

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI



**KREMALI PASTALARDA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* VARLIĞI
VE İZOLATLARIN ENTEROTOKSİJENİK ÖZELLİKLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bilgenur KARAÇOR

Danışman

Prof. Dr. Mehmet ELMALI

HATAY-2023

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**KREMALI PASTALARDA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* VARLIĞI
İLE İZOLATLARIN ENTEROTOKSİJENİK ÖZELLİKLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bilgenur KARAÇOR

Danışman

Prof. Dr. Mehmet ELMALI

Bu tez, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 21.YL.010 nolu proje olarak desteklenmiştir.

HATAY-2023

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**KREMALI PASTALARDA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* VARLIĞI
İLE İZOLATLARIN ENTEROTOKSİJENİK ÖZELLİKLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Bilgenur KARAÇOR

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 25/01/2023 günü sözlü olarak
yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı: Prof. Dr. Mehmet ELMALI
Üye: Doç. Dr. Fulden KARADAL
Üye: Doç. Dr. H. Yeşim CAN

Bu tez, Enstitümüz Veterinerlik Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında
hazırlanmıştır.

Prof. Dr. İbrahim Halil ÇERÇİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim dönemim ve tez çalışmasına başlangıcı, gerçekleştirilmesi ve sonuçlanmasına kadar geçen sürede 3 yıl boyunca değerli bilgilerini paylaşan ve bu süreçte sabır, nezaket, yol göstericilik, ilgisini her daim hissettiğim saygıdeğer hocam Prof. Dr. Mehmet ELMALI'ya, lisans ve yüksek lisans süreci ile tez çalışması aşamalarında beni destekleyen ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. H. Yeşim CAN ve Doç. Dr. Sevda PEHLİVANLAR ÖNEN, laboratuvar aşamasında tez çalışmasında katkılarından dolayı Dr. Hüseyin Burak DİŞLİ ve bu süreçte desteklerini sonuna kadar hissettiğim annem Şennur KARAÇOR, babam Veli KARAÇOR'a ve kardeşim İremnur KARAÇOR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ÖZET	IX
ABSTRACT	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	2
2.1.1. Genel Özellikleri	2
2.1.2. Virülens Faktörleri	3
2.1.3. Enterotoksinleri ve Özellikleri	3
2.1.4. <i>Staphylococcus aureus</i> 'un Gıdalarda Varlığı ve Halk Sağlığı Açısından Önemi	5
2.1.5. <i>Staphylococcus aureus</i> ve Antibiyotik Direnci	7
2.1.6. Korunma ve Kontrol	8
3. GEREÇ VE YÖNTEM	10
3.1. Gereç	10
3.1.1. Mikrobiyolojik Analizlerde Kullanılan Besiyerleri ve Diğer Kimyasal Maddeler	10
3.1.2. Moleküler Analizlerde Kullanılan Malzemeler, Nitelik ve Bileşimleri	11
3.1.3. DNA Ekstraksiyonunda Kullanılan Malzemeler ve Nitelikleri	12
3.1.4. Pozitif Kontroller	13
3.2. Yöntem	13
3.2.1. Örneklerin Alınması	13
3.2.2. Mikrobiyolojik Analizler	13
3.2.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i> izolasyon ve identifikasyonu	13
3.2.3. Moleküler Analizler	14
3.2.3.1. DNA Ekstraksiyonu	14
3.2.3.2. PCR Analizi	15
3.2.4. Enterotoksin Sentezleyen Genlerin Analizi	16
3.2.5. İstatistiki Değerlendirme	17
4. BULGULAR	18
5. TARTIŞMA	21
6. SONUÇ	33
7. KAYNAKLAR	34
ÖZGEÇMİŞ	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. <i>S. aureus</i> Kolonilerinin BP Agardaki Görünümü	14
Şekil 3.2. <i>S. aureus</i> Kolonilerinin BHI'da Üreme Görünümü	14
Şekil 4.1. İzolatların Jel Elektroforezde Görüntüleri	19
Şekil 4.2. İzolatların Jel Elektroforezde Görüntüleri	20



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Stafilokokal Enterotoksinlerin Bazı Özellikleri	5
Çizelge 2.2. <i>S. aureus</i> Direnç Mekanizması	8
Çizelge 3.1. Moleküler Analizlerde Kullanılan Malzemeler, Nitelik ve Bileşimleri	11
Çizelge 3.2. DNA ekstraksiyonunda kullanılan malzemeler, nitelikleri ve bileşimleri	12
Çizelge 3.3. <i>S.aureus</i> İdentifikasyonunda Kullanılan Gen Primer Çiftleri	15
Çizelge 3.4. Araştırmada Kullanılan PCR Karışımı	15
Çizelge 3.5. Araştırmada Uygulanan Amplifikasyon Koşulları	15
Çizelge 3.6. Araştırmada Kullanılan Gen Primer Çiftleri	16
Çizelge 3.7. Araştırmada <i>sea</i> , <i>sec</i> ve <i>see</i> Genleri için Kullanılan PCR Karışımı	16
Çizelge 3.8. Araştırmada <i>seb</i> ve <i>sed</i> Genleri için Kullanılan PCR Karışımı	17
Çizelge 3.9. Araştırmada <i>sea</i> , <i>seb</i> , <i>sec</i> , <i>sed</i> ve <i>see</i> Genleri için Uygulanan Amplifikasyon Koşulları	17
Çizelge 4.1. Farklı Pasta Örneklerinden İzole Edilen <i>S. aureus</i> Sayı ve Oranları	18
Çizelge 4.2. <i>S.aureus</i> Pozitif İzolatlarından Saptanan Enterotoksin Sentezleyen Genlerin Ay ve Örneklerle Göre Dağılımı	19

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: America Birleşik Devletleri
°C	: Santigrat derece
CDC	: The Centers for Disease Control and Prevention
CRF	: Koagulase relatif faktör
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
µg	: Mikrogram
µm	: Mikrometre
atm	: Atmosfer
a _w	: Su Aktivitesi
BHI	: Brain Heart Infusion Broth
BP	: Baird Parker Agar
bp	: Base pair
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DNAse	: Deoksiribonükleaz enzimi
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FAO	: Food and Agriculture Organization
g	: Gram
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HACCP	: Hazard Analysis and Critical Control Point
kDA	: Kilodalton birimi
Kob/g	: Koloni oluşturma biriminin/Gram
L	: Ladder
Log	: Logaritma
ml	: Mililitre
MRSA	: Methicillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
NaCl	: Sodyum Klorür
PBP2a	: Penisilin Bağlayan Protein
PCR	: Polimerase Chain Reaction
pH	: Potansiyel Hidrojen
PVL	: Panton- Valentine-Lökosidin
<i>S. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
SE	: Stafilokokal Enterotoksin
<i>sea</i>	: Stafilokokal enteroksin A'yı sentezleyen gen
SEA	: Stafilokokal enterotoksin A
<i>seb</i>	: Stafilokokal enteroksin B'yi sentezleyen gen
SEB	: Stafilokokal enterotoksin B
<i>sec</i>	: Stafilokokal enteroksin C'yi sentezleyen gen
SEC	: Stafilokokal enterotoksin C
<i>sed</i>	: Stafilokokal enteroksin D'yi sentezleyen gen
SED	: Stafilokokal enterotoksin D
<i>see</i>	: Stafilokokal enteroksin E sentezleyen gen
SEE	: Stafilokokal enterotoksin E
TAE	: Tris-asetat-Edta çözeltisi

UHT	: Ultra High Temperature
USA	: United States Of America
VISA	: Vankomisin intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
VRSA	: Vankomisin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
α	: Alfa
β	: Beta
B-laktamaz	: Beta- laktamaz
γ	: Gama
δ	: Delta



ÖZET

Kremalı Pastalarda *S. aureus* Varlığı ve İzolatların Enterotoksijenik Özelliklerinin Araştırılması

Bu çalışmada, analiz edilen 100 kremalı yaş pasta örneğinin 15'inden (%15) *S. aureus* saptandı. Temmuz ayında toplanan örneklerden %53.3 ve kasım ayında toplanan örneklerden ise %46.6 oranında *S. aureus* izole edilmiştir. Analiz edilen kremalı pasta örneklerinde saptanan *S. aureus* varlığının dağılımı değerlendirildiğinde 3 adedi (%20) çikolatalı, 8 adedi (%53.3) meyveli ve 4 adedi (26.7) ise sade yaş pasta örneği olarak belirlendi.

Pozitif örneklerde genotipik analizlerde *sea* 3 (%20), *sec* 4 (%26.7), *sed* 15 (%100), *see* 2 örnekten (%13.3) saptanırken, *seb* hiçbir izolattan saptanmadı. Temmuz ayı içerisinde saptanmış *S. aureus* izolatlarında SE sentezleyen genlerin toplam içerisindeki oranı %45.83 (11/24) ve kasım ayı içerisinde ise %54.16 (13/24) olarak saptandı. Temmuz ayı içerisinde saptanmış *S. aureus* izolatlarında predominant gen *sed* (%72.72), takiben *sec* (%27.27) gelirken, kasım ayı içerisinde prodominant gen *sed* (%53.84), *sea* (%23.07), *see* (%15.38) ve *sec* (% 7.69) sıralanmıştır.

Sonuç olarak; *Staphylococcus aureus* insan sağlığı açısından risk yaratabilen bir mikroorganizma olduğundan intoksikasyonlardan korunmada ham maddenin başlangıç mikrobiyel yükünün düşük olmasının ve uygun teknikte üretim yapılmasının önemli olduğu, ürünün muhafazası, nakil, servis aşaması ve sanitasyon programlarının etkinliğinin kontrol edilmesi yanı sıra HACCP'in ön gördüğü protokoller kapsamında uygulanmasının gerektiği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler; *S. aureus*, Kremalı pasta, İntoksikasyon, Halk sağlığı

ABSTRACT

Investigation of The Presence of *Staphylococcus aureus* in Cream Cakes and Enterotoxigenic Properties of Isolates

In this study, *S.aureus* was detected in 15 (15%) of 100 cream cake samples analyzed. *S.aureus* was isolated from the samples collected in July at a rate of 53.3% and from the samples collected in November at a rate of 46.6%. When the distribution of presence of *S.aureus* detected in the analyzed cream cake samples were determined, 3 (20%) chocolate, 8 (53.3%) fruit and 4 (26.7%) plain wet cake