarının anket sorularına verdikleri cevapların dağılımı

Sorular	Cevaplar				Toplam n(%)
	A n(%)	B n(%)	C n(%)	D n(%)	
8- Eldiveninizi hangi sıklıkta değiştirirsiniz?	Hiç değiştirmem 19(7.2)	Günde 1-2 19(7.2)	Günde 5-6 27(10.3)	kirlendikçe 198(75.3)	263(100.0)
9- Çalışırken maske kullanırmısınız?	Kullanmam 120(40.7)	Bazen 62(21.0)	Sıkça 39(13.2)	Sürekli 74(25.1)	295(100.0)
10- Antibiyotik kullanma durumunuzun hangi sıklıktadır?	Çok nadir 199(67.5)	Yılda 1-2 68(23.1)	Yılda 3-5 21(7.1)	Yılda 5'den fazla 7(2.4)	295(100.0)
11- Bir hastanede 3 günden fazla yattınızı?	Evet 65(22.1)	Hayır 230(77.9)	-	-	295(100.0)
12-Yılda bir kere düzenli olarak burun kültürü yaptırıyor musunuz?	Hiç yaptırmadım 70(23.3)	Düzensiz yaptırıyorum 27(9.0)	Evet 103(34.3)	Hayır 100(33.3)	300(100.0)
13- Gıda güvenliği konusunda eğitim aldınız mı?	Evet 136(47.1)	Hayır 153(52.9)	-	-	289(100.0)
14- Hasta olduğunuzda ne yaparsınız?	Çalışmaya devam ederim 39(13.5)	Önerilen ilaçları alarak çalışırım 127(43.9)	Hastalık geçene kadar çalışmam 123(42.6)	-	289(100.0)

Gıda sektörü çalışanları arasında kişisel hijyen eksikliği, gıda kaynaklı hastalıkların oluşumunda önemli bir faktördür. Bu kişiler işleme, üretim ve dağıtım sürecinde gıdalara eller, yara, kesik, ağız, deri, saç vb sayesinde patojenleri aktarabilir ve böylece gıda zehirlenmesinin ortaya çıkmasına yol açabilirler (Campos ve ark., 2009). Enfekte gıda çalışanlarından kaynaklanan gıda kontaminasyonunda en önemli patojenin *S. aureus* olduğu bildirilmiştir (Çepoğlu ve ark., 2010). Gıda işleyicisinin burnunda veya derisinde bulunabilen bu mikroorganizma, pişmiş ve özellikle proteince zengin gıdalara aktarılması ve buzdolabı dışında saklanması halinde zehirlenme etmeni haline gelebilmektedir (Dagnev ve ark., 2012). Özellikle ellerden meydana gelebilecek kontaminasyonu azaltmak için gıda işleyicilerinin doğru bir hijyen uygulaması gerekmektedir.

Gıda çalışanlarının ellerinden kaynaklanan bulaşmaların engellenmesi için düzenli olarak ellerin yıkanması ve eldiven kullanılması hijyen kuralları açısından uygundur. Gün içerisinde belirli aralıklarla, bir işten farklı bir işe geçerken, özellikle işlenmemiş gıdalara dokunulduktan sonra kullanılan eldivenlerin değiştirilmesi önemlidir.

Todd ve ark. (2010)'nın yanlış eldiven kullanımı hakkında yaptıkları çalışmada, gıdaların hazırlanmasında ve üretiminde çalışan kişilerin ellerinden geçebilecek etkenleri önlemek için eldiven kullanılması önerilmektedir. Düzgün kullanılması halinde kontaminasyonu azaltabileceği, ancak delinmesi veya yanlış kullanılması durumunda kontaminasyon kaynağı olabileceği bildirilmiştir. Takılar vasıtasıyla eldivenin delinmesi halinde, eldiven altındaki uygun ortamda artan mikrobiyal yükün gıdaya geçişi söz konusu olabilir. Ayrıca en önemli konunun, çalışanların eğitim düzeyi ile ilgili olarak riskli davranışlar sonucu çapraz kontaminasyonların olabileceği görüşüne varılmıştır.

Bu konuyla ilgili ülkemizde yapılan bir çalışmada, 764 gıda çalışanın %9.6'sının aktif çalışma sırasında rutin olarak eldiven kullandığı, %47.8'inin temel gıda güvenliği eğitimi olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca Türk gıda işletmelerindeki gıda işleyicilerinin gıda hijyeni bilgi eksikliği olduğuna dikkat çekilmiştir (Baş ve ark., 2006).

Bizim çalışmamızda da gıda çalışanlarının %40.1'i çalışırken sürekli, %18.7'si sıkça, %23.1'i bazen eldiven kullandıklarını, %18.1'i ise hiç eldiven kullanmadıklarını ifade etmişlerdir. Çalışanların %7.2'si eldivenlerini hiç değiştirmezken, %7.2'si günde 1-2, %10.3 günde 5-6 kez, %75.3'ü sürekli değiştirmektedir.

05.07.2013 tarihli hijyen eğitim yönetmeliği uyarınca gıda işletmelerinde çalışan kişilerin tanımlanan eğitimleri almaları istenmektedir. Bu eğitimler kapsamında verilmesi gereken "doğru eldiven kullanımı" üzerinde önemle durulması gereken bir konu olarak

gözükmektedir. Çünkü sürekli olarak eldiven kullanan, seyrek olarak veya hiç değiştirmeyen kişilerin gıdaya patojenlerin aktarılmasında temiz çıplak el ile çalışanlardan daha fazla rol oynadığı düşünülmektedir. Amerika'da yapılan bir çalışmada fast food restoranlardaki gıda işleyicilerinin eldiven kullanımının yiyeceklerdeki mikrobiyal yüke etkisi araştırılmış, aynı eldiven çiftinin uzun süre kullanımı ve ellerin daha az yıkanmasının bakteriyel kontaminasyonu arttırdığı düşünülmüştür. Bu çalışma ile uygun kullanılmadığında, eldiven kullanımının tek başına hijyene katkısı olamayacağı gösterilmiştir (Lynch ve ark., 2005). Eldiven kullanma disiplini tam olarak yerleşmedikçe kontaminasyonlara bağlı gıda kaynaklı hastalıkların azalmayacağı bir gerçektir.

Gıda çalışanlarının gıda güvenliği ile ilgili konulardaki bilgi düzeylerini ölçmek üzere yapılan çalışmalar mevcuttur. Bu konuyla ilgili İtalya'da yapılan bir çalışmada, 411 gıda çalışanına gıda kaynaklı hastalıklar ve gıda güvenliği konusunda bilgi, tutum ve davranışlarının değerlendirilmesi amacıyla anket çalışması uygulanmıştır. Bu kişilerin %48.7'si gıda kaynaklı patojenleri bildiklerini ifade etmişlerdir. Bu seviye yükseköğrenim düzeyinde olan kişilerde ve daha uzun süreli eğitim kurslarına katılanlarda daha yüksek bulunmuştur. Gıda işleyicilerinin yalnızca %20.8'inin işlenmemiş gıdaya eldiven ile dokunduğu belirlenmiştir. Gıda kaynaklı hastalıkların kontrolü ve bilgi düzeyinin iyileştirilmesi için eğitim programlarının önemi vurgulanmıştır (Angelillo ve ark., 2000).

Portekiz'de 2009 yılında gıda işleyicilerinin gıda güvenliği konusunda bilgi düzeylerini belirlemek amacıyla anket çalışması gerçekleştirilmiştir. 18 farklı coğrafik bölgede yemek üretimi yapan ve dağıtan işletmelerde görevi 101 gıda işleyicisine 27 soruluk anket uygulanmıştır. Katılımcıların gıda güvenliği hakkındaki bilgi düzeylerinin eğitim seviyeleri ile ilgili olarak etkilendiği istatistiksel olarak saptanmıştır (Martins ve ark., 2012).

Portekizde yapılan başka bir çalışmada gıda işleyicileri (n=79) ve öğrencilerden oluşan (n=152) gruplara hijyen konusundaki bilgi ve uygulama düzeyini belirlemek amacıyla bir anket çalışması uygulanmıştır. Gıda işleyicilerinin büyük bir bölümünde mikrobiyolojik tehlikeler, hijyen ve güvenlik kuralları ile ilgili temel bilgiler eksik bulunmuştur. Sonuç olarak, Avrupada gıda güvenliği yasalarının öngördüğü farkındalığı ve eğitimi arttırmak gerektiği düşünülmüştür (Gomes-Neves ve ark., 2007)

Yapılan bir çalışmada, gıda güvenliği eğitimlerinin gıda işleyicilerinin el hijyeni konusundaki tutumlarını etkilileyip etkilemediğini belirlemek amacıyla bu konudaki çalışmalar sistematik olarak gözden geçirilmiştir. Gıda işleyicilerinde el hijyeni bilgisi

konusunda eğitim alanlar eğitimden önce ve sonra, eğitim almayan kontrol grupları değerlendirilmiştir. Yapılan meta analiz sonuçlarına göre gıda güvenliği eğitimi el hijyeni uygulamalarında bilgi düzeyini arttırmış, bu konudaki davranışları geliştirmiştir. Tekrarlayan ve uzun süreli olan gıda güvenliği eğitim programlarının iyi el yıkama uygulamalarının sürdürülmesinde yardımcı olabileceği bildirilmiştir (Soon ve ark., 2012).

Türkiye’de 2003-2004 yıllarında gıda işleyicilerinin gıda güvenliği konusundaki bilgi, tutum ve davranışlarının değerlendirilmesi amacıyla 764 kişiye anket çalışması uygulanmıştır. Katılımcıların büyük bir bölümünün (%47.8) temel gıda güvenliği eğitimi almadığı tespit edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre Türkiye’deki gıda işleyicilerinin genellikle temel gıda hijyeni konusunda (buzdolabı sıcaklık aralığı, sıcak veya soğuk hazır yemeklerde kritik sıcaklıklar, çapraz kontaminasyon vb.) eksiklikler olduğu tespit edilmiştir. Güvenli gıda işleme uygulamalarında söz konusu kişiler arasında farkındalığın artırılması ve eğitime acil olarak ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir (Baş ve ark., 2006).

Çalışmamızda tespit edilmiş olan gıda güvenliği eğitimi almamış olanların oranı oldukça yüksek (%52.6) olup Baş ve ark., (2006)’nın saptamış olduğu orana (%47.8) yakın bulunmuştur. *S.aureus* taşıyıcısı olan gıda çalışanlarının gıdaların kontaminasyonuna sebep oldukları bilinmektedir. Gıda kaynaklı hastalıkların önlenmesinde uzman kişilerce verilecek olan gıda güvenliği ile ilgili yeterli bir eğitiminin son derece önemli olduğu söylenebilir. Bu eğitimler sayesinde çalışanların mikrobiyolojik risk teşkil edebilecek tutum ve davranışları azaltılabilir.

4.1.4. Gıda çalışanlarının *S.aureus* taşıyıcılığı

Çalışmamıza katılan 300 kişinin 125’inde (%41.7) *S. aureus* taşıyıcılığı (burun ve/veya el/ellerde) tespit edilmiştir. Bu kişilerin 93’ü (%40.8) gıda işletmelerinde, 32’si (%44.4) hastane mutfaklarında görevlidir. *S. aureus* taşıyıcılığı bakımından gıda işletmeleri ve hastane mutfak çalışanları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Burun sürüntü örneği alınan 300 gıda çalışanından 90 kişinin (%30) burun *S. aureus* taşıyıcısı olduğu tespit edilmiştir. Bunların 67’si farklı gıda işletmelerinde, 23’ü ise hastane mutfaklarında çalışmaktadır. *S. aureus* burun taşıyıcılığı bakımından gıda işletmeleri ve hastane mutfak çalışanları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$).

300 gıda çalışanından 84’ünün (%28) el/ellerinden *S. aureus* bakterisi izole edilmiştir. El taşıyıcılığı bakımından gıda işletmeleri ve hastane mutfak çalışanları

arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). Gıda çalışanlarından 65'inin sağ el sürüntü örneğinde *S. aureus* bakterisi izole edilmiştir. Bunların 48'i farklı gıda işletmelerinde, 17'si ise hastane mutfaklarında çalışmaktadır. Sağ el *S. aureus* taşıyıcılığı bakımından gıda işletmeleri ve hastane ve mutfak çalışanları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0.05$). Gıda çalışanlarından 60'ının sol el sürüntü örneğinde *S. aureus* bakterisi izole edilmiştir. Bunların 44'ü farklı gıda işletmelerinde, 16'sı ise hastane mutfaklarında çalışmaktadır. Sol el *S. aureus* taşıyıcılığı bakımından gıda işletmeleri ve hastane ve mutfak çalışanları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). *S. aureus* taşıyıcılarının işyeri tipine göre dağılımı Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. *S. aureus* taşıyıcılarının işyeri tipine göre dağılımı

İşyeri tipi	<i>S. aureus</i> taşıyıcısı				
	Burun/el n(%)	Burun n(%)	El n(%)	Sağ el n(%)	Sol el n(%)
Gıda işletmesi	93(40.8)	67(29.4)	62(27.2)	48(21.1)	44(19.3)
Hastane	32(44.4)	23(31.9)	22(30.6)	17(23.6)	16(22.2)
Toplam	125(41.7)	90(30.0)	84(28.0)	65(21.7)	60(20.0)

Gıda işletmelerinde gıdaların işlenmesi ve servisinde görev yapan gıda çalışanlarının *S.aureus* taşıyıcılığının araştırıldığı birçok çalışma yapılmış, sayısal anlamda farklılıklara rastlanmıştır. Antalya ve civarındaki gıda sektöründe çalışan 15600 kişinin portör incelemesi sırasında alınan burun sürüntü örneklerinin %3.37'sinde *S. aureus* izole edilmiştir. Ülkemizden yapılan diğer çalışmalarda gıda sektörü çalışanlarında *S.aureus* burun taşıyıcılık oranı Kütahya'da %7.1, Erzurum'da %28.2, Şanlıurfa'da %23.1, Konya'da %15.3 olarak saptanmıştır (Sepin-Özen ve ark., 2013).

Bu konuda yurt dışında yapılan çalışmalardan birinde, Kuveyt şehir restoranlarında çalışan 500 kişinin *S. aureus* burun taşıyıcılığı oranı %26.6 olarak tespit edilmiştir (Al Bustan ve ark., 1996). Brezilya'da gıda işi ile uğraşan 47, Malezya'da aynı işle uğraşan 64 kişi üzerinde yapılan bir araştırmada burun taşıyıcılık oranı sırasıyla %30 ve %24.3 bulunmuştur (Acco ve ark., 2003; Noor-Azira ve ark., 2012). Botswana'da araştırmaya alınan 200 gıda işçisinin 115'inde (%57.5) *S.aureus* taşıyıcılığına rastlanmış, 204 *S. aureus* izolatinin, 63'ü (%30.9) ellerden, 91'i (%44.6) burundan, 50'si (%24.5) yüzden izole

edilmiştir (Loeto ve ark., 2007). Kuveyt’de yapılan başka bir çalışmada ise şehir restoranlarında çalışan 250 gıda işçisinden elde edilen 102 (%40.8) burun, 31(%12.4) el sürüntü örneğinde *S.aureus* izole edilmiştir (Udo ve ark., 2009).

Yaptığımız çalışmada, araştırmaya alınan 300 gıda çalışanınin %30’unun burun *S. aureus* taşıyıcısı olduğu tespit edilmiştir. Bulduğumuz burun taşıyıcılık oranı Antalya (%3.37) ve Kütahya (%7.1) illerimizde tespit edilenden oldukça yüksek, Erzurum, Şanlıurfa ve Konya’da tespit edilenlere yakın bulunmuştur. Yurt dışında yapılmış çalışmalarda daha yüksek burun taşıyıcılık oranlarına rastlanmaktadır.

Nozokomiyal enfeksiyonlar açısından hastane personelinin stafilokok taşıyıcılığı konusunda doktorlar, hemşireler ve hastabakıcılar üzerinde oldukça fazla çalışma yapılmış ancak hastanelerin mutfak çalışanları ve servis elamanları açısından yapılan çalışmaların yok denecek kadar az olduğu görülmüştür. Oysa mutfak çalışanlarının toplum kaynaklı veya hastane kaynaklı olası portörlüklerinin hastane ortamı ve hastalar için potansiyel bir tehlike olabileceği, bu bakımdan taşıdıkları önem gözardı edilmemesi gereken bir durumdur. Hastane ortamında çoklu direnç özelliği kazanan *S. aureus*’ ların, hastanede görevli gıda çalışanları aracılığı ile hastalara taşınması nozokomiyal enfeksiyon sebebi olabileceği gibi, direnç kazanmış söz konusu suşların hastane gıda çalışanları yoluyla toplumda yayılması da ciddi bir sorun teşkil edebilir. Bu düşünceler doğrultusunda hastane mutfak görevlilerinin *S. aureus* taşıyıcılık oranları ile ilgili elde edilen bulgular ele alınarak incelenmiştir.

Hastane ve gıda işletmelerinde görevli gıda çalışanlarının *S. aureus* taşıyıcılık durumları ayrı ayrı incelendiğinde hastanede çalışanlarında %44.4, gıda işletmesi çalışanlarında %40.8 olarak tespit edilmiştir. *S.aureus* burun taşıyıcılığı hastanedekilerde %31.9, gıda işletmesi çalışanlarında %29.4, *S.aureus* el taşıyıcılığı ise hastane çalışanlarında %30.6, gıda işletmesi çalışanlarında %27.2 olarak belirlenmiştir. Bu konuda Suudi Arabistan’da yapılan bir çalışmada hastane mutfak/restoranında çalışan gıda çalışanlarında *S.aureus* taşıyıcılığı %30.5, gıda işletmesi çalışanlarında %44 olduğu, gıda işletmelerindeki taşıyıcılığın hastanedekilere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Ahmed ve Dablood, 2015).

Bizim çalışmamızda, *S.aureus* taşıyıcılığı açısından hastane ve gıda işletmelerindeki gıda çalışanları karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel anlamda fark olmadığı görülmüştür.

4.1.5. *S.aureus* taşıyıcılarının cinsiyetlere göre dağılımı

Araştırmaya alınan 300 gıda çalışanından 42'si (%39.3) kadın, 83'ü (%43.0) erkek olmak üzere 125 kişide (%41.7) *S. aureus* taşıyıcılığı tespit edilmiştir. *S. aureus* taşıyıcılığı bakımından kadın ve erkek gıda çalışanları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Araştırmaya alınan 300 gıda çalışanından 33'ü (%30.8) kadın, 57'si (%27.5) erkek olmak üzere 90 kişide burun *S. aureus* taşıyıcılığı tespit edilmiştir. Burun taşıyıcılığı bakımından kadın ve erkek gıda çalışanları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$).

S. aureus el taşıyıcılığı kadınlarda %24.3, erkeklerde %30.1 olarak tespit edilmiştir. Bu bakımından kadın ve erkek gıda çalışanları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). *S. aureus* sağ ve sol el taşıyıcılığı bakımından da kadın ve erkek gıda çalışanları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). *S. aureus* taşıyıcısı olanların cinsiyetlere göre dağılımı Çizelge 4.5'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. *S. aureus* taşıyıcılarının cinsiyetlere göre dağılımı

Cinsiyet	<i>S. aureus</i> taşıyıcısı					p
	Burun/el n(%)	Burun n(%)	El n(%)	Sağ el n(%)	Sol el n(%)	
Kadın	42(39.3)	33(30.8)	26(24.3)	18(16.8)	20(17.8)	
Erkek	83(43.0)	57(27.5)	58(30.1)	47(24.4)	41(21.2)	>0.05
Toplam	125(41.7)	90(30.0)	84(28.0)	65(21.7)	61(20.3)	

4.1.6. Burun taşıyıcılığının el taşıyıcılığına etkisi

Burun taşıyıcısı olanların %54.4'ünde el taşıyıcılığı tespit edilmişken, burun taşıyıcısı olmayanların %16.7'sinde el taşıyıcılığı saptanmıştır. Gıda çalışanlarından *S. aureus* burun taşıyıcılığına göre el taşıyıcılığının görülme oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Burun taşıyıcısı olanların %44'ünde, burun taşıyıcısı olmayanların %9.5'inde sol el taşıyıcılığı saptanmıştır. Burun taşıyıcılığına göre sol el taşıyıcılığının görülme oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Burun taşıyıcısı olanların %42.2'sinde, burun taşıyıcısı olmayanların %12.9'unda sağ el taşıyıcılığı saptanmıştır. Burun taşıyıcılığına göre sağ el taşıyıcılığının görülme oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Çalışmamızda *S. aureus* el taşıyıcılığının burun taşıyıcısı olan kişilerde daha yüksek oranda olduğu saptanmıştır. Gıda çalışanlarındaki el taşıyıcılığının burun taşıyıcılığına göre dağılımı Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Gıda çalışanlarındaki el taşıyıcılığının burun taşıyıcılığına göre dağılımı

Burun Taşıyıcılığı	El taşıyıcılığı		Sol el taşıyıcılığı		Sağ el taşıyıcılığı		p
	Var	Yok	Var	Yok	Var	Yok	
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	
Var	49(54.4)	41(45.6)	40(44.4)	50(55.6)	38(42.2)	52(57.8)	<0.05
Yok	35(16.7)	175(83.3)	27(12.9)	190(90.5)	20(9.5)	183(87.1)	

Çalışmamızda *S. aureus* burun taşıyıcısı olan gıda çalışanlarının %54.4'ünün ellerinde söz konusu bakteriye rastlanmıştır. *S. aureus* el taşıyıcılığının burun taşıyıcısı olan kişilerde daha yüksek oranda olduğu saptanmıştır. Benzer bir çalışmada *S. aureus*'un burun taşıyıcılığı ile ellerdeki taşıyıcılık arasında kuvvetli bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (Wertheim ve ark., 2005).

4.1.7. *S. aureus* taşıyıcılarının eğitim seviyesi

Eğitim durumu yüksekokul olan gıda çalışanlarının %74.4'ünde taşıyıcılığa rastlanmamışken %25.6'sının taşıyıcı olduğu tespit edilmiştir. Taşıyıcılık ile eğitim durumları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Eğitim seviyesi yükseldikçe taşıyıcılık azalmaktadır. *S. aureus* taşıyıcılık durumlarının eğitim seviyesine göre dağılımı Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. *S. aureus* taşıyıcılık durumlarının eğitim seviyesine göre dağılımı

Taşıyıcılık	Eğitim Seviyesi				Toplam n(%)	p
	İlkokul n(%)	Ortaokul n(%)	Lise n(%)	Yüksekokul n(%)		
Var	48(46,2)	33(50,8)	31(37,8)	11(25,6)	123(41,8)	
Yok	56(53,8)	32(49,2)	51(62,2)	32(74,4)	171(58,2)	<0,05
Toplam	104(100)	65(100)	82(100)	43(100)	294(100)	

Eller, saç, ağız, burun gibi vücut bölgelerine sıklıkla dokunur. Bu durum burun veya vücudun belli bir bölgesinde kolonize mikroorganizmaların ellere kolaylıkla bulaştığını, eller yeterli sayıda ve şekilde yıkanmadıkça el taşıyıcılığının artabileceğini göstermektedir. Ellerin yıkanması sırasında dikkat edilecek en önemli konunun yıkama esnasında parmak ve tırnak araları, ellerin üstü ve bileklerin iyice yıkanmasını sağlamak olduğu düşünülmektedir. Çoğunlukla bunlara dikkat edilmeksizin yapılan yıkamalar ellerdeki patojen bakterilerin uzaklaştırılmasında fayda sağlamayabilir. Araştırmaya katılan gıda çalışanlarında eğitim seviyesi yükseldikçe *S.aureus* taşıyıcılığının azaldığı tespit edilmiştir. Bu durum eğitimin kişisel temizlik ve hijyen alışkanlıklarının kazandırılmasında etkili olduğunu düşündürmektedir.

4.1.8. Eldiven kullanımının *S.aureus* taşıyıcılığına etkisi

S. aureus taşıyıcılarının %50'si çalışırken sürekli eldiven kullanırken, %35.7'si sıkça, %42'si bazen, %27.8'i çalışırken hiç eldiven kullanmamaktadır.

Çalışırken sürekli olarak eldiven kullanan kişilerdeki *S.aureus* taşıyan ve taşımayanların oranları birbirine eşittir (%50). Eldiven kullanmayan kişilerin %72.2'sinde taşıyıcılığa rastlanmazken, %27.2'sinde taşıyıcılık saptanmıştır. Eldiven kullanmayanlarda taşıyıcılık oranı daha düşük saptanmıştır. *S.aureus* taşıyıcılığı ile çalışırken eldiven kullanma durumları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

S.aureus taşıyıcısı olan gıda çalışanlarının eldiven kullanma alışkanlıkları Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. *S. aureus* taşıyıcılarının eldiven kullanma alışkanlıkları

<i>S.aureus</i> taşıyıcısı	Eldiven kullanımı				Toplam n(%)	p
	Kullanmıyor n(%)	Bazen n(%)	Sıklıkla n(%)	Sürekli n(%)		
Var	15(27.8)	29(42.0)	20(35.7)	60(50.0)	84(28.1)	
Yok	39(72.2)	40(58.0)	36(64.3)	60(50.0)	215(71.9)	<0.05
Toplam	54(100)	69(100)	56(100)	120(100)	299(100)	

Çalışmaya katılan kişilerdeki taşıyıcılık durumu ve eldiven kullanma durumları ile ilgili veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, eldiven kullanmayan kişilerde taşıyıcılık oranının daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu durumun çalışanların eldivensiz olduklarında ellerini daha sık yıkamalarından dolayı olabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca bu verilerin incelemesinde sürekli eldiven kullanan kişilerde “taşıyıcı” ve “taşıyıcı olmama” durumlarının eşit olduğu görülmüştür.

Bu konuda çalışmamızdan edinilen verilere göre eldiven kullanımının el taşıyıcılığını azalttığını göstermektedir. Sürekli eldiven kullanan kişilerin %30’unda el taşıyıcılığı saptanmışken, %70’inde saptanamamıştır. Bu da eldivenlerin uzun süre değiştirilmeden kullanıldığını böylelikle taşıyıcılığı olumsuz yönde etkilediği halde ellerin burundan veya başka bir yerden kontaminasyonuna engel olduğunu düşündürmüştür.

4.1.9. Eldiven kullanımının *S. aureus* el taşıyıcılığına etkisi

El taşıyıcısı olan gıda çalışanlarının %30’u sürekli, %32.1’i sıklıkla, %31.9’u bazen eldiven kullandıklarını ifade etmişlerdir. Taşıyıcılığı olmayanların ise %70’i sürekli, %67.9’u sıklıkla eldiven kullanmaktadır. Yapılan istatistiksel incelemede eldiven kullanma durumunun el taşıyıcılığı üzerinde etkisinin olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$). El taşıyıcısı olan gıda çalışanlarının eldiven kullanma alışkanlıkları Çizelge 4.9’da gösterilmiştir.

Çizelge 4.9. *S. aureus* el taşıyıcılarının eldiven kullanma alışkanlıkları

El Taşıyıcılığı	Eldiven kullanımı				Toplam n(%)	p
	Kullanmıyor n(%)	Bazen n(%)	Sıklıkla n(%)	Sürekli n(%)		
Var	8(14.8)	22(31.9)	18(32.1)	36(30.0)	84(28.1)	
Yok	46(85.2)	47(68.1)	38(67.9)	84(70.0)	215(71.9)	p>0.05
Toplam	54(100)	69(100)	54(100)	120(100)	299(100)	

4.1.10. Maske kullanımının *S. aureus* taşıyıcılığına etkisi

S. aureus taşıyıcılarının %43.2 sürekli, %41.0'ı sıklıkla, %46.8'i bazen maske kullandıklarını, taşıyıcılığı olmayanların ise %56.8'i sürekli, %59.0'ı sıklıkla, %53.2'si bazen maske kullandıklarını ifade etmişlerdir. Maske kullanmanın taşıyıcılık üzerinde etkisi olmadığı görülmüştür (p>0.05). *S. aureus* taşıyıcısı olan gıda çalışanlarının maske kullanma alışkanlıkları Çizelge 4.10'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.10. *S. aureus* taşıyıcılarının maske kullanma alışkanlıkları

Taşıyıcılık	Maske kullanımı				Toplam n(%)	p
	Kullanmıyor n(%)	Bazen n(%)	Sıklıkla n(%)	Sürekli n(%)		
Var	45(37.5)	29(46.8)	16(41.0)	32(43.2)	122(41.4)	
Yok	75(62.5)	33(53.2)	23(59.0)	42(56.8)	173(58.6)	>0.05
Toplam	120(100)	62(100)	39(100)	74(100)	295(100)	

4.1.11. Maske kullanımının *S. aureus* burun taşıyıcılığına etkisi

S. aureus burun taşıyıcılarının %29.5'ini sürekli, %13.6'sını sıklıkla, %19.3'ü bazen maske kullandıklarını, taşıyıcılığı olmayanların ise %23.2'si sürekli, %13.0'ı sıklıkla, %21.7'si bazen maske kullandıklarını ifade etmişlerdir. Maske kullanmanın *S. aureus* burun taşıyıcılığı üzerinde etkisi olmadığı görülmüştür (p>0.05). *S. aureus* burun taşıyıcısı olan gıda çalışanlarının maske kullanma alışkanlıkları Çizelge 4.11'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.11. *S. aureus* burun taşıyıcısı olanların maske kullanma alışkanlıkları

Burun Taşıyıcılığı	Maske kullanımı				Toplam n(%)	p
	Kullanmıyor n(%)	Bazen n(%)	Sıklıkla n(%)	Sürekli n(%)		
Var	33(37.5)	17(19.3)	12(13.6)	26(29.5)	88(29.8)	
Yok	87(42.0)	45(21.7)	27(13.0)	48(23.2)	207(70.2)	>0.05
Toplam	120(40.7)	62(21)	39(13.2)	74(25.1)	295(100)	

Anket sorularına verilen yanıtlara göre maske kullanımının taşıyıcılıkla ilişkisi araştırılmış ve maske kullanımının genel taşıyıcılığa veya el taşıyıcılığa etkisinin olmadığı görülmüştür. Bu konuda verilen cevapların gerçeği ne derece yansıttığı tartışılabilir. Maske, bone gibi koruyucu giysilerin vücudun ağız, burun vb. bölgelerinde bulunan mikroorganizmaların eller vasıtasıyla gıdaya veya vücudun başka bir bölgesine aktarılmasında engel teşkil edeceği tahmin edilmektedir. Ancak maske ile çalışmak kişileri sıkın, zor bir uygulama olabilmektedir. Bu nedenle maske kullandıklarını ifade eden gıda çalışanlarının bu konuya yeterli özen göstermedikleri düşünülmüştür.

4.1.12. Gıda güvenliği eğitiminin *S. aureus* taşıyıcılığına etkisi

S. aureus taşıyıcılarının %44.9'u gıda güvenliği eğitimi almışken, %39.2'si eğitim almadığını belirtmiştir. İstatistiksel incelemeye göre gıda güvenliği eğitiminin *S. aureus* taşıyıcılığına etkisinin olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). *S. aureus* taşıyıcısı olan gıda çalışanlarının gıda güvenliği eğitimi alma durumları Çizelge 4.12'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.12. *S. aureus* taşıyıcılarının gıda güvenliği eğitimi alma durumları

Taşıyıcılık	Gıda güvenliği eğitimi		Toplam n(%)	p
	Evet n(%)	Hayır n(%)		
Var	61(44.9)	60(39.2)	121(41.9)	
Yok	75(55.1)	93(60.8)	168(58.1)	
Toplam	136(100)	153(100)	289(100)	>0.05

4.1.13. Gıda güvenliği eğitiminin el taşıyıcılığına etkisi

Gıda güvenliği eğitimi alan kişilerin %34.6'sında el taşıyıcılığı saptanmışken, %65.4'ünde el taşıyıcılığı saptanamamıştır. Gıda güvenliği eğitimi almamış kişilerin %23.5'inde el taşıyıcılığı saptanmışken, %76.5'inde el taşıyıcılığı saptanamamıştır. Gıda güvenliği eğitimi alanlarda el taşıyıcısı olanların oranı taşıyıcı olmayanlara göre daha düşük bulunmuştur. İstatistiksel incelemeye göre gıda güvenliği eğitiminin *S. aureus* el taşıyıcılığını azaltması yönünde etkisinin olduğu görülmüştür ($p < 0.05$). El taşıyıcılarının gıda güvenliği eğitimi alma durumları Çizelge 4.13'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.13. *S. aureus* el taşıyıcılarının gıda güvenliği eğitimi alma durumları

El taşıyıcılığı	Gıda güvenliği eğitimi		Toplam n(%)	p
	Evet n(%)	Hayır n(%)		
Var	47(34.6)	36(23.5)	83(28.7)	
Yok	89(65.4)	117(76.5)	206(71.3)	<0.05
Toplam	136(100)	153(100)	289(100)	

4.1.14. Gıda güvenliği eğitiminin burun taşıyıcılığına etkisi

Burun taşıyıcılığı saptanmış olan gıda çalışanlarının %50.6'sı gıda güvenliği eğitimi almışken, %49.4'ü eğitim almadıklarını ifade etmişlerdir. Burun taşıyıcılığı saptanmayan kişilerin ise %45.5'i eğitimi almışken, % 54.5'i gıda güvenliği eğitimi almamamışlardır. İstatistiksel incelemeye göre gıda güvenliği eğitiminin *S. aureus* burun taşıyıcılığına etkisinin olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$). Burun taşıyıcılığı tespit edilen gıda çalışanlarının gıda güvenliği eğitimi alma durumları Çizelge 4.14'de verilmiştir.

Çizelge 4.14. *S. aureus* burun taşıyıcılarının gıda güvenliği eğitimi alma durumları

Burun Taşıyıcılığı	Gıda güvenliği eğitimi		Toplam n(%)	p
	Evet n(%)	Hayır n(%)		
Var	44(50.6)	43(49.4)	87(100)	
Yok	92(45.5)	110(54.5)	202(100)	>0.05
Toplam	136(47.1)	153(52.9)	289(100)	

Gıda çalışanlarına uygulanan ankette gıda güvenliği eğitimi almış kişilerle almamış kişiler arasında burun *S. aureus* taşıyıcılığı açısından fark görülmediği saptanmıştır. Oysa gıda güvenliği eğitimi almış kişilerin almamış kişilere göre el taşıyıcılığı arasında istatistiksel anlamda fark olduğu görülmüştür. Eğitim almamış kişilerde el taşıyıcılığının beklenenin tersine daha düşük (%23.5), eğitim almış kişilerde ise el taşıyıcılığının daha yüksek olduğu görülmüştür (34.6). Bu durum gıda güvenliği eğitiminin tek başına yeterli olmadığını ayrıca eğitimin daha etkili şekilde verilmesi gerektirdiğini düşündürmektedir.

4.2. *S.aureus* İzolatlarına Ait Bulgular

4.2.1. Gıda çalışanlarından elde edilen *S.aureus* izolatlarının dağılımı

Gıda çalışanlarından burun, sağ el ve sol el olmak üzere 3 adet sürüntü örneği alınmıştır. Alınan sürüntü örneklerinde 29 gıda çalışanın burnunda, sağ elinde ve sol elinde *S.aureus* bakterisi izole edilmiştir. 9 gıda çalışanın burnunda ve sağ elinde, 11'inin burnunda ve sol elinde, 12'sinin sağ ve sol elinde, 15'inin sadece sağ, 9'unun sadece sol, 42'sinin ise sadece burnunda *S.aureus* bakterisi izole edilmiştir. 125 gıda çalışanın toplam 215 *S.aureus* izolatı elde edilmiştir. Araştırmaya katılan tüm gıda çalışanlarından elde edilen *S.aureus* izolatlarının vücut bölgelerine göre dağılımı Çizelge 4.15'de verilmiştir.

Çizelge 4.15. *S.aureus* İzolatlarının vücut bölgelerine göre dağılımı

Vücut bölgesi	Gıda çalışanı n(%)	<i>S. aureus</i> n(%)
B +R+L	29(23.2)	87(40.4)
B+R	9(7.2)	18(8.4)
B+L	11(8.8)	22(10.2)
R+L	12(9.6)	24(11.1)
R	15(12.0)	15(6.9)
L	8(6.4)	8(3.7)
B	41(32.8)	41(19.0)
Toplam	125(100)	215(100)

B: Burun, R: Sağ el, L: Sol el

Araştırmaya alınan 300 kişinin 125'inden toplam 215 *S. aureus* izolatı elde edilmiştir. Bu izolatların 56'sı (%26) hastane mutfak çalışanlarından, 159'u (%74) farklı gıda işletmelerindeki gıda işi ile uğraşanlardan elde edilmiştir. Hastane ve gıda işletmelerindeki gıda çalışanlarından elde edilen *S. aureus* izolatlarının vücut bölgelerine göre dağılımı Çizelge 4.16 ve Çizelge 4.17'de verilmiştir.

Çizelge 4.16. Hastane gıda çalışanlarından elde edilen *S. aureus* izolatlarının vücut bölgelerine göre dağılımı

Vücut bölgesi	Gıda çalışanı n(%)	<i>S. aureus</i> n(%)
B +R+L	9(28.1)	27(48.2)
B+R	2(6.2)	4(7.1)
B+L	2(6.2)	4(7.1)
R+L	2(6.2)	4(7.1)
R	4(12.5)	4(7.1)
L	3(9.3)	3(5.3)
B	10(31.3)	10(17.8)
Toplam	32(100)	56(100)

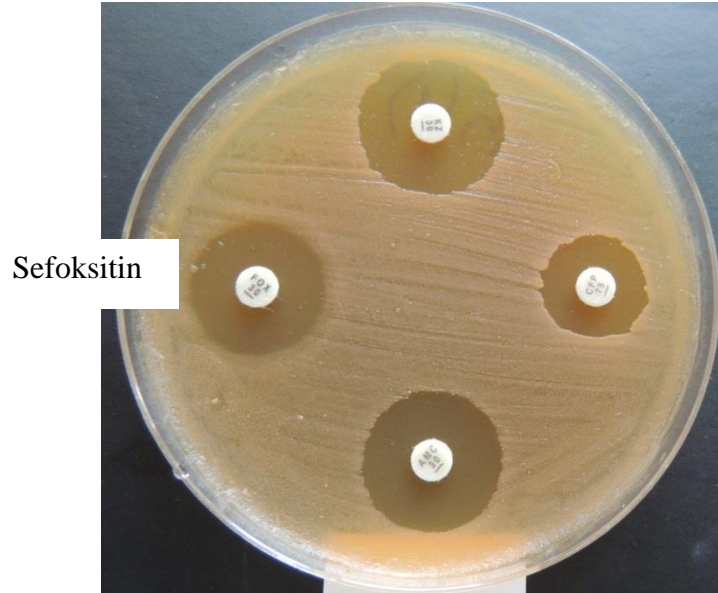
Çizelge 4.17. Gıda işletmelerindeki gıda çalışanlarından elde edilen *S.aureus* İzolatlarının vücut bölgelerine göre dağılımı

Vücut bölgesi	Gıda çalışanı n(%)	<i>S. aureus</i> n(%)
B +R+L	20(21.5)	60(37.7)
B+R	7(7.5)	14(8.8)
B+L	9(9.7)	18(11.3)
R+L	10(10.7)	20(12.6)
R	11(11.8)	11(6.9)
L	5(5.4)	5(3.1)
B	31(33.3)	31(19.4)
Toplam	93(100)	159(100)

125 kişiden 61'inde (%48.8) birden fazla izolat elde edilmiştir. Projemizin bütçe kaynaklarından dolayı her kişiden birer izolat olmak üzere 125 izolat moleküler araştırmaya alınmıştır. Aynı kişinin farklı bölgelerinden elde edilen izolatlar arasındaki moleküler ilişki, kişilerin taşıdıkları bakteriyi vücudun diğer bazı bölgelerine de aktardıklarını göstermesi açısından fayda sağlayabilir.

4.2.2 *S. aureus* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçları

215 *S.aureus* izolatının metisilin ve 15 adet farklı antibiyotik karşı duyarlılığına disk difüzyon yöntemi ile bakılmıştır. Metisilin direncinin saptanmasında sefoksitin diski (30µg) kullanılmıştır. Gıda işletmelerinden elde edilmiş olan 2 adet (izolat no: 13, 38) hastane mutfak çalışanından elde edilmiş olan 1 adet (izolat no:116) suşun sefoksitin dirençli olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda gıda çalışanlarından elde edilen izolatların MRSA oranı %1.39 olarak tespit edilmiştir. MRSA suşlarının kullanılan diğer antibiyotiklere karşı direnci saptanmamıştır. Metisilin direnci saptanan bir izolatın disk difüzyon testi görüntüsü Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. 13 nolu *S. aureus* izolatının sefoksitin direnci

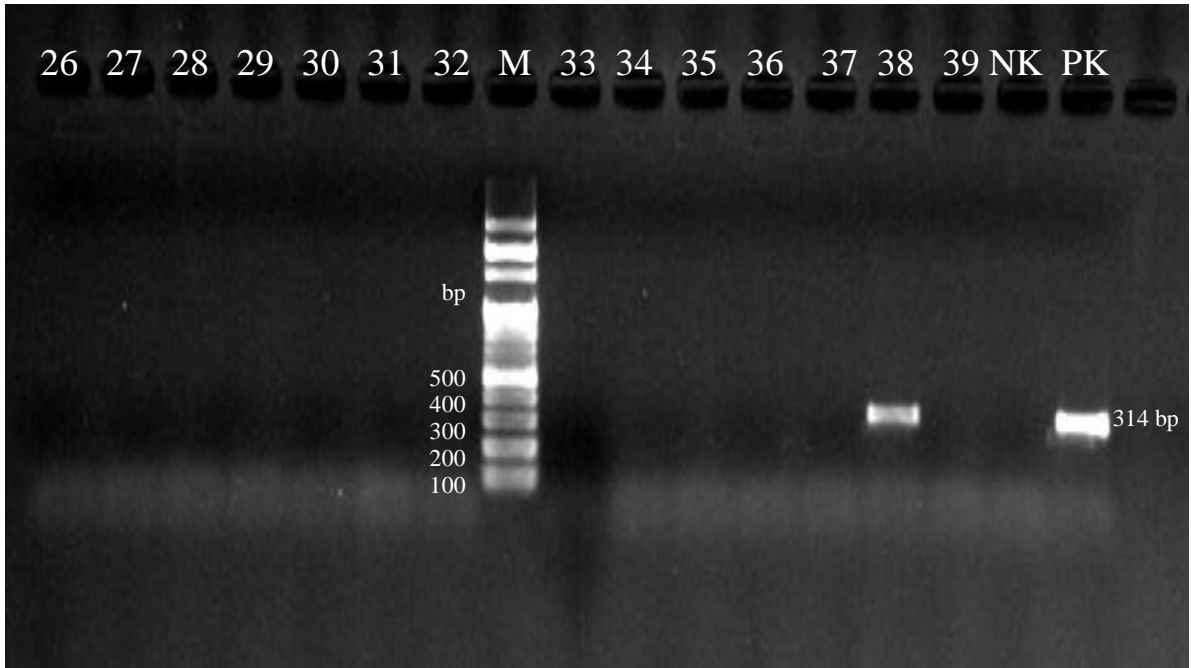
Disk difüzyon testine alınan 215 adet *S.aureus* izolatının 18'i Eritromisin'e (%8.4), 15'inin Tetrasiklin'e (%6.9) dirençli olduğu saptanmıştır. Bu izolatların dışındakilerde herhangi bir antibiyotik diskinin karşı dirence rastlanılmamıştır.

4.2.3. MRSA lateks aglütinasyon testi sonuçları

Disk difüzyon yönteminde metisilin direnci tespit edilen 3 adet (izolat no: 13, 38, 116) izolatın lateks aglütinasyon testi sonucunda da PBP2a proteini taşıdığı tespit edilmiştir.

4.2.4. *S. aureus* izolatlarında *mecA* geninin saptanması

Araştırmaya alınan 125 izolatın 93'ü gıda işletmelerinde, 32'si hastane mutfaklarında çalışan kişilerden elde edilmiştir. PZR yöntemiyle analize alınan izolatların 3 tanesinde (13, 38, 116) *mecA* geni bulunduğu tespit edilmiştir. Bu örneklerin aynı zamanda disk difüzyon yöntemi ve lateks aglütinasyon testi ile metisiline dirençli olduğu saptanmıştır. *mecA* geni pozitif olan 38 numaralı izolatın jel görüntüsü Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2 38 numaralı izolatın *mecA* gen jel görüntüsü

M: 100bp, NK: Neg. Kont. PK: Poz. kont. (ATCC 43300)

Tüm dünyada toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonların en önemli etkenlerinden biri olan *S. aureus* suşlarında antibiyotiklerin çoğuna dirençli izolatların ortaya çıkışı ve tüm dünyada hızlı yayılışı stafilocok enfeksiyonlarının tedavisinde önemli bir sorun olmuştur. Tedavide problem yaratan direnç özellikleri içerisinde kuşkusuz en önemlisi metisilin direncidir (Hiramatsu ve ark., 2002). MRSA enfeksiyonlarının büyük çoğunluğunun hastane kaynaklı olmasına karşın, son yıllarda antibiyotik duyarlılık profili açısından hastane kökenlerinden belirgin farklılıklar gösteren toplum kökenli MRSA (TK-

MRSA) enfeksiyonlarında önemli artışlar gözlenmektedir.

Son yıllardaki çalışmalarda TK *S. aureus* izolatlarında da metisilin direncinin artmakta olduğu görülmektedir. Bu konuyla ilgili ülkemizde yapılan çalışmalarda, Antalya’da gıda işi ile uğraşan 526 kişiden elde edilen *S. aureus* izolatlarının 28’inin (%5.3) MRSA olduğu tespit edilmiştir (Sepin-Özen, 2013). Bursa’nın Nilüfer ilçesinde yapılan benzer çalışmada gıda işçilerinin burun MRSA taşıyıcılık oranı %2.6 olarak belirlenmiştir (Pala ve ark., 2010).

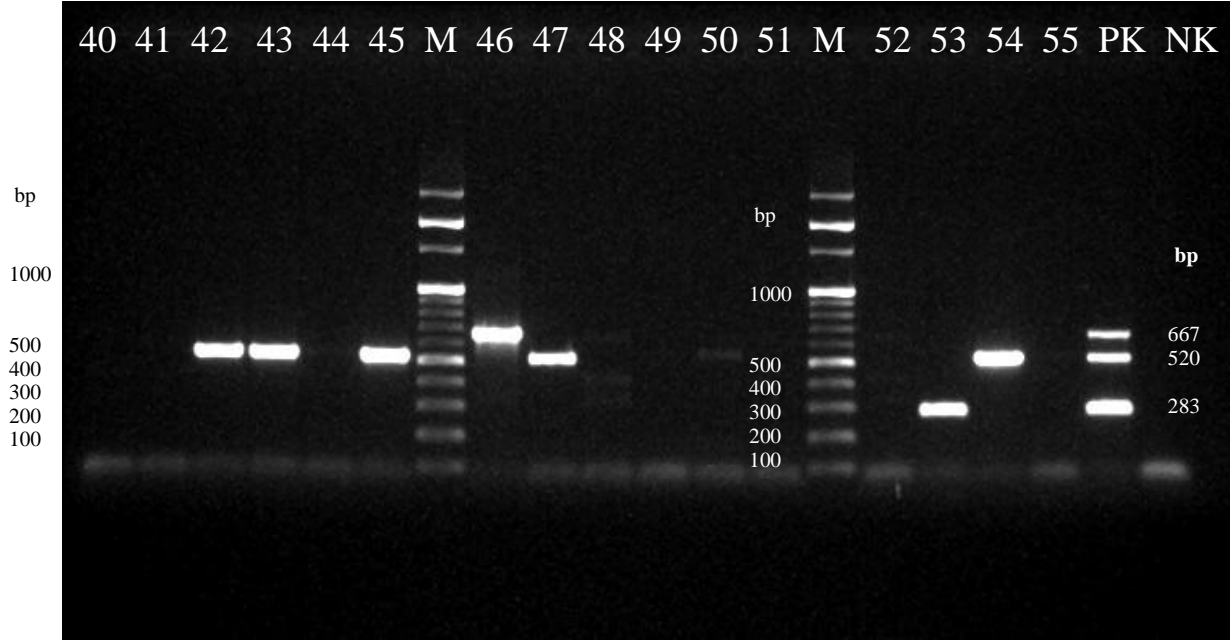
Ankara’da yapılan başka çalışmada bu oran %6.7 olarak bulunurken yurt içinde yapılan iki farklı çalışmada bu oranlar %21.6 ve %27 olarak tespit edilmiştir (Yılmaz ve ark., 2012). Başka bir çalışmada Etiyopya’daki Gondar Üniversitesindeki gıda çalışanlarının burun MRSA taşıyıcılık oranının %9.8 olduğu bildirilmiştir (Dagnew ve ark., 2012). Honkong’da yapılan bir çalışmada da biri hastane mutfağı olmak üzere 5 farklı işyerindeki (kantin, otel vb) gıda çalışanlarında MRSA oranı %5 olarak tespit edilmiştir. MRSA’ların yayılmasının azaltılması, doğru ve hızlı mikrobiyolojik yöntemler ile MRSA’nın taranması gerektiği önerilmiştir (Ho ve ark., 2014).

Bizim çalışmamızda da incelemeye alınan 215 *S.aureus* izolatının 3’ü (%1.39) MRSA olarak tespit edilmiştir. Gıda işletmelerinden (TK) elde edilen 159 izolattan 2’si (%1.25), hastane mutfak çalışanından elde edilen 56 izolattan 1’i (%1.78) metisiline direnç göstermektedir.

Çalışmamızda tespit edilen MRSA oranları yurt içi ve yurt dışında yapılmış diğer çalışmalarla kıyaslandığında Bursa’dakine (Pala ve ark., 2010) yakın diğerlerinden düşük olduğu görülmüştür. Söz konusu suşların suşların diğer antibiyotik gruplarına direnç göstermedikleri belirlenmiştir.

4.2.5. *S. aureus* izolatlarında *sea*, *seb*, *sec* genlerinin saptanması

125 adet *S. aureus* izolatında stafilkokal enterotoksinlerden A, B, C’nin üretimini sağlayan *sea*, *seb*, *sec* genlerinin varlığı multipleks PZR yöntemiyle araştırılmıştır. Araştırmamız sonucunda izolatların 20’sinde *sea*, 8’inde *seb*, 12’inde de *sec* genine rastlanmıştır. *Sea*, *seb*, *sec* geni pozitif *S. aureus* izolatlarına ait multipleks PZR jel görüntüsü Şekil 4.3’de verilmiştir.

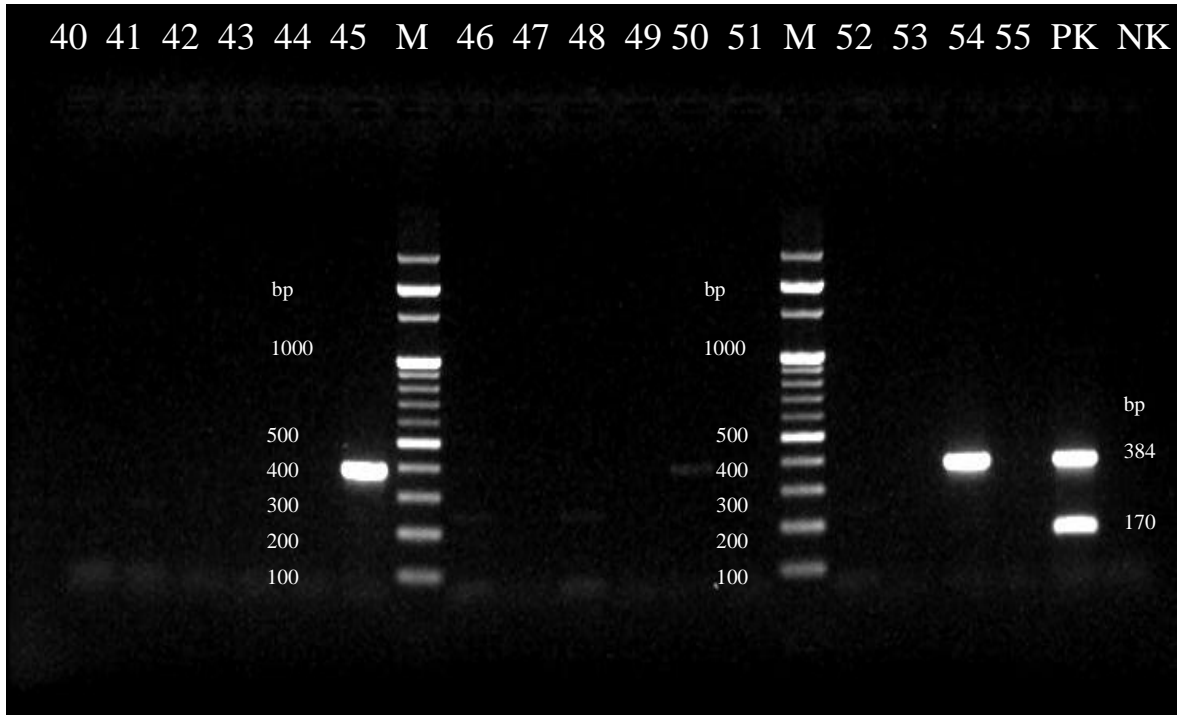


Şekil 4.3. *S. aureus* izolatlarının *sea*, *seb*, *sec* multipleks PZR jel görüntüsü

M: 100 bp, PK: *sea*, *seb*, *sec* (520, 667, 283 bp), NK: (-) NEG

4.2.6. *S. aureus* izolatlarında *sed* ve *see* genlerinin saptanması

Çalışmamızda 125 adet *S.aureus* izolatında stafilokokal enterotoksinlerden D ve E'nin üretimini sağlayan *sed* ve *see* genlerinin varlığı da multipleks PZR yöntemiyle araştırılmıştır. Araştırma sonucunda 8 adet izolatın *sed* geni taşıdığı, hiçbirinde *see* geni bulunmadığı saptanmıştır. *sed* geni taşıyan şuşlardan 6'sının aynı zamanda *sea* geni taşıdıkları görülmüştür. Söz konusu izolatların 6'sı farklı gıda işletmelerinde çalışanlardan, 2'si hastane mutfak çalışanından elde edilmiştir. *sed*, *see* geni pozitif *S.aureus* izolatlarına ait multipleks PZR jel görüntüsü şekil 4.4'de enterotoksin genleri tespit edilen izolatların numaraları Çizelge 4.18'de gösterilmiştir.



Şekil 4.4. *S. aureus* izolatlarının *sed*, *see* multipleks PZR jel görüntüsü
M: 100 bp, PK: *sed*, *see* (384, 170 bp) NK: (-) NEG.

Çizelge 4.18. Enterotoksin geni tespit edilen *S. aureus* izolatları

Toksin genleri	İzolat no	Enterotoksin gen (n)
<i>sea</i>	16, 42, 43, 45, 47, 54, 56, 57, 58, 60, 61, 78, 81, 84, 86, 93, 97, 100, 101, 106.	20
<i>seb</i>	19, 21, 24, 28, 33, 34, 46, 72.	8
<i>sec</i>	3, 25, 30, 37, 53, 64, 77, 87, 99, 104, 105, 110	12
<i>sed</i>	45, 50, 54, 60, 61, 81, 106, 107	8
<i>see</i>	-	-
Toplam		48

4.2.7. Enterotoksin geni saptanan izolatların işyeri tipine göre dağılımı

125 *S. aureus* izolatında enterotoksin genlerinin (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*) varlığının araştırıldığı bu çalışmada 42 (%33.6) izolatın enterotoksin genlerinden en az birini taşıdıkları belirlenmiştir. Bu izolatların 31'i (%33.3) farklı gıda işletmelerinden, 11'i (%34.4) hastane mutfak görevlilerinden elde edilmiştir. Toksin geni taşıyan izolatlar

bakımından iş yeri tipleri karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel bir fark görülmemiştir ($p>0.05$). İşyeri tiplerinin toksin geni taşıyan izolatlar açısından karşılaştırılması Çizelge 4.19'de verilmiştir.

Çizelge 4.19. Toksin geni taşıyan izolatların işyeri tipine göre dağılımı

İşyeri tipi	Toksin Geni		Toplam n(%)	p
	Negatif n(%)	Pozitif n(%)		
Gıda işletmeleri	62(66.7)	31(33.3)	93(100)	
Hastane	21(65.6)	11(34.4)	32(100)	>0.05
Toplam	83(66.4)	42(33.6)	125(100)	

Hastane mutfak personeli ve topluma hastane mutfakları dışında yemek hizmeti veren (lokanta, restoran, yemek fabrikası, otel vb.) işletmelerdeki gıda çalışanlarının enterotoksijenik stafilocok taşıyıcılığının karşılaştırmalı olarak incelendiği nadir çalışma mevcuttur. Suudi Arabistan'da gerçekleştirilen bir çalışmada gıda işletmelerinden elde edilen 88 izolatın %47.7'sinin, hastane mutfak görevlilerinden elde edilen 61 izolatın %55.8'nin ELISA yöntemiyle enterotoksin taşıdığı gösterilmiştir. Hastane ve gıda işletmeleri arasında enterotoksijenik stafilocoklar açısından fark olmadığı bildirilmiştir (Ahmed ve Dabool, 2015).

Çalışmamızda farklı işyerlerinden elde ettiğimiz 125 izolattan 20'i (%16.0) *sea*, 8'i (%6.4) *seb*, 12'si (%9.6) *sec*, 8'i (%6.4) *sed* genine sahip oldukları tespit edilmiştir. İncelenen izolatlar içerisinde *see* geni taşıyan örnekler rastlanılmamıştır. İzolatlarımızdan 6'sının (%4.8) *sea* ve *sed* genlerini birlikte taşıdıkları saptanmıştır. Metisilin direnci saptanmış olan 13, 38, 116 no'lu izolatlarda, toksin genine rastlanmamıştır. İşyeri tipine göre enterotoksin genlerinin dağılımı Çizelge 4.20'de verilmiştir.

Çizelge 4.20. *S. aureus* izolatlarının toksin geni çeşidine göre işyeri tiplerine dağılımı

İşyeri tipi	<i>sea</i>	<i>seb</i>	<i>sec</i>	<i>sed</i>	<i>see</i>	<i>sed+sea</i>
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)
Gıda						
işletmesi	16(17.2)	8(8.6)	6(6.4)	6(6.4)	-	5 (5.4)
Hastane	4(12.5)	-	6(18.7)	2(6.2)	-	1 (3.1)
Toplam	20(16.0)	8(6.4)	12(9.6)	8(6.4)	-	6 (4.8)

Taşımış oldukları toksin çeşidine göre, 42 *S. aureus* izolatının işyerlerine göre dağılımı Çizelge 4.21’de verilmiştir.

Çizelge 4.21. Toksin geni taşıyan izolatların işyeri adlarına (lokanta, restoran, yemek fabrikaları ve hastane mutfakları) göre dağılımı

İşyeri adı	<i>sea</i>	<i>seb</i>	<i>sec</i>	<i>sed</i>	<i>sea+sed</i>
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)
1	-	-	-	-	-
2	-	-	1 (33.3)	-	-
3	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-
6	1 (11.1)	3 (33.3)	-	-	-
7	-	3 (27.3)	2 (18.2)	-	-
8	2 (22.2)	-	1 (11.1)	-	-
9	2 (22.2)	1 (11.1)	1 (11.1)	2 (22.2)	1 (11.1)
10	6 (75.0)	-	-	3 (37.5)	3 (37.5)
11	-	-	-	-	-
12	-	-	1 (12.5)	-	-
13	-	1 (20.0)	-	-	-
14	2 (33.3)	-	-	1 (16.7)	1 (16.6)
15	1 (50.0)	-	-	-	-
16	1 (100.0)	-	-	-	-
17	1 (12.5)	-	-	-	-
H1	-	-	1 (100.0)	-	-
H2	-	-	1 (50.0)	-	-
H3	1 (100.0)	-	-	-	-
H4	2 (28.6)	-	2 (28.6)	-	-
H5	1 (25.0)	-	1 (25.0)	2 (50.0)	1 (25.0)
H6	-	-	1 (14.3)	-	-
H7	-	-	-	-	-
H8	-	-	-	-	-
H9	-	-	-	-	-
Toplam	20 (16.0)	8 (6.4)	12 (9.6)	8 (6.4)	6 (4.8)

1-17: Lokanta, restoran, yemek fabrikaları. H1-H9: Hastane mutfakları

S. aureus burun taşıyıcılığı olan kişiler kendileri ve başkaları için tehlike kaynağıdır. Bazı burun taşıyıcıları bir hafta veya daha az bir süre taşırken bazıları aynı

suşu aylarca taşıyabilmektedir (Soriano ve ark., 2012). Enterotoksin üretebilen *S.aureus* suşları taşıyan kişiler herhangi bir gıdanın hazırlanması, depolanması veya dağıtılmasında çalışması halinde bu bakteriyi gıdaya aktarabilmektedir. Bu şekilde kontamine edilen gıdalar uygun ortam (gıda içeriği, sıcaklık, pH, vb.) bulduklarında hızla çoğalır ve toksin üretirler.

Gıda çalışanlarının elleri, zayıf kişisel hijyen ve çapraz kontaminasyondan dolayı gıda kaynaklı hastalıkların yayılmasında vektör görevi görebilmektedir. Gıda çalışanlarının el veya burun sürüntü örneklerinden elde edilen *S.aureus* suşlarında enterotoksinlerin moleküler veya serolojik olarak araştırıldığı ve bu kişilerin gıda zehirlenmesine neden olduklarını gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur.

Finlandiya’da 1995-1997 yılları arasında havaalanı yemek şirketlerinde çalışan gıda çalışanlarından alınan burun ve el örneklerinde %29 ve %9 oranında *S. aureus* tespit edilmiş ve bu suşların %46’sının enterotoksijenik olduğu saptanmıştır (Hatakka ve ark., 2000). Santiago’da hizmet veren 19 restoranın 102 gıda çalışanından 35’inde (%34.3) *S. aureus* izole edilmiş, bu suşların 19’unun (%54) enterotoksin ürettiği tespit edilmiştir (Figuroa ve ark., 2002). 82 gıda işçisinin burun ve ellerinden alınan swab örneklerinin incelendiği bir çalışmada ise 20’ sinde *S. aureus* varlığı tespit edilmiş, bunlardan 19 tanesinde (%95) bir veya daha fazla enteroksine rastlanmıştır (Rall ve ark., 2010). Arjantin’de yapılan başka bir çalışmada 88 gıda işleyicisinin burun swab örneklerinden 33’ünde (%37.5) *S. aureus* tespit edilmiş, bu suşların 13’ünde (%39.4) enterotoksin genlerine rastlanmıştır (Jorda ve ark., 2012).

Şili’deki Metropolitan üniversitesi kafeteryalarında çalışan gıda işleyicilerinin burun, boğaz, el ve tırnak sürüntü örnekleri mikrobiyolojik olarak incelenmiş, %41 oranında enterotoksijenik stafilokoklara rastlanmıştır. Bunlardan en sık karşılaşılan enterotoksinin SEB olduğu bunu SED’in izlediği saptanmıştır (Soto ve ark., 1996). Kuveyt’deki şehir restoranlarında çalışanlardan elde edilen *S. aureus* suşlarının %86,6’sının enterotoksin ürettiği bildirilmiş, dağılımlarının ise %28 SEA, %28.5 SEB, %16.4 SEC, %3.5 SED şeklinde olduğu gösterilmiştir (Al-Bustan ve ark., 1996).

Botsvana’da araştırmaya alınan 200 gıda işçisinin burnundan, ellerinden ve yüzünden alınan örneklerden elde edilen 204 izolatın 43’ü (%21) enterotoksijenik bulunmuş, en sık rastlanan enterotoksin tipinin SEA olduğu (%34.9) görülmüştür (Loeto ve ark., 2007). 5 farklı işyerindeki gıda çalışanlarından elde edilen *S. aureus* suşlarının (99), %40’ında enterotoksin geni tespit edilmiştir. Çalışmada en çok *sea* (%20) ve *seb*

(%11) genlerine rastlanmıştır. Elde edilen 8 izolatın ise (%8) birden fazla toksin geni taşıdığı belirlenmiştir (Ho ve ark., 2014). Mısır'daki 3 farklı işleme tesisinde çalışan 200 gıda çalışanın %31'i *S. aureus* taşıyıcısı olarak tespit edilmiş, bu suşların %34.4'ünün enterotoksijenik olduğu belirlenmiştir. En çok karşılaşılan toksin tipinin SEA ve SEC (12) olduğu bunları SEB (7) ve SED (5)'nin izlediği tespit edilmiştir (El-Shenawy ve ark., 2013).

Ülkemizde gıda çalışanlarından elde edilen izolatların enterotoksin üretme özellikleri ile ilgili az sayıdaki çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların birinde sanitasyon sonrasında yemek fabrikası mutfağındaki gıda (n=100), ekipman (n=100) ve gıda çalışanlarından (n=186) örnek alınmıştır. 36'sı gıdadan, 32'si ekipmanlardan, 239'u çalışanlardan olmak üzere 307 *S. aureus* izolatı elde edilmiştir. Bu izolatların 276'sında *sea*, 6'sında *seb*, 117'sinde *sec*, 12'sinde *sed*, 8'inde *see* genleri tespit edilmiştir. Gıda çalışanlarının enterotoksijenik suşların gıdaya aktarılmasında rolü olduğu ve halk sağlığı açısından önem gösterdiği vurgulanmıştır (Sezer ve ark., 2015)

Çalışmamızda hastane ve gıda işletmelerindeki gıda çalışanlarının stafilocokal gıda zehirlenmesinde potansiyel risk kaynağı olup olmadıkları araştırılmıştır. Enterotoksin genlerinin dağılımında en fazla *sea*'nın tespit edilmesi bu konuda yapılan diğer çalışmalara uyum göstermektedir.

4.2.8. Stafilocokal enterotoksin A, B, C, D ve E varlığının ELISA yöntemiyle belirlenmesi

PZR yöntemiyle enterotoksin geni saptanmış olan 42 izolatta stafilocokal enterotoksinlerden A, B, C, D ve E'nin varlığı ELISA yöntemiyle araştırılmıştır. Araştırma sonucunda *S. aureus* izolatlarının 18'sinde A toksini, 9'unda B toksini, 16'sında C toksini, 14'ünde D toksini, 26'sında E toksini üretmiş olduğu saptanmıştır. 42 izolatın 9'unda PZR ve ELISA yöntemiyle elde edilen 25, 30, 46, 72, 77, 87, 99, 105 ve 110 no'lu suşlara ait sonuçların gen ve toksin pozitifliği yönünden uyum gösterdiği tespit edilmiştir. PZR yöntemiyle hiçbir suшта *see* geni tespit edilememişken ELISA yönteminde 70 no'lu izolatın E toksini taşıdığı belirlenmiştir. 57, 78, 84 ve 86 no'lu izolatlarda *sea* geni, 50 ve 107 no'lu izolatlarda *sed* geni tespit edildiği halde ELISA yönteminde toksin pozitifliğine rastlanmamıştır. Geri kalan diğer izolatlarda PZR yönteminde tespit edilen gen çeşidine ilaveten ELISA yönteminde farklı bir veya iki toksin daha taşıdığı belirlenmiştir. İzolatların toksin yönünden PZR ve ELISA yöntemiyle elde edilen bulguları karşılaştırmalı olarak çizelge 4.22'de verilmiştir.

Çizelge 4.22. PZR ve ELISA yöntemlerine göre elde edilen bulguların karşılaştırılması

İzolasyon no	Yöntem	
	PZR	ELISA
3	<i>sec</i>	C,E
16	<i>sea</i>	A,D,E
19	<i>seb</i>	B,C,E
21	<i>seb</i>	B,C,E
24	<i>seb</i>	B,C,E
25	<i>sec</i>	C
28	<i>seb</i>	B,C,E
30	<i>sec</i>	C
33	<i>seb</i>	B,C,E
34	<i>seb</i>	B,E
37	<i>sec</i>	B,C,E
42	<i>sea</i>	A,D,E
43	<i>sea</i>	A,D,E
45	<i>sea, sed</i>	A,D,E
46	<i>seb</i>	B
47	<i>sea</i>	A,D,E
50	<i>sed</i>	Neg
53	<i>sec</i>	A,C,E
54	<i>sea,sed</i>	A,D,E
56	<i>sea</i>	A,D,E
57	<i>sea</i>	Neg
58	<i>sea</i>	A,D,E
60	<i>sea, sed</i>	A,D,E

Çizelge 4.22'nin devamı PZR ve ELISA yöntemlerine göre elde edilen bulguların karşılaştırılması

İzolat no	Yöntem	
	PZR	ELISA
61	<i>sea, sed</i>	A,D,E
64	<i>sec</i>	A,B,C
70	Neg	E
72	<i>seb</i>	B
77	<i>sec</i>	C
78	<i>sea</i>	Neg
81	<i>sea, sed</i>	A,D,E
84	<i>sea</i>	Neg
86	<i>sea</i>	Neg
87	<i>sec</i>	C
93	<i>sea</i>	A,D,E
97	<i>sea</i>	A,D,E
99	<i>sec</i>	C
100	<i>sea</i>	A,E
101	<i>sea</i>	A,E
104	<i>sec</i>	B,C
105	<i>sec</i>	C
106	<i>sea, sed</i>	A,D,E
107	<i>sed</i>	Neg
110	<i>sec</i>	C

S.aureus izolatları tarafından üretilen enterotoksinler ve bu toksinleri kodlayan genlerin analizinde ELISA ve PZR yöntemleri kullanılmıştır. Toksin geni tespit edilen 42'izolatın 9'unda bu genler tarafından üretilen toksin tespit edilmiş ve sonuçlar tam uyumlu bulunmuştur. 6 izolatta (50, 57, 78, 84, 86, 107) bir toksin geni tespit edilmişken ELISA yönteminde bu toksinlerin varlığına rastlanmamıştır. PZR ile ELISA yöntemlerine

göre elde edilen sonuçlar arasında tam uyum göstermediği görülmüştür.

Bu konuda yapılan çalışmaların birinde de buna benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu uyumsuzluğun sebebinin toksin miktarının ölçüm seviyesinin altında kalmış olması, genlerin eksik veya kusurlu çalışması veya toksin üretimi için gerekli koşulların sağlanmamış olmasından dolayı olabileceği belirtilmiştir (Aydın ve ark., 2011). Bizim çalışmamızda uyumsuzluğun daha fazla gen bölgesinin yeterli bir şekilde çalışmamasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. 70 no'lu izolatta *see* geni tespit edilememişken, ELISA sonuçlarına göre SEE'nin varlığı belirlenmiştir. Bu sonuçla ilgili olarak izolata ait genin kullanılan primerler ile çoğaltılamamış olabileceği düşünülmüştür.

Geriye kalan 26 izolatta PZR yönteminde tespit edilen gen çeşidine ilaveten ELISA yöntemindeki analizde farklı bir veya iki toksine daha rastlanmıştır. Örneğin 3 no'lu izolatta *sec* geni tespit edilmişken toksin analizinde SEC ve SEE taşıdığı, 33 no'lu izolatta *seb* geni belirlendiği halde toksin analizinde SEB, SEC ve SEE varlığı saptanmıştır. Üretici firma RIDASCREEN SET A, B, C, D, E test kiti için Antikor/toksin arasında çapraz reaksiyonlar olabileceğini (A/E, E/A, B/C ve C/B) ve çapraz reaksiyonların %10-20 arasında görülebileceğini bildirilmektedir.

Bizim çalışmamızda bu tip sonuçların yüzdesi (%60.4) bildirilenden daha yüksek bulunmuştur. Bu konuda yapılan çalışmaların birinde de benzer sonuçlar elde edilmiştir (Aydın ve ark., 2011). Üretici firma bu tip hataların toksin miktarı yoğunluğundan kaynaklanabileceğini bu nedenle dilüsyon (1:10, 1:50, 1:100) yapılmak suretiyle total toksin miktarını saptayan kitleri ile ayrıca tekrar çalışılmasını önermektedir. Yüksek optik dansite okumasının elde edilmediği dilüsyonun tespitinden sonra, tekrar dilüsyon yapılması ile çapraz reaksiyonların azalarak, toksin tipinin belirlenebileceği bildirilmektedir. Bu işlem ek maliyet, işgücü ve zaman gerektirmektedir.

Çalışmamızda yer alan enterotoksin analizinde kullanmış olduğumuz PZR ve ELISA yöntemlerinden PZR'nin daha az maliyetli, daha hızlı ve daha güvenilir olduğunu düşünülmüştür.

4.2.9. *S. aureus* izolatlarının *spa* tiplerinin belirlenmesi

Gıda işletmelerinde ve hastane mutfaklarında görevli gıda çalışanlarından elde edilen 125 *S.aureus* izolatın aralarındaki klonal ilişkinin belirlenmesi amacıyla *spa* tiplendirme yöntemi kullanılmıştır. Lateks aglütinasyon testi ile *S.aureus* olduğu doğrulanan, hastane mutfak çalışanlarından elde edilmiş olan 117 no'lu izolatın kullanılan primerlerle (1113F-

5'TAA AGA CGA TCC TTC GGT GAG C-3' ve 1514R- 5'CAG CAG TAG TGC CGT TTG CTT-3') *spa* gen bölgesi çoğaltılamamıştır. 123 izolatın *spa* tiplendirme yöntemine göre DNAGear programı vasıtasıyla tiplendirilme işlemi gerçekleştirilmiştir.

101 nolu izolatın ise DNA dizi analizi sonucunda belirlenen 04-44-33-31-12-16-12-33-34 nolu kısa tekrar bölgelerinin henüz tanımlanmamış olduğu tespit edilmiştir. Ridom StaphType programında doğrulaması yapılan örneğin yeni *spa* tipi olduğu belirlenmiştir. 15.05.2015 tarihinde Ridom SpaServer veritabanına t14963 olarak eklenmesi gerçekleştirilmiştir.

Spa tiplendirme yöntemine göre 61 farklı *spa* tip elde edilmiştir. 124 izolattan 11'inin (%8.9) t084, 9'unun (%7.3) t008, 8'inin (%6.5) t005, 6'sının (%4.8) t012, 5'inin (%4.0) t091, 5'inin (%4.0) t223, 6'sının (%4.8) t267, 4'ünün (%3.2) t010, 4'ünün (%3.2) t571 olduğu olduğu saptanmıştır. Ayrıca t189, t310, t346, t774 tiplerinden 3'er izolat (%2.4), t065, t158, t160, t304, t537 ve t3266 tiplerinden 2'şer izolat (%1.6) olduğu belirlenmiştir. Kalan 42 izolatın her biri için ayrı bir *spa* tipi belirlenmiştir.

İzolatların *spa* tiplerinin işyerlerine göre dağılımı Çizelge 4.23'de gösterilmiştir (Gıda işletmeleri ve hastane).

Çizelge 4.23. Spa tiplerinin işyeri tiplerine göre dağılımı

<i>spa tip</i>	İşyeri tipi		Toplam n(%)
	Gıda işletmeleri n(%)	Hastane n(%)	
t002	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t004	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t005	7(7.5)	1(3.2)	8(6.5)
t008	8(8.6)	1(3.2)	9(7.3)
t010	0(0.0)	4(12.9)	4(3.2)
t012	5(5.4)	1(3.2)	6(4.8)
t018	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t026	0(0.0)	1(3.2)	1(0.8)
t065	2(2.2)	0(0.0)	2(1.6)
t084	9(9.7)	2(6.4)	11(8.9)
t091	5(5.4)	0(0.0)	5(4.0)
t136	0(0.0)	1(3.2)	1(0.8)
t153	0(0.0)	1(3.2)	1(0.8)
t156	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t158	2(2.2)	0(0.0)	2(1.6)
t160	2(2.2)	0(0.0)	2(1.6)
t186	0(0.0)	1(3.2)	1(0.8)
t189	3(3.2)	0(0.0)	3(2.4)
t197	0(0.0)	1(3.2)	1(0.8)
t223	1(1.1)	4(12.9)	5(4.0)
t267	5(4.3)	1(3.2)	6(4.8)
t284	0(0.0)	1(3.2)	1(0.8)
t295	0(0.0)	1(3.2)	1(0.8)
t304	2(2.2)	0(0.0)	2(1.6)
t310	3(3.2)	0(0.0)	3(2.4)
t335	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t338	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t346	3(3.2)	0(0.0)	3(2.4)
t359	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t537	2(2.2)	0(0.0)	2(1.6)

Çizelge 4.23'ün devamı Spa tiplerinin işyeri tiplerine göre dağılımı

spa tip	İşyeri tipi		Toplam n(%)
	Gıda işletmeleri n(%)	Hastane n(%)	
t548	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t569	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t571	0(0.0)	4(12.9)	4(3.2)
t630	0(0.0)	1(3.2)	1(0.8)
t660	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t693	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t723	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t774	3(3.2)	0(0.0)	3(2.4)
t786	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t843	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t865	0(0.0)	1(3.2)	1(0.8)
t1236	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t1313	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t1326	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t1439	0(0.0)	1(3.2)	1(0.8)
t1523	0(0.0)	1(3.2)	1(0.8)
t2243	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t2278	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t2816	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t3266	2(2.2)	0(0.0)	2(1.6)
t3906	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t4188	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t5480	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t6367	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t6811	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t9756	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t11108	0(0.0)	1(3.2)	1(0.8)
t10405	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t10907	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t12730	1(1.1)	0(0.0)	1(0.8)
t14963	0(0.0)	1(3.2)	1(0.8)
Toplam	93(100)	31(100)	124(100)

4.2.9.1. Spa tiplerinin gıda işletmelerine göre dağılımı

Spa tiplendirilmesi yapılan 93 izolat gıda işletmelerindeki gıda çalışanlarından elde edilmiştir. Çalışmaya 17 gıda işletmesi (2 lokanta, 2 yemek fabrikası ve 13 restoran) katılmıştır. *Spa* tiplerine göre hem aynı işyerinden elde edilen suşlar arasında hem de örneklem grubu içerisindeki tüm suşlar arasında klonal benzerlik araştırılmıştır.

Örnek alınan bazı gıda işletmelerinde birden fazla aynı *spa* tipine rastlanmıştır. Gıda işletmelerindeki 3 no'lu işyerinden izole edilen 3 suştan 2'sinin aynı *spa* tipine (t091), 5 no'lu işyerinden izole edilen 6 suştan 3'ünün aynı *spa* tipine (t084) sahip olduğu görülmüştür. 6 no'lu işyerinden izole 9 suştan 3'ünün t012, 2'sinin t005, diğer 2'sinin t160 olduğu belirlenmiştir. 7 no'lu işyerinden elde edilen 11 suştan 3'ünün t774, 2'sinin t189, 8 no'lu işyerinden elde edilen 9 suştan 2'sinin t005 olduğu tespit edilmiştir. 9 no'lu işyerinden elde edilen 9 suştan 2'sinin t084, 10 no'lu işyerinden elde edilen 8 suştan 4'ünün t008 olduğu görülmüştür. 13 no'lu işyerinden elde edilen 5 suştan 2'sinin t267, 14 no'lu işyerinden elde edilen 7 suştan 2'sinin t267, 17 no'lu işyerinden elde edilen 7 suştan 3'ünün ise t346 olduğu tespit edilmiştir. Geri kalan suşların farklı *spa* tipinde oldukları ve işyerlerine dağınık bir şekilde yayıldıkları belirlenmiştir. Aynı *spa* tipine sahip olanların işletme içerisinde dolaşımdaki kökenler olabileceği düşünülmüştür.

Aynı işyerinde birden fazla sayıda aynı *spa* tipine rastlanması, bu izolatlar arasında klonal ilişki olduğunu, aynı işyerindeki kişiler arasındaki aktarımdan kaynaklanmış olabileceğini düşündürmüştür. Bu durumda kişisel hijyen ve işyeri temizliğinin daha fazla önemsenmesi gerektiği, gıda zehirlenmelerinde ve direnç kazanmış suşların toplumda yayılmasında, halk sağlığı açısından gıda çalışanlarının önemli olduğu düşünülmüştür.

Gıda işletmelerinden elde edilen ve metisilin direnci tespit edilen 13 ve 38 no'lu izolatların *spa* tipleri sırasıyla t786 ve t223 olarak tespit edilmiştir. Tespit edilen *spa* tiplerinin örnek alınan 17 farklı gıda işletmeleri (lokanta, restoran, yemek fabrikaları) arasındaki dağılımı Çizelge 4.24'de verilmiştir.

Çizelge 4.24. Spa tiplerinin gıda işletmeleri (lokanta, restoran, yemek fabrikaları) arasındaki dağılımı

spa tip	Gıda işletmeleri																	Toplam (n)
	Lokanta, Restoran, Yemek fabrikaları																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
	(n)	(n)	(n)	(n)	(n)	(n)	(n)	(n)	(n)	(n)	(n)	(n)	(n)	(n)	(n)	(n)	(n)	
t002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
t004	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
t005	-	-	-	-	-	2	-	-	1	1	-	1	-	-	-	1	1	7
t008	-	-	-	-	-	1	-	2	-	4	-	-	-	1	-	-	-	8
t010	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t012	-	-	-	1	-	3	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	5
t018	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
t026	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t065	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	2
t084	-	-	-	-	3	-	-	1	2	-	-	1	1	-	-	-	1	9
t091	-	1	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	5
t136	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t153	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t156	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
t158	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	2
t160	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
t186	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t189	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3
t197	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t223	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
t267	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	2	2	-	-	-	5
t284	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t295	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t304	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	2
t310	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	3
t335	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
t338	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
t346	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3
t359	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
t537	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2

1,2:Lokantalar, 8,9:Yemek fab., 3, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16,17: Restoranlar

Çizelge 4.24'ün devamı Spa tiplerinin gıda işletmeleri (lokanta, restoran, yemek fabrikaları) arasındaki dağılımı

<i>spa</i> tip	Gıda işletmeleri (Lokanta, Restoran, Yemek fabrikaları)																	Toplam (n)
	1 (n)	2 (n)	3 (n)	4 (n)	5 (n)	6 (n)	7 (n)	8 (n)	9 (n)	10 (n)	11 (n)	12 (n)	13 (n)	14 (n)	15 (n)	16 (n)	17 (n)	
t548	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
t569	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
t571	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t630	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t660	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
t693	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
t723	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
t774	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
t786	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
t843	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
t865	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t1236	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
t1313	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
t1326	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
t1439	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t1523	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t2243	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
t2278	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
t2816	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
t3266	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
t3906	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
t4188	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
t5480	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
t6367	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
t6811	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
t9756	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
t10405	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
t10907	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
t12730	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Toplam	1	3	3	2	6	9	11	9	9	8	2	8	5	7	2	1	7	93

1,2:Lokantalar, 8,9:Yemek fab., 3, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16,17: Restoranlar

S.aureus tiplendirilmesi ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında hem PFGE hem MLST hemde *spa* tiplendirmesinin yapıldığı görülmektedir. Gıda zehirlenmesi salgınlarında kaynağın tespit edilmesi amacıyla *spa* tiplendirme yönteminin kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Almanya’da 2013 yılında bir vaftiz törenine katılan 31 kişinin yedikleri dondurmadan etkilenerek stafilokokal gıda zehirlenmesi meydana geldiği bildirilmiştir. Üretimi yeni yapılmış olan 4 çeşit dondurma örneğinde ve 4 kişiden alınan örneklerde yüksek miktarda SE içeren kogülaz pozitif suşlar tespit edilmiştir. Kişilerden ve dondurmalarından izole edilen suşların aynı *spa* tip (t127) olduğu ve SEA taşıdığı tespit edilmiştir (Fetsch ve ark., 2014).

İspanya’da gıdalardan ve gıda çalışanlarından elde edilen ve salgınla ilgisi olmayan 64 *S.aureus* izolatının *spa* tiplendirme ve MLST yöntemine göre genotipik sınıflandırması yapılmıştır. 31 *spa* tipi belirlenmiş, tüketiciler için gıda zincirindeki dirençli ve hastalık yapıcı faktörleri taşıyan *S.aureus* suşlarının varlığının potansiyel bir sağlık tehlikesi olabileceği düşünülmüştür (Argudín ve ark., 2012). Benzer bir çalışmada, sağlıklı burun taşıyıcılarından (50), klinik enfeksiyon etkenlerinden (50) ve stafilokokal gıda zehirlenmesi ile ilgili (20) elde edilen *S. aureus* izolatları *spa* tiplendirme yöntemi ile karşılaştırılmıştır. 3 kaynak içerisinde birkaç *spa* tipinin yaygın olduğu gösterilmiştir (t015, t018, t056, t084). *S. aureus* ile kolonize veya enfekte olan gıda hazırlayıcılarının stafilokokal gıda zehirlenmesinin kaynağı olduğu düşünülmüştür (Wattinger ve ark., 2012).

İtalya’da meydana gelen stafilokokal gıda zehirlenmesinde etkilenen kişilerden alınan dışkı ve kusmuk, gıda artıkları ve gıda hazırlayıcılarından alınan burun mukoza örneklerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarının genetik profilini ortaya koymak üzere genotipik testler uygulanmıştır. PFGE yöntemine göre izolatların genetik profilinin aynı pulsotip içinde yer aldığı, *spa* tiplendirme yöntemine göre biri gıda işleyicisine ait olmak üzere 14 izolatın veri tabanına göre t701 olduğu tespit edilmiştir. Salgının kaynağının büyük bir olasılıkla gıda işleyicilerinin olduğu düşünülmüştür (Gallina ve ark., 2013). Honkong’da gıda çalışanlarından elde edilen 99 *S.aureus* izolatının *spa* tiplendirmesine göre %17’sinin t189, %8’inin t127, %8’inin t081 olduğu tespit edilmiştir (Ho ve ark., 2014).

Amerika’nın Lancaster şehri Amish bölgesinde gerçekleştirilen bir çalışmada 398 kişinin burun deliklerinden örnek alınmıştır. 159 kişinin (%40) *S.aureus* ile kolonize olduğu saptanmıştır. Bu örneklerde 84 *spa* tipi belirlenmiştir. En yaygın olan *spa* tipinin t012 (%13) ve t021 (%7) olduğu belirlenmiştir (Roghmann ve ark., 2014). Bizim çalışmamızda da 6 örneğin (%4.8) *spa* tip t012 olduğu tespit edilmiştir.

4.2.9.2. *Spa* tiplerinin hastanelere göre dağılımı

Spa tiplendirilmesi yapılan 31 izolat hastanelerdeki mutfak görevlilerinden elde edilmiştir. Çalışmaya 9 farklı hastane (2 Özel, 1 Araştırma, 1 Askeri, 5 Devlet hastanesi) katılmıştır. Hastanelerden elde edilen suşların kendi arasında ve hastane ve toplum kaynaklı suşlar arasında *spa* tiplendirme yöntemine göre klonal ilişki araştırılmıştır.

6 no'lu hastaneden elde edilen 5 suştan 4'ünün t571, 8 nolu hastaneden elde edilen 3 suştan tümünün t223 olduğu belirlenmiştir. 9 no'lu hastaneden elde edilen 4 suştan tümünün t010 olduğu tespit edilmiştir. Aynı *spa* tipine sahip olanlar arasında klonal ilişki olduğu düşünülmüştür.

İlçe devlet hastanelerinin birinde görevli mutfak çalışanlarının birinden elde edilen 101 nolu *S.aureus* izolatında yeni *spa* tip belirlenmiştir (t14963).

116 no'lu metisilin direnci tespit edilen izolatın ise t223 olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda tespit edilen MRSA suşlarından 38 no'lu toplum kaynaklı suş ile 116 no'lu hastane kaynaklı suşun aynı *spa* tipine (t223) sahip oldukları görülmüştür.

İzolatların gıda işletmeleri ve hastanelerdeki dağılımı incelendiğinde şehrimizde pek çok farklı *spa* tipinin dolaşımında olduğu görülmüştür. Herhangi bir *spa* tipinin kümelenmesi tespit edilmemiştir. *Spa* tiplerinin örnek alınan 9 farklı hastane arasındaki dağılımı Çizelge 4.25'de verilmiştir.

Çizelge 4.25. Spa tiplerinin hastaneler arasındaki dağılımı

<i>spa</i> tip	Hastaneler									Toplam (n)
	H1 (n)	H2 (n)	H3 (n)	H4 (n)	H5 (n)	H6 (n)	H7 (n)	H8 (n)	H9 (n)	
t002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t005	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
t008	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
t010	-	-	-	-	-	-	-	-	4	4
t012	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
t018	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t026	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
t065	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t084	-	-	-	1	1	-	-	-	-	2
t091	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t136	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
t153	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
t156	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t158	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t160	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t186	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
t189	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t197	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
t223	-	-	-	-	-	-	1	3	-	4
t267	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
t284	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
t295	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
t304	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t310	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t335	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t338	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t346	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t359	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t537	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t548	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

H1- H9 Hasteler

Çizelge 4.25'nin devamı *Spa* tiplerinin hastaneler arasındaki dağılımı

<i>spa</i> tip	Hastaneler									Toplam (n)
	H1 (n)	H2 (n)	H3 (n)	H4 (n)	H5 (n)	H6 (n)	H7 (n)	H8 (n)	H9 (n)	
t569	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t571	-	-	-	-	-	4	-	-	-	4
t630	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
t660	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t693	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t723	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t774	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t786	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t843	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t865	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
t1236	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t1313	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t1326	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t1439	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
t1523	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
t2243	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t2278	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t2816	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t3266	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t3906	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t4188	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t5480	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t6367	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t6811	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t9756	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t10405	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t10907	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t11108	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
t12730	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t14963	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
Toplam	1	2	1	7	4	7	2	3	4	31

H1- H9 Hasteler

Çin’de 2005-2006 yılları arasında 14 şehirdeki 18 eğitim hastanesinden toplanan toplam 702 MRSA izolatının farklı moleküler yöntemlerle karakterizasyonu araştırılmıştır. *Spa* tiplendirme yöntemine göre 18 farklı *spa* tipi elde edilmiştir. 702 MRSA izolatının 161’i t030, 84’ü t037, 40’ı t002 olarak belirlenmiştir. MRSA’larda en yaygın olarak görülen *spa* tipinin t030 olduğu tespit edilmiştir (Yudong ve ark., 2009). Bizim çalışmamızda MRSA izolatlarında tespit edilen *spa* tipleri ile benzerlik göstermediği görülmüştür.

İran’da 2010-2011 yıllarında farklı hastanelerden toplanan 100 MRSA izolatının *spa* tiplendirme metodu ile genotiplendirilmesi gerçekleştirilmiştir. Bu izolatların %30’u acil servise ayaktan gelen hastalardan (TK-MRSA), % 62’si ise farklı klinikteki hastalardan elde edilmiştir (HK-MRSA). İzolatlar arasında en yaygın olarak % 30’unun t701, %15’inin ise bu çalışmada yeni *spa* tipi olarak belirlenen t12311 olduğu belirlenmiştir (Mohammadi ve ark., 2014). Bu çalışmada tespit edilen *spa* tiplerinin bizim çalışmamızda tespit ettiklerimize benzerlik göstermediği görülmüştür.

Çin’de 2011-2012 yılları arasında yapılan başka bir çalışmada, farklı coğrafik bölgelerdeki 7 farklı hastanenin klinik laboratuvarlarından elde edilen 322 *S. aureus* izolatı *spa* tiplendirme yöntemine göre karakterize edilmiştir. 171’i MSSA, 151’i MRSA olan izolatların 4’ü tiplendirilememiştir. 318 izolatta 81 *spa* tip belirlenmiştir. MSSA (168) suşlarında 74 *spa* tip, MRSA (150) suşlarında 16 *spa* tip belirlenmiştir. MRSA izolatlarının 121’inin (%80.1) t030 olduğu belirlenmiştir. Çoklu ilaç direnci gösteren MRSA’lardan *spa* tip t030’un giderek yaygınlaşmasının Çin’de önemli bir halk sağlığı sorunu haline geldiği bildirilmiştir (Yong ve ark., 2014). MSSA suşlarında tespit edilen t189 çalışmamızda da 3 MSSA örneğinde tespit edilmiştir.

Avusturya’da 2003-2005 yıllarında 4 farklı bölgedeki 17 farklı hastanenin klinik örneklerinden elde edilen 382 MRSA izolatı arasında *spa* tipi belirlenmiştir. En yaygın *spa* tipleri t001 (28.8), t190 (%27), t008 (%14.1) ve t041 (%11.3) olarak saptanmıştır. Yaygın görülen *spa* tiplerinin farklı bölgelerde bulunduğu belirlenmiştir (Ruppitsch ve ark., 2006). Bizim çalışmamızda da 9 MSSA izolatında *Spa* tip t008 tespit edilmiştir.

Hastane ortamında MRSA ile kolonize olan bireylerle yakın temasta bulunan kişilere MRSA aktarıldığı ve bunun fark edilmemesi sonucunda MRSA toplumda yayılabileceği bildirilmiştir (Ulusoy, 2006). Çalışmamızda TK-MRSA suşu ile hastane çalışanından elde edilmiş olan MRSA suşunun aynı moleküler tipte (t223) olduğu tespit edilmiştir. MRSA’lar gıda çalışanları aracılığıyla toplumda yayılabilirler. Suşun yayılım yönü

hastaneden topluma olabileceği gibi toplumdan hastaneye de olabilir. Ayrıca bu iki kişi arasında herhangi bir ilişki olmayıp farklı kaynaklardan kolonize olmuş olabilirler.

Asya ülkelerinde hastane ve toplum arasında MRSA'ların yayılımının incelendiği çok uluslu bir çalışmada ülkeler arasındaki epidemiyolojik değişiklikler incelenmiştir. TK-MRSA ve HK-MRSA'ların *spa* ve diğer tiplendirme metodu ile genotiplendirilmesi gerçekleştirilmiştir. 2004-2006 yılları arasında gerçekleştirilen çalışmaya 8 ülkeden 17 hastane katılmıştır. Kore merkez laboratuvarında gerçekleştirilen çalışmada 4117 izolat incelenmeye alınmıştır. Bunların %25.5'i TK-MRSA, %67.4'ü HK-MRSA suşlarıdır. Asya ülkeleri arasında TK-MRSA izolatları arasında baskın genotipin t317, t019 ve t324 olduğu görülmüş aynı *spa* tiplerine HK-MRSA'larda da rastlanılmıştır. Bu çalışmanın verilerine göre MRSA klonları toplum ve hastaneler arasında yayıldığı gibi ülkeler arasında da yayılım göstermektedir (Song ve ark., 2011).

Yapılan literatür taramasında genotipik tiplendirme metodu olarak insan kaynaklı izolatların *spa* tiplendirmesi ile ilgili Türkiye'den sınırlı sayıda veri olduğu görülmüştür. Türkiye'den *spa* tipi bildiren ender çalışmaların birinde, MRSA'lar arasında *spa* tipi bildiren çok merkezli bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada, farklı coğrafik bölgesindeki 8 ayrı üniversite hastanesindeki yatan hastalardan elde edilen 56 MRSA suşu arasında PFGE ve *spa* yöntemi ile genotipik ilişki araştırılmış, 23 PFGE tipi, 4 *spa* tipi belirlenmiştir (t030, t459, t1459, t189). *spa* tip t030 %89 oranında baskın bulunmuştur (Alp ve ark. 2009).

Ülkemizde yapılan başka bir çalışmada, orta karadeniz bölgesinde hastaneye yatan hastalardan elde edilen 48 MRSA, 7 MSSA izolatının *spa* tipi belirlenmiştir. MRSA izolatlarında iki izolat dışında (t459, t632) hepsinin *spa* tipinin t030 olduğu belirlenmiştir. MSSA izolatlarının ise her birinin farklı *spa* tip olduğu tespit edilmiştir (Kırca Yılmaz ve ark., 2014). Belirlenen *spa* tiplerden 4'ü (t660, t153, t267, t084) bizim çalışmamızda da tespit edilmiştir. Ülkemizde yapılan bir başka çalışmada ise, süt, sığır ve sektör çalışanlarından elde edilen 12 MRSA izolatına moleküler tiplendirme yapılmıştır. En yaygın *spa* tip t030 olarak tespit edilmiş, bizim MRSA izolatlarında belirlediğimiz *spa* tiplerine rastlanmamıştır (Erdem ve Türkyılmaz, 2010).

Ülkemizde Edirne'nin Keşan ilçesinde 1209 farklı gıda örneğinden elde edilen Panton valentin lokosidin (PVL) geni taşıyan 3 MSSA izolatının moleküler tiplendirilmesi yapılmıştır. Örneklerin hepsinin *spa* tipi t355 olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da bir örnekte aynı *spa* tipine rastlanılmıştır (Sudagidan ve Aydın, 2010).

Gıda kaynaklı *S.aureus* izolatı üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise Türkiye'nin Aydın bölgesinde mastitli sığır sütlerinden elde edilen 16 MRSA suşunun SCCmec, *spa*, MLST tipleri araştırılmış, 3 örnekte yapılabilen *spa* tiplemesine göre t030 (2) ve t190(1) *spa* tipleri belirlenmiştir (Türkyılmaz ve ark., 2010). Bizim çalışmamızda aynı *spa* tipleri belirlenmemiştir.

Benzer bir çalışmada 2006-2008 yılları arasında 12 farklı coğrafik bölgedeki merkezlerden edinilen MRSA suşlarında gerçekleştirilmiştir. 397 suştan 338'inin (%85.1) *spa* tipi t030 olarak saptanmış; bunu t005 (%2.5) ve t632 (%2) takip etmiştir. 2011 yılında izole edilen 91 suşun ise 64'ü (%70.3) t030, 4'ü (%4.4) t005, 2'si (%2.2) t015 ve 2 (%2.2)'si t1094 olarak bulunmuştur. *Spa* tipi t030'un merkezlerde 2006-2008 suşları arasındaki prevalansı %59-100 arasında olduğu ve bu çalışmanın şimdiye kadar yapılmış en geniş epidemiyolojik çalışma olduğu bildirilmiştir (Bozdoğan ve ark., 2013).

S. aureus taşıyıcısı hastane mutfak/yemek görevlileri diğer hastane görevlileri gibi hastane içinde zaman geçirirler, hasta ve refakatçilerle temas halinde olabilirler. Hastanede direnç kazanan bakteriyi toplumda yaymaları, hastane ortamını taşıyıcılıklarından dolayı kontamine etmeleri açısından bu kişilerin önemi gözardı edilmemelidir.

Bir sağlık kuruluşu içinden elde edilen izolatların aynı *spa* tipi olarak belirlenmiş olmasının önemli olduğu düşünülmüştür. Aynı klonal yapıda olan bu izolatlar ya hastanede lokalize olan bir suşun gıda çalışanlarına bulaşması veya aynı çalışma ortamını paylaşan bu kişilerin birbirlerini bulaştırması şeklinde açıklanabilir. Söz konusu hastanelerdeki diğer sağlık personelinden elde edilen izolatların *spa* tiplene bulguları bu konuda açıklık getirecek veriler sağlayacaktır.

BÖLÜM 5

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Araştırma kapsamında hastane ve gıda işletmelerinde görevli 300 gıda çalışanına sosyodemografik, hijyen ve gıda güvenliği konusunda 14 soruluk çoktan seçmeli bir anket uygulanmıştır. Katılımcıların %35.4'ünün ilkokul %14.6 sınıfın yüksekokul mezunu olduğu %46.6'sının servis elemanı olarak görev yaptığı belirlenmiştir. Bu kişilerin %65.6'sı hijyen bilgisinin iyi olduğunu, %93'ü düzenli olarak sık sık ellerini yıkadıklarını, %86.6'sı her gün banyo yaptıklarını ifade etmişlerdir. Çalışanların %40.1'i sürekli eldiven kullandığını, %40.7'si çalışırken maske kullanmadığını belirtmişlerdir. Anket uygulanan kişilerin %46.7'si gıda güvenliği konusunda eğitim aldığını, %52.6'sı ise almadığını ifade etmişlerdir.

Çalışma kapsamına alınan gıda çalışanlarının 125'inde (%41.7) *S. aureus* taşıyıcılığı (burun ve/veya el/ellerde), 90'unda (%30.0) *S. aureus* burun taşıyıcılığı tespit edilmiştir. *S. aureus* taşıyıcılığı olan kişilerin 93'ü (%40.8) gıda işletmelerinde, 32'si (%44.4) hastane mutfaklarında görevlidir. *S. aureus* taşıyıcılığı bakımından gıda işletmeleri ve hastane mutfak çalışanları arasında fark görülmemiştir.

Burun taşıyıcısı olan kişilerin %54.4'ünün aynı zamanda el taşıyıcısı oldukları belirlenmiştir. *S. aureus* el taşıyıcılığının burun taşıyıcısı olan kişilerde daha yüksek oranda olduğu saptanmıştır. Eğitim durumu yüksekokul olan gıda çalışanlarının %74.4'ünde taşıyıcılığa rastlanmamış, eğitim seviyesi yükseldikçe taşıyıcılığın azaldığı tespit edilmiştir.

Eldiven kullanmayan kişilerin %72.2'sinde taşıyıcılığa rastlanmamış, eldiven kullanmayanlarda taşıyıcılık oranı eldiven kullananlara göre daha düşük saptanmıştır. Maske kullanmanın taşıyıcılık üzerinde etkisi olmadığı görülmüştür. Ancak gıda güvenliği eğitiminin *S. aureus* el taşıyıcılığını azaltması yönünde etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

Hastane ve gıda işletmelerinde görevli 300 gıda çalışanının MRSA taşıyıcılığı %1.0 olarak olarak belirlenmiştir.

Gıdaların işlenmesi, hazırlanması ve servisinde görev yapan kişilerin aynı zamanda gıdaların kontaminasyonunda rol oynadıkları bilinmektedir. Bu kişilerin tutum ve davranışlarından kaynaklanan gıda kaynaklı hastalıkların önlenmesinde eğitim büyük önem göstermektedir. Uzman kişilerce verilecek olan gıda güvenliği ile ilgili etkili, belli aralıklarla tekrarlanan bir eğitim bu kişilerin mikrobiyolojik risk teşkil edebilecek tutum ve

davranışlarını azaltılabilir.

Ülkemizdeki yemek hizmeti veren küçük ve orta ölçekli işletmelerde sıklıkla personel değişimi yapıldığı, çalışma saatleri dışında eğitime yönelik zaman yaratılmadığı, çalışma alışkanlıklarına çok fazla müdahale edilmediği düşünülmektedir. “Portör muayenesi” uygulamasının kaldırılmış olmasından dolayı işyeri sahipleri yasal sorumluluk almışlardır. Gıda güvenliği, işyeri ve personel hijyeni konusunda öncelikle işyeri sahiplerinin farkındalığını arttırmak daha etkili sonuçların görülmesini sağlayabilir. Çalışanlara el taşıyıcılığının azaltılmasında veya taşıyıcılarının buldukları ortamın (alet, ekipman vb.) kontaminasyonunu önlemede el yıkama alışkanlığının önemi vurgulanmalıdır.

S. aureus taşıyıcısı olan 125 kişiden elde edilen 215 *S. aureus* izolatının MRSA oranı %1.39 bulunmuştur. MRSA izolatlarının araştırmaya alınan diğer antibiyotiklere direncine rastlanmamıştır.

Gıda çalışanlarından elde edilen 125 *S. aureus* izolatın 42’sinin (%33.6) enterotoksin genlerinden en az birini taşıdıkları saptanmıştır. 125 örneğin 20’sinde (%16.0) *sea*, 8’inde (%6.4) *seb*, 12’sinde (%9.6) *sec*, 8’inde (%6.4) *sed* genine rastlanmıştır. 6 izolatın (%4.8) *sea* ve *sed* genlerini birlikte taşıdığı tespit edilmiştir. Enterotoksin genlerinin dağılımında en fazla *sea* tespit edilmiştir. Bu izolatların 31’i (%33.3) gıda işletmeleri, 11’i (%34.4) hastane mutfak görevlilerinden elde edilmiştir. Toksin geni taşıyan izolatlar bakımından işyeri tipleri arasında (hastane-gıda işletmeleri) fark görülmemiştir.

Hastane ve gıda işletmelerinde görevli gıda çalışanlarında enterotoksijenik *S. aureus* taşıyıcılık oranının %14 olduğu tespit edilmiştir. Bu oran hastanede çalışanlarda %13.6, gıda işletmelerindeki çalışanlarda %15.3 olarak belirlenmiştir.

Çalışmamızda 3’ü MRSA olan 124 *S. aureus* izolatın *spa* tipi belirlenmiştir. MRSA izolatlarından 1’i (t786) restoran, 1’i (t223) yemek fabrikasındaki gıda çalışanlarından elde edilmişken, 1’i de (t223) hastane mutfak çalışanlarından izole edilmiştir. Ülkemizde MRSA’larda belirlenen aynı *spa* tipine rastlanmamıştır. Toplam 5 izolatta tespit edilen t223 *spa* tipinin 2’sinin MRSA, 3’ünün MSSA olduğu tespit edilmiştir. Başka izolatlarda t786 *spa* tipine rastlanmamıştır.

MSSA olarak tespit edilen 121 izolatta 60 *spa* tipi belirlenmiştir. 121 izolattan 11’inin (%9.0) t084 *spa* tipi olarak en fazla sayıda görüldüğü tespit edilmiştir. MSSA izolatlarından 9’unun (%7.4) t008, 8’inin (%6.6) t005, 6’sının (%4.9) t012, 5’inin (%4.1)

t091, 6'sının (%4,9) t267, 4'ünün (%3,3) t010 ve 3'er tane (%2,5) t223, t189, t310, t346, t571, t774 *spa* tipleri saptanmıştır. Ayrıca 2'er tane t065, t158, t160, t304, t367 ve t3266 *spa* tipi belirlenmiştir. Kalan 42 izolatın her biri farklı *spa* tipinde olduğu görülmüştür.

DNA dizi analizi sonucuna göre bir izolatta yeni *spa* tip belirlenmiştir. Ridom SpaServer veritabanında *spa* tip t14963 olarak listeye eklenmiştir. Bir izolatın ise kullanılan primerler ile *spa* gen bölgesi çoğaltılamamıştır.

Küresel anlamda *spa* tekrarlarını ve tiplerini aynı terminolojik kodu kullanarak tanımlamak Ridom StaphType yazılım programı ile sağlanabilmektedir. Ancak *spa* tiplerinin belirlenmesinde DNAGear açık erişim programı da kullanılabilir.

Araştırmamızda 60 farklı *spa* tipinde MSSA izolatının dolaşımında olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen *spa* tiplerinin olası bir lokal salgında muhtemel kaynağın belirlenmesinde katkısının olabileceğini düşünülmüştür. Ayrıca ülkemizde metisiline dirençli olmayan pek çok *spa* tipinin dolaşımında olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda Çanakkale bölgesinden elde edilen MRSA ve MSSA izolatlarında *spa* tiplerinin belirlenmesiyle ulusal ve küresel epidemiyolojiye katkı sunulmuştur.

Araştırmamızla ulaşılan başka bir sonuç da, bazı restoran veya yemek fabrikalarında birden fazla aynı *spa* tipine rastlanmış olmasıdır. Örneğin; 3 no'lu işyerinden elde edilen 3 izolattan 2'si t091, 5 no'lu işyerinden elde edilen 6 izolattan 3'ü t084, olarak tespit edilmiştir.

Halk sağlığı açısından gıda çalışanlarının kişisel hijyen ve işyeri temizliği toksijenik ve direnç kazanmış suşların toplumda yayılmasını önleyebilir.

Araştırmaya katılan hastanelerden 3'ünde aynı *spa* tiplerine rastlandığı görülmüştür. 6 no'lu hastaneden elde edilen 5 izolatın 3'ü t569, 8 no'lu hastaneden elde edilen 3 izolatın hepsinin t223 olduğu, bunlardan birinin MRSA olduğu tespit edilmiştir. 9 nolu hastaneden 4 izolat elde edilmiş ve hepsinin t010 olduğu belirlenmiştir.

S. aureus taşıyıcısı hastanedeki mutfak ve yemek servis görevlileri hastanede direnç kazanan bakteriyi toplumda yaymaları, hastane ortamını taşıyıcılıklarından dolayı kontamine etmeleri açısından son derece önem göstermektedir.

Aynı hastanelerde çalışan kişilerden elde edilen izolatların aynı *spa* tip olarak belirlenmesi işyerindeki yayılım olasılığını göstermesi açısından önemli bulunmuştur. Söz konusu hastanelerde çalışan diğer sağlık personelinden hatta hasta odalarından elde edilen

izolatların *spa* tipleme bulgularına ulaşıldığında yayılım konusunda önemli veriler elde edilebilir. Bu kapsamda yapılacak çalışmalarda hastane çalışanlarından oluşan örneklem grubunun artırılması hatta bölgesel ve ulusal anlamda genişletilmesi alınabilecek önlemlere fayda sağlayabilecektir.

Gıda çalışanlarından elde edilen örnekler üzerinde yapılan moleküler çalışmalar stafilokokal gıda zehirlenmelerinde gıda çalışanlarının rolünü ortaya koyabilecektir. Stafilokoklara bağlı gıda zehirlenmelerinde, enterotoksijenik suşların saptanması için moleküler yöntemler daha güvenilir olarak kullanılabilir.

Çalışmamızda görüldüğü gibi ülkemizde MSSA türlerinde oldukça heterojen bir *spa* tipi dağılımı olduğu düşünülebilir. Hızlı, ucuz ve değerlendirilmesi standardize bir yöntem olduğu için *spa* tiplemenin epidemiyolojik araştırmalarda veri sağlaması için kullanışlı olduğu düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

- Acco M., Ferreira F.S., Henriques J.A.P., Tondo E.C., 2003. Identification of Multiple Strains of *Staphylococcus aureus* Colonizing Nasal Mucosa of Food Handlers. *Food Microbiology*, 20: 489–493.
- Ahmed O.B., Dablool A.S., 2015. Detection of Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* Isolated from Community and Hospital Food Handlers in Makkah, Saudi Arabia. *International Journal of Bioassays*, 4 (03): 3729-3731.
- Aires-De-Sousa M., Boye K., de Lencastre, H., Deplano A., Enright M. C., Etienne J., Friedrich A., Harmsen D., Holmes, A., Huijsdens X. W., Kearns A. M., Mellmann A., Meugnier H., Rasheed J. K., Spalburg E., Strommenger B., Struelens M. J., Tenover F. C., Thomas J., Vogel U., Westh H., Xu J., Witte W., 2006. High Interlaboratory Reproducibility of DNA Sequence-Based Typing of Bacteria in a Multicenter Study. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(2): 619–21.
- Al Bustan M.A., Udo E.E., Chugh T.D., 1996. Nasal Carriage of Enterotoxin-Producing *Staphylococcus aureus* Among Restaurant Workers in Kuwait City. *Epidemiology and Infection*, 116 (3): 319-322.
- Alp E., Klaassen C., Doganay M., Altoparlak Ü., Aydin K., Engin A., Kuzucu Ç., Ozakin C., Ozinel M.A., Turhan Ö., Voss A., 2009. MRSA Genotypes in Turkey: Persistence Over 10 Years of a Single Clone of ST239. *Journal of Infection*, 58: 433-438.
- Al-Tam F., Brunel A.S., Bouzinbi N., Corne P., Banuls A.L., Shahbazkia H.R., 2012. DNAGear-a Free Software for Spa Type Identification in *Staphylococcus aureus*. *BMC Research Notes*, 5: 642.
- Angelillo I.F., Viggiani N.M.A., Rizzo L., Bianco A., 2000. Food Handlers and Foodborne Diseases: Knowledge, Attitudes, and Reported Behavior in Italy. *Journal of Food Protection*, 3: 381-385.
- Applied Maths. (b.t). Erişim 23 Haziran 2015, <http://www.applied-maths.com/applications/staphylococcus-aureus-spa-typing>.
- Argudin M. A., Mendoza M. C., González-Hevia M.A., Bances M., Guerra B., Rodicio M. R., 2012. Genotypes, Exotoxin Gene Content, and Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus aureus* Strains Recovered From Foods and Food Handlers. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(8): 2930–35.

- Ayçiçek H., Aydoğan H., Küçükaraaslan A., Baysallar, M., Başustaoğlu A.C., 2004. Assessment of the Bacterial Contamination on Hands of Hospital Food Handlers. *Food Control*, 15(4): 253-259.
- Aydın A., Sudagidan M., Muratoglu K., 2011. Prevalence of Staphylococcal Enterotoxins, Toxin Genes and Genetic-Relatedness of Foodborne *Staphylococcus aureus* Strains Isolated in the Marmara Region of Turkey. *International Journal of Food Microbiology*, 148(2): 99–106.
- Bhatia A., Zahoor S., 2007. *Staphylococcus aureus* Enterotoxins: A Review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 1(2): 188-197.
- Balaban N., Rasooly A., 2000. Staphylococcal Enterotoxins. *International Journal of Food Microbiology*, 61: 1–10.
- Baş M., Ersun A.Ş., Kıvanç G., 2006. The Evaluation of Food Hygiene Knowledge, Attitudes, and Practices of Food Handlers in Food Businesses in Turkey. *Food Control*, 17(4): 317–322.
- Baum C., Haslinger-Löffler B., Westh H., Boye K., Peters G., Neumann C., Kahl B.C., 2009. Non-Spa-Typeable Clinical *Staphylococcus aureus* Strains are Naturally Occurring Protein a Mutants. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(11): 3624–3629.
- Bilgehan H., 2004. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı* (4.Basım). İzmir: Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, 777.
- Bozdoğan B., Yıldız O., Oryaşın E., Kırdar S., Gülcü B., Aktepe O., Arslan U., Bayramoğlu G., Coban A.Y., Coşkuner S.A., Güdücüoğlu H., Karabiber N., Öncü S., Tatman-Otkun M., Ozkütük N., Ozyurt M., Sener A.G., 2013. t030 is the Most Common spa Type Among Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Turkish Hospitals. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 47(4): 571-581.
- Bystron J., Molenda J., Bania J., Kosek-Paszkowska K., Czerw M., 2005. Occurrence of Enterotoxigenic Strains of *Staphylococcus aureus* in Raw Poultry Meat. *Polish Journal of Veterinary Science*, 8: 37-40.
- Campos A.K.C., Cardonha A.M.S., Pinheiro L.B.G., Ferreira N.R., Azevedo P.R.M., Stamford T.L.M., 2009. Assessment of Personal Hygiene and Practices of Food Handlers in Municipal Public Schools of Natal, Brazil. *Food Control*, 20(9): 807-810.
- Can H.Y., Çelik T.H., 2012. Detection of Enterotoxigenic and Antimicrobial Resistant *S. aureus* in Turkish Cheeses. *Food Control*, 24: 100-103.

- Çepoğlu H., Vatansever L., Bilge Oral N., 2009. Isolation of Staphylococci from Food Handlers and Investigation of Their Enterotoxigenicity and Susceptibility to Some Antibiotics. *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 16: 1-5.
- Cha J.O., Lee J.K., Jung Y.H., Yoo J.I., Park Y.K., Kim B.S., Lee Y.S., 2006. Molecular Analysis of *Staphylococcus aureus* Isolates Associated with Staphylococcal Food Poisoning in South Korea. *Journal of Applied Microbiology*, 101: 864–871.
- Choi S. M., Seung-Han K., Hee-Jung K., Dong-Gun L., Jung-Hyun C., Jin-Hong J., Jin-Han K., Wan-Shik S., Moon-Won K., 2003. Multiplex PCR for the Detection of Genes Encoding Aminoglycoside Modifying Enzymes and Methicillin Resistance among Staphylococcus Species. *Journal of Korean Medical Science*, 18: 631–36.
- CLSI., 2012. *Performance Standards for Antimicrobial disc Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement, Document M100-S22*. Pennsylvania, USA, Clinical Laboratory Standards Institute. 184.
- Dagne M., Moges T., Feleke M., Zinaye T., 2012. Survey of Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Intestinal Parasites among Food Handlers Working at Gondar University, Northwest Ethiopia. *BMC Public Health*, 12(1): 837-844.
- Demirel N.N., Karapınar, M., 2006. İzmir İlinde Satılan Bazı Peynirlerde *S. aureus* Enterotoksinlerinin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi. *Gıda*, 31 (1), 37-41.
- Derbentli Ş., 2005. Stafilokoklarda Antibiyotik Direnci. *Ankem Dergisi*, 19: 54-60.
- Dinges M.M., Orwin P.M., Schlievert P.M., 2000. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(1): 16-34.
- DNAGear. (b.t). Erişim: 10 Haziran 2015. <http://w3.ualg.pt/~hshah/DNAGear/>
- El-Shenawy M., El-Hosseiny L., Tawfeek M., El-Shenawy M , Baghdadi H., Saleh O., Manes J., Soriano J.M., 2013. Nasal Carriage of Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* and Risk Factors among Food Handlers-Egypt. *Food and Public Health*, 3(6): 284-288.
- Enright M.C., Day N.P., Davies C.E., Peacock S.J., Spratt B.G., 2000. Multilocus Sequence Typing for Characterization of Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible Clones of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 38: 1008–1015.
- Erdem Z., Türkyılmaz S., 2013. Molecular Typing of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Cows and Farm Workers. *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 19 (6): 963-968.
- Erol İ, İşeri Ö., 2004. Stafilokokal Enterotoksinler. *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi Üniv. Vet. Fak.Derg*, 51: 239-245.

- Ertuş N., Gönülalan Z., Yıldırım Y., Kum E., 2010. Detection of *Staphylococcus aureus* Enterotoxins in Sheep Cheese and Dairy Desserts by Multiplex PCR Technique. *International Journal of Food Microbiology*, 142: 74–77.
- Fetsch A., Contzen M., Hartelt K., Kleiser A., Maassen S., Rau J., Kraushaar B., Layer F., Strommenger B., 2014. *Staphylococcus aureus* Food-Poisoning Outbreak Associated With the Consumption of Ice-Cream. *International Journal of Food Microbiology*, 187: 1–6.
- Frenay H.M.E., Bunschoten A.E., Schouls L.M., Leeuwen W. J., Vandenbroucke-Grauls C.M., Verhoef J., Mooi F.R., 1996. Molecular Typing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* on the Basis of Protein a Gene Polymorphism. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 15: 60–64.
- Figueroa G., Navarrete P., Caro, M., Troncoso M., Faundez G., 2002. Carriage of Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in Food Handlers. *Revista Medica de Chile*, 130(8): 859-64.
- Hait J. M., Tallent S. M., Bennett R. W., 2014. Screening, Detection, and Serotyping Methods for Toxin Genes and Enterotoxins in *Staphylococcus* Strains. *Journal of AOAC International* 97(4): 1078–83.
- Hallin M., Friedrich A.W., Struelens M.J., 2009. Spa Typing for Epidemiological Surveillance of *Staphylococcus aureus*. *Molecular Epidemiology of Microorganisms Methods in Molecular Biology*. 189-202.
- Hardy K.J., Hawkey P.M., Gao F., Oppenheim B.A., 2004. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the Critically Ill. *British Journal of Anaesthesia*. 92: 121-130.
- Harmsen D., Claus H., Witte W., Rothganger J., Claus H., Turnwald D., Vogel U.. 2003. Typing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a University Hospital Setting by Using Novel Software for spa Repeat Determination and Database Management. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(12): 5442-5448.
- Hatakka M., Björkroth K.J., Asplund K., Maki-Petays N., Korkeala, H.J., 2000. Genotypes and Enterotoxicity of *Staphylococcus aureus* Isolated from the Hands and Nasal Cavities of Flight-Catering Employees. *Journal of Food Protection*, 63(11): 1487-1491.
- Hennekinne J.A., Buyser M.L.D., Dragacci S., 2012. *Staphylococcus aureus* and Its Food Poisoning Toxins: Characterization and Outbreak Investigation. *FEMS Microbiology Reviews*, 36: 815–836.

- Hiramatsu K., Katayama Y., Yuzawa H., Ito T., 2002. Molecular Genetics of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Microbiology*, 292(2): 67-74.
- Ho J., O'Donoghue M.M., Boost M.V., 2014. Occupational Exposure to Raw Meat: A Newly-Recognized Risk Factor for *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization Amongst Food Handlers. *International Journal Hygiene Environmental Health*, 217(2-3): 347-353.
- Gallina S., Bianchi D.M, Bellio A., Nogarol C., Macori G., Zaccaria T., Biorci F., Carraro E., Decastelli L., 2013. Staphylococcal Poisoning Foodborne Outbreak: Epidemiological Investigation and Strain Genotyping. *Journal of Food Protection*, 76(12): 2093–2098.
- Gomes-Neves E., Araujo A.C., Ramos E., Cardoso C.S.W., 2007. Food Handling: Comparative Analysis of General Knowledge and Practice in Three Relevant Groups in Portugal. *Food Control*, 18 (6): 707–712.
- Gündüz T., Limoncu M.E., Çümen S., Arı A., Etiz S., Tay Z., 2008. The Prevalence of Intestinal Parasites and Nasal *S. aureus* Carriage among Food Handlers. *Journal of Environmental Health*, 70(10): 64-67.
- International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC). (b.t). Erişim 20 Mayıs 2015. http://www.sccmec.org/Pages/SCC_TypesEN.html
- Ito T., Katayama Y., Asada K., Mori N., Tsutsumimoto K., Tiensasitorn C., Hiramatsu K., 2001. Structural Comparison of Three Types of Staphylococcal Cassette Chromosome Mec Integrated in the Chromosome in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(5): 1323–1336.
- İşeri Ö., Erol İ., 2009. Hindi Etinden Kaynaklanan Başlıca Bakteriyel İnfeksiyon ve İntoksikasyonlar. *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 56: 47-54.
- Jones T. F., Kellum M.E., Porter S.S., Bell M., Schaffner W., 2002. An Outbreak Of Community-Acquired Foodborne Illness Caused by Methicilin Resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Disease*, 8(1): 82-84.
- Jorda G.B., Marucci R.S., Guida A.M, Pires P.S, Manfredi E.A., 2012. Carriage and Characterization of *Staphylococcus aureus* in Food Handlers. *Revista Argentina de Microbiologia*, 44(2): 101-104.
- Kayser F.H., Bienz K.A., Eckert J., Zinkernagel R.M., 2002. *Tıbbi Mikrobiyoloji* (9. Baskı) Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. 221-227.

- Karabay O., Arinç H., Gündüz H., 2006. A New Effect of Acetylsalicylic Acid? Significantly Lower Prevalence of Nasal Carriage of *S. aureus* Among Patients Receiving Orally Administered Acetylsalicylic Acid. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 27: 318–319.
- Kırca Yılmaz Ş., Acuner İ.Ç., Strommenger B., Bek Y., Witte W., 2014. Türkiye'nin Orta Karadeniz Bölgesinde Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* Kökenlerinin Enfeksiyözite-Rezistotip-Genotip Kümelenmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 48(1): 14-27.
- Koneman E.W., Allen S.D., Janda W.M., Schreckenberger P.C., Winn W.C., Procop G., Woods G., 2006. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. (8. Baskı). Lippincott Williams & Wilkins, USA. 630-635.
- Loeto D., Matsheka M.I, Gashe B.A., 2007. Enterotoxigenic and Antibiotic Resistance Determination of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Food Handlers in Gaborone, Botswana. *Journal of Food Protection*, 12: 2708-2934.
- Loir Y.L, Baron F., Gautier M., 2003. *Staphylococcus aureus* and Food Poisoning. *Genetics and Molecular Research* 2 (1): 63-76.
- Lovseth A., Loncarevic S., Berdal K.G., 2004. Modified Multiplex PCR Method for Detection of Pyrogenic Exotoxin Genes in Staphylococcal Isolates Modified Multiplex PCR Method for Detection of Pyrogenic Exotoxin Genes in Staphylococcal Isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 3869–3872.
- Lynch R.A., Phillips M.L., Elledge B.L., Hanumanthaiah S., Boatright D.T., 2005. A preliminary evaluation of the effect of glove use by food handlers in fast food restaurants. *Journal of Food Protection*, 68: 187–190.
- Madigan M.T., Martinko J.M., 2010. *Brock, Mikroorganizmaların Biyolojisi*. Palme yayıncılık, Ankara. 864-866.
- Martins R.B., Hogg T., Otero J.G., 2012. Food Handlers' Knowledge on Food Hygiene: The Case of a Catering Company in Portugal. *Food Control*, 23(1): 184-90.
- Miksits K., Hahn H., 2013. *Tıbbi Mikrobiyoloji ve İnfeksiyoloji* (3. Baskı). Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul. 127-132.
- Monday S.R., Bohach G.A., 1999. Use of Multiplex PCR to Detect Classical and Newlydescribed Pyrogenic Toxin Genes in Staphylococcal Isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(10): 3411–3414.
- Morandi S., Brasca M., Lodi R., Cremonesi P., Castiglioni B., 2007. Detection of Classical Enterotoxins and Identification of Enterotoxin Genes in *Staphylococcus aureus* from Milk and Dairy Products. *Veterinary Microbiology*, 124: 66–72.

- Mohammadia S., Sekawi Z., Monjezi A., Maleki M.H., Soroush S., Sadeghifard N., Pakzad I., Azizi-Jalilian F., Emaneini M., Asadollahi K., Pourahmad F., Zarrilli R., Taherikalani M., 2014. Emergence of SCCmec Type III with Variable Antimicrobial Resistance Profiles and spa Types among Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated From Healthcare- And Community-Acquired Infections in the West of Iran. *International Journal of Infectious Diseases*, 25: 152–158.
- Murchan S., Kaufmann M.E., Deplano A., Ryck R., Struelens M., Zinn C.E., Fussing V., 2003. Harmonization of Pulsed-Field Gel Electrophoresis Protocols for Epidemiological Typing of Strains of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* *Journal Of Clinical Microbiology*, 41(4): 1574–1585.
- Müştak H.K., Esendal Ö.M., 2008. *Staphylococcus aureus* Ekzotoksinleri. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 19: 69–74.
- Nema V., Ranu A., Dev V. K., Ajay K.G., Lokendra, S., 2007. Isolation And Characterization of Heat Resistant Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* from a Food Poisoning Outbreak in Indian Subcontinent. *International Journal of Food Microbiology*, 117: 29–35.
- Noor-Azira A. M., Mohammad-Faid A. R., Shuhaimi M., Syafinaz A. N., Hamat R.A., Malina O., 2012. *Staphylococcus aureus* in Food and Nares of Food Handlers in Kuala Pilah. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 35 (4): 853 - 862.
- Pala K., Özakın, C., Akış N., Sınırtaş M., Gedikoğlu S., Aytakin H., 2010. Asymptomatic Carriage of Bacteria in Food Workers in Nilufer District. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 40 (1): 133-139.
- Rall V.L.M., Sforcin J.M., Augustini V.C.M., Watanabe M.T., Fernandes Jr A., Rall R. Silva M.G., Araujo Jr J.P., 2010. Detection of Enterotoxin Genes of *Staphylococcus* spp Isolated from Nasal Cavities and Hands of Food Handlers. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41: 59-65.
- Ridom SpaServer. (b.t). Erişim 20 Haziran 2015, <http://www.spaserver.ridom.de/>
- Roghmann M.C., Longinaker N., Croft L., Johnson J.K., Lydecker A. D., Stine O. C., 2014. Molecular Epidemiology of *Staphylococcus aureus* Colonization in the Old Order of Amish of Lancaster County, Pennsylvania, USA. *Epidemiology & Infection*, 142: 1722–1726.

- Ruppitsch W., Indra A., Stöger A., Mayer B., Stadlbauer S., Wewalka G., Allerberger F., 2006. Classifying spa Types in Complexes Improves Interpretation of Typing Results for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*. 44(7): 2442-2448.
- Sabat A.J., Budimir A., Nashev D., Sa-Leao R., Diji J.M., Laurent F., Grundmann H., Friedrich A.W. (24 ocak 2013). Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance. *Euro Surveillance*. 18(4): 20380. Erişim: 5 Haziran 2015, <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20380>.
- Saeeda H.A., Hamid H.H., 2010. Bacteriological and Parasitological Assessment of Food Handlers in the Omdurman Area of Sudan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 43(1): 70–73.
- Sancak B., 2011. *Staphylococcus aureus* ve Antibiyotik direnci. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 45(3): 565-576.
- Sancak, B., 2012. MRSA Direnç Mekanizmaları: Dünyada ve Türkiyede epidemiyolojisi. *Ankem Dergisi*, 26 (2): 38-47.
- Satta G., Ling C.L., Cunningham E.M., McHugh T. D., Hopkins S., 2013. Utility and Limitations of Spa-Typing in Understanding the Epidemiology of *Staphylococcus aureus* Bacteraemia Isolates in A Single University Hospital Giovanni. *BMC Research Notes*, 6: 398.
- Sepin-Özen N., Tuğlu-Ataman Ş., Seyman D., Aldağ H., Emek M., 2013. Antalya İli Gıda Çalışanlarında Nazal *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığının ve MRSA Oranlarının Üç Farklı Yöntem Kullanılarak İncelenmesi. *Türk Hijyen Deneysel Biyoloji Dergisi*, 70(2): 51–58.
- Sezer Ç., Çelebi Ö., Aksoy A., Vatansever L., 2015. Food Handlers: A Bridge in the Journey of Enterotoxigenic MRSA in Food. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 10: 123–129.
- Schelin J., Wallin-Carlquist N., Cohn M.T, Lindqvist R., Barker G.C., Radström P., 2011. the Formation of *Staphylococcus aureus* Enterotoxin in Food Environments and Advances in Risk Assessment. *Virulence*, 2(6): 580-592.
- Song J.H., Hsueh P.R., Chung D.R., Ko S.K., Kang C.I., Kyong Ran Peck K.R., Yeom J.S., KimS.W., Chang H.H., Kim Y.S., Jung S.I., Son J.S., So T.M., Lalitha M.K., Yang Y., Huang S.G., 2011. Spread of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Between the Community and the Hospitals in Asian Countries: An Ansoorp Study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66: 1061–1069.

- Soon J.M., Baines R., Seaman P., 2012. Meta-Analysis of Food Safety Training on Hand Hygiene Knowledge and Attitudes among Food Handlers. *Journal of Food Protection*, 75(4): 793–804.
- Soriano J.M., Font G., Molto J.C., Manes J., 2002. Enterotoxigenic Staphylococci and Their Toxins in Restaurant Foods. *Trends in Food Science & Technology*, 13: 60–67.
- Souza P.A., Santos D.A., 2009. Microbiological Risk Factors Associated with Food Handlers in Elementary Schools From Brazil. *Journal of Food Safety*, 29: 424–429.
- Soto A, Saldias M.E, Oviedo P, Fernandez M., 1996. Prevalence of *Staphylococcus aureus* Among Food Handlers from a Metropolitan University in Chile. *Revista Medica de Chile*, 124: 1142–1146.
- Sudagidan M., Aydın A., 2010. Virulence properties of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* food isolates encoding Panton–Valentine Leukocidin gene. *International Journal of Food Microbiology*, 138: 287–291.
- Sutherland J., Varnam A., 2002. *Enterotoxin-producing Staphylococcus, Shigella, Yersinia, Vibrio, Aeromonas and Plesiomonas*. Foodborne Pathogens, CRC press, Washington. 385-415.
- Tanır G., Göl N., 1999. Antibiyotik Direnci. *Klinik Dergisi*, 12 (2): 47-54.
- Topçu A,W., Söyletir G., Doğanay M., 1996. *İnfeksiyon Hastalıkları*. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. 773-781.
- Todd E.C.D., Michaels B.S., Greig J.D., Smith D., Bartleson C.A., 2010. Outbreaks Where Food Workers Have Been Implicated in the Spread of Foodborne Disease Gloves as Barriers to Prevent Contamination of Food by Workers. *Journal of Food Protection*, 73 (9): 1762–1773.
- Tunail N., 2000. (2.Baskı) *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*. Sim matbaacılık. Ankara. 81-184.
- Tunail N., 2009. *Mikrobiyoloji*. Pelin offset Tipo matbaacılık, Ankara. 448.
- Tünger A., Çavusoglu C., Korkmaz M., 2003. *Mikrobiyoloji*. Asya Tıp Yayıncılık, İzmir. 48-56.
- Türkyılmaz S., Tekbıyık S., Oryasin E., Bozdoğan B., 2010. Molecular Epidemiology and Antimicrobial Resistance Mechanisms of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Bovine Milk. *Zoonoses Public Health*, 57: 197–203.
- Udo E.E., Al-Mufti S., Albert M.J., 2009. The Prevalence of Antimicrobial Resistance and Carriage of Virulence Genes in *Staphylococcus aureus* Isolated from Food Handlers in Kuwait City Restaurants. *BMC Research Notes*, 2: 108.

- Uhlen M., Guss B., Nilsson B., Gatenbeck S., Philipson, L., Lind-berg. M., 1984. Complete Sequence of the Staphylococcal Gene Encoding Protein A. *The Journal of Biological Chemistry*, 259: 1695-1702.
- Ünal S., 2006. Toplumda Kazanılmış Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus*: Genel Özellikler. *Ankem Dergisi*. 20(2): 100-101.
- Ulusoy S., 2006. Toplumdan Kazanılmış Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* İnfeksiyonlarının Tedavisi. *Ankem Dergisi*, 20: 102-105.
- Ustaçelebi S., Cengiz T., 1999. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Güneş Kitabevi, Ankara. 339-348.
- Votintseva A.A., Fung R., Ruth R., Miller R.R., Knox K., Godwin H., Wyllie D.H., Bowden R., Crook D.W., Walker A.S., 2014. Prevalence of *Staphylococcus aureus* Protein A (*Spa*) Mutants in the Community and Hospitals in Oxfordshire. *BMC Microbiology*, 14: 63.
- Veras J.F., Carmo L.S., Tong L.C., Shupp J.W., Cummings C., Santos D.A., Cerqueira M.M.O.P., Cantini A., Nicoli J.R., Jett M., 2008. A Study of the Enterotoxigenicity of Coagulase-Negative and Coagulase-Positive Staphylococcal Isolates from Food Poisoning Outbreaks in Minas Gerais, Brazil. *International Journal of Infectious Diseases*, 12: 410–415.
- Wattinger, L., Stephan, R. Layer, F., Johler, S., 2012. Comparison of *Staphylococcus aureus* Isolates Associated with Food Intoxication with Isolates from Human Nasal Carriers and Human Infections. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 31: 455–464.
- Wei H.L., Chiou C.S., 2002. Molecular Subtyping of *Staphylococcus aureus* from an Outbreak Associated with a Food Handler. *Epidemiology & Infection*. 128: 15-20.
- Wertheim H.F.L., Melles D.C., Vos M.C., Willem V.L., Belkum A.V., Verbrugh H.A., Nouwen J.L., 2005. The Role of Nasal Carriage in *Staphylococcus aureus* Infections. *Lancet Infectious Diseases*, 5: 751–762.
- Yılmaz S., Kılıç A., Karagöz A., Bedir O., Üsküdar Güçlü A., Başustaoğlu A.C., 2012. Hastane ve Toplum Kaynaklı *Staphylococcus aureus* İzolatlarında Çeşitli Virülans Faktörlerinin Gerçek Zamanlı PCR Yöntemiyle Araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 46(4): 532-545.

- Yong C., Zhengxiang L., Libo D., Jie X., Yanwen G., Jiyong Y., Zhanke W., Xuqin W., Zhongyi L., Xiangzhao M., Jingya Z., Changjian Z., Fang W., Yulong Z., Mengqiang Z., Li H., 2014. Characterization of *Staphylococcus aureus* from Distinct Geographic Locations in China: An Increasing Prevalence of spa-t030 and SCCmec type III. *PloS one*, 9(4): 96255.
- Yudong L. Hui W., Na D., Enhua S., Hongbin C., Junqi N., Huifen Y., Minjun C., 2009. Molecular Evidence for Spread of Two Major Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clones with a Unique Geographic Distribution in Chinese Hospitals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(2): 512–518.

EKLER

EK-1 ETİK KURUL BİLGİLENDİRME FORMU



ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME FORMU					
Doküman:	Form-11	Revizyon No:	02	Revizyon Tarihi:	23 / 01 / 2012

- 1. Çalışmanın adı: HASTANE VE GIDA İŞLETMELERİNDEKİ GIDA ÇALIŞANLARINDAN ELDE EDİLEN *STAPYLOCOCCUS AUREUS*'LARIN KAREKTERİZASYONU**
- 2. Araştırmacıların adları, kurumları ve iletişim numaraları.**
Nesrin Çakıcı: ÇOMÜ Sağlık Hizmetleri Meslek yüksekokulu. Tel: 02862150097/4016
Alper Akçalı: ÇOMÜ Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji. Tel: 02862180018/2111
Nükhet Demirel Zorba: ÇOMÜ Müh. Fak. Gıda Mühendisliği, Tel: 02862180018/1598
Araştırmanın amacı ve kısa özeti:
Çanakkale ilinde hizmet veren hastane ve gıda işletmelerindeki gıda çalışanlarının, *S.aureus* bakterisi taşıyıcılığının ortaya konularak elde edilen bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç durumlarının, gıda zehirlenmesine sebep olma kapasitesinin belirlenmesi ve bu bakterilerin tiplendirilmesinin yapılması amaçlanmaktadır. Aşçı/yemek hazırlayıcıları ve servis elemanlarının her iki burun ön deliğinden ve ellerinden alınan sürüntü örneklerinden elde edilen *S.aureus* bakterileri incelenecektir.
- 3. Bu araştırma için neden siz seçildiniz?** Yemeklerin hazırlanmasında ve servisinde görevli kişiler olduğunuz için seçildiniz.
- 4. Araştırmaya katılmak / bir kez katıldıktan sonra sonuna kadar devam etmek zorunda mıyım?** Araştırmaya katılmak zorunda değilsiniz, katılsanız bile araştırmanın yürütülmesi sırasında yazılı beyanatınızla araştırmadan ayrılabilirsiniz.
- 5. Katılmayı kabul edersem bana ne yapılacak?** Her iki burun ön deliğinden ve ellerinizden ucu pamuklu çubukla (eküvyon çubuğu) sürüntü örnekleri alınacaktır.
- 6. Araştırmaya katılmak size bir zarar verecek mi? Sizin için olumsuz yönleri/riskleri olacak mı?** Araştırmaya katılmak size zarar vermeyecektir.
- 7. Araştırmaya katılmanın size olası yararları nelerdir? Araştırmaya katılmak size bir fayda/üstünlük sağlayacak mı?** Bu bakteriyi gıdalara veya hastalara bulaştırma açısından bir risk taşıyıp taşımadığımız anlaşılacaktır.
- 8. Araştırma için masrafım olacak mı? Araştırmanın benim için maddi bedeli var mı?** Bu araştırmaya katılmanız size hiçbir maddi bedel getirmeyecektir.
- 9. Kimlik bilgilerim ve elde edilen verilerin gizliliği nasıl sağlanacak?** Kimlik bilgileri ve hastane ve işletme isimleri kesinlikle gizli tutulacaktır.
- 10. Araştırma sonunda bana bilgi verilecek mi?** Katılımcılara istedikleri takdirde, projenin tamamlanmasından sonra elde edilen sonuçlar hakkında bilgi verilecektir.
- 11. Araştırma sonuçlarına ne olacak?** Doktora tezinde ve bilimsel yayınlarda kullanılacaktır.
- 12. Daha ayrıntılı bilgi için,** Nesrin ÇAKICI (Tel:05437612097) ile görüşülebilecektir.
- 14. Teşekkür:** Araştırmamıza katıldığınız için teşekkür ederiz.

BU BİLGİLENDİRME FORMU SİZDE KALACAKTIR. ARAŞTIRMAYA KATILMAK İSTERSENİZ AŞAĞIDA YER ALAN ONAM FORMUNU İMZALAMANIZ GEREKMEKTEDİR

EK-2 ONAM FORMU (D²)

Araştırmanın Adı: HASTANE VE GIDA İŞLETMELERİNDEKİ GIDA ÇALIŞANLARINDAN ELDE EDİLEN <i>STAPYLOCOCCUS AUREUS</i>'LARIN KAREKTERİZASYONU

	Evet	Hayır
Bilgilendirme Formunu okudunuz mu?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Araştırma projesi size sözlü olarak da anlatıldı mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Size araştırmayla ilgili soru sorma, tartışma fırsatı tanındı mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sorduğunuz tüm sorulara tatmin edici yanıtlar alabildiniz mi?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Araştırma hakkında yeterli bilgi aldınız mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Herhangi bir zamanda herhangi bir nedenle ya da neden göstermeksizin araştırmadan çekilme hakkına sahip olduğunuzu anladınız mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Araştırma sonuçlarının uygun bir yolla yayınlanacağına katılıyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Yukarıdaki soruların yanıtları size kim tarafından açıklandı? <i>Lütfen ismini yazınız.</i>		

İmza:

Adı / Soyadı:

Tarih:

EK-3 KATILIMCI ANKET FORMU

Cinsiyet: **K** **E**

Yaş:

1- Eğitim durumunuzu işaretleyiniz .

A- İlkokul B- Ortaokul C-Lise D- Yüksekokul

2- İşyerinizdeki görevinizi işaretleyiniz.

A- Aşçı B- Aşçı Yrd. C- Mutfak Tem Gör. D- Servis elemanı

3- Sektörde toplam çalışma yılınızı işaretleyiniz.

A- 0-1 yıl B- 1-4 yıl C- 4-10 yıl D- 10 yıldan fazla

4- Hijyen bilginizin ne kadar olduğunu işaretleyiniz.

A-Hiç bilmiyorum B- Az C- Orta D- İyi

5- Çalışırken ellerinizi hangi sıklıkta yıkadığınızı işaretleyiniz.

A- Her tuvaletten çıkışta B- Yemek hazırlamaya başlamadan

C- Yemekle uğraşırken kirlendikçe D- Düzenli olarak sık sık

6- Hangi sıklıkta banyo yaparsınız?

A- Haftada bir B- Hftada iki C- Haftada üç D- Her gün

7- Çalışırken eldiven kullanırmısınız?

A- Kullanmam B- Bazan C- Sıkça D- Sürekli

8- Eldiveninizi hangi sıklıkla değiştirirsiniz.

A- Hiç değiştirmem B- Günde 1-2 C- Günde 5-6 D- Kirlendikçe

9- Çalışırken maske kullanırmısınız?

A- Kullanmam B- Bazan C- Sıklıkla D- Sürekli

10- Antibiyotik kullanma durumunuzun hangi sıklıkta olduğunu işaretleyiniz.

A- Çok nadir B- Yılda 1-2 C- Yılda 3-5 D- 5 ten fazla

11- Bir hastanede 3 günden fazla yattınız mı?

A- Evet B- Hayır

12- Yılda bir kere düzenli olarak burun kültürü yaptırıyormusunuz?

A- Hiç yaptırmadım B- Düzensiz yaptırıyorum C- Evet D- Hayır

13- Gıda güvenliği konusunda eğitim aldınız mı?

A- Evet B- Hayır

14- Hasta olduğunuzda ne yaparsınız?

A- Çalışmaya devam ederim B- Doktorun önerdiği ilaçları alarak çalışırım C-

Hastalık geçene kadar çalışmam

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Nesrin Çakıcı

Doğum Yeri : Şanlıurfa

Doğum Tarihi : 13.04.1966

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Gazi Üniversitesi, Gazi Eğitim Fakültesi, Biyoloji.

Yüksek Lisans Öğrenimi : Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Eğitimi ABD.

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar

Şener A., Çakıcı N., 2013. Bacterial Contamination in Fresh White Cheese Sold in Bazaars Çanakkale, Turkey. *International Food Research Journal*, 20(3): 1469-1472.

Şener A., Demir N., Çakıcı N., Çakıcı H., Kaya H., Bakar C., 2013. Çanakkale Boğazından Avlanan Kara Midyelerinin (*Mytilus Galloprovincialis*) Mikrobiyolojik İncelenmesi. *Nobel Medicus*, 9(2): 69-73.

Engin B., Karagül Yüceer Y., Çakıcı N., 2013. Çanakkale'de Tüketime Sunulan Taze Beyaz Peynirlerin Ağır Metal İçeriklerinin Belirlenmesi. *Süt Dünyası*, 8: 56-59.

Çakıcı N., Ülgey N., İlhan Yalçın Y., 2006. Çanakkale'deki Birinci Sınıf Öğrencilerinin BCG Skar Kontrolü ve Tüberkülin Testi Sonuçları Üzerine Bir Araştırma. *Klinik Dergisi*, 19: 75-78.

Keskin K., Özsoy M.F., Koçak N., Çavuşoğlu Ş., Çakıcı N., Altunay H., Yenen O.Ş., 1996. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *S. aureus*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* Suşlarına Karşı Meropenemin Etkinliği. *Klinik Dergisi*, Cilt:11(1).

b) Bildiriler

Uluslararası

Keskin K., Özsoy M.F., Koçak N., Çavuşoğlu Ş., Çakıcı N., Altunay H., Yenen O.Ş., 1996. The Activity Meropenem Against *S. aureus* *E. coli* and *P. aeruginosa* Strains Isolated from the Various Clinical Specimens. *10th Mediterranean Congress of Chemotherapy*. Antalya.

Ulusal:

Çakıcı N., Şener A., Çakıcı H., Kaya H., Demir N., 2012. Çanakkale Boğazı'ndan Avlanan Kara Midyelerin (*Mytilus Galloprovincialis*) Mikrobiyolojik Kalitesinin Bölgesel ve Mevsimsel Değişimi. *XXXV. Türk Mikrobiyoloji Kong.*, Kuşadası/Aydın.

Çakıcı N., Demirel-Zorba N.N., 2012. Metisiline Dirençli *S. aureus*'ların Gıda Zehirlenmelerindeki Rolü. *XXXV. Türk Mikrobiyoloji Kong.*, Kuşadası/Aydın.

Şener A., Çakıcı N., Çakıcı H., 2009. Çanakkale Bölgesi Semt Pazarlarında Satışa Sunulan Taze Peynirlerde Mikroorganizmaların Varlığının Araştırılması. *Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kong.*, Antalya.

Şener A., Çakıcı N., Çakıcı H., 2008. Çanakkale Bölgesi Semt Pazarlarında Satışa Sunulan Taze Peynirlerde Bazı Patojenik Mikroorganizmaların Varlığının Araştırılması. *Çanakkale Merkezi Değerleri Semp.*, Çanakkale.

Çakıcı N., 2008. Çanakkale Bölgesinde açıkta Satılan Taze Peynirlerin içerdiği TAMB Sayısı ve *Brucella* spp. Yönünden İncelenmesi. *Çanakkale Merkezi Değerleri Semp.*, Çanakkale.

Çakıcı N. 2007. Gıda Kaynaklı Enfeksiyonlardan Biri: Bruselloz. *4.Ulusal Meslekyüksekokulları Semp.*, İzmir.

Güleç S., Türe S., Şıpkın S., Çakıcı N., 2007. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Öğrencilerinde İdrar Yolu Enfeksiyonu Geçirme Durumlarının Değerlendirilmesi. *I.Ulusal Ebelik Kong.*, İstanbul.

Şıpkın S.,Çakıcı N.,Güleç S.,Türe S., 2007. Sağlık Yüksekokulu Öğrencilerinin Genital Hijyen Alışkanlıklarının Belirlenmesi. *I.Ulusal Ebelik Kong.*, İstanbul.

Çakıcı N., Ülgey N., Yalçın Y., Yalçın S., 2006. Çanakkale'deki Birinci Sınıf Öğrencilerin BCG Skar Kontrolü ve Tüberkülin Testi Sonuçları Üzerine Bir Araştırma. *I. Ulusal Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulları Semp.*, Ankara.

Çakıcı N., 2006. İdrar Kültürlerinde İzole Edilen *S. aureus* Suşlarının Methicillin Direnci ve Çeşitli Antibiyotiklere Duyarlılıklarının İncelenmesi. *I. Ulusal Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulları Semp.*, Ankara.

Yalçın S., Çakıcı N., 2006. Radyasyonun Mikroorganizmalara Etkisi. *I. Ulusal Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulları Semp.*, Ankara.

Keskin K., Özsoy M.F., Koçak N., Çavuşoğlu Ş., Çakıcı N., Altunay H., Yenen O.Ş., 1996 Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *S. aureus*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* Suşlarına Karşı Meropenemin Etkinliği. *Türk Mikrobiyoloji Kong.*, Antalya.

c) Katıldığı Projeler

ÇOMÜ-BAP (2007/58). Çanakkale Bölgesi Semt Pazarlarında Satışa Sunulan Taze Peynirlerde Bazı Patojenik Mikroorganizmaların Varlığının Araştırılması.

ÇOMÜ-BAP (2009/47). Çanakkale Boğazındaki Akdeniz Midyelerinde (*Mytilus Galloprovincialis*) Mikrobiyolojik Kalitenin Araştırılması.

TUBİTAK 1002 (2014/113S562). Hastane ve Gıda İşletmelerindeki Gıda Çalışanlarından Elde Edilen *Staphylococcus aureus* 'ların Karakterizasyonu.

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı kurumlar ve yıl:

GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi (1990-1996)

Çanakkale Asker Hastanesi (1996-2003)

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO (2003-)

İLETİŞİM

E-posta Adresi: nescakici@mynet.com.tr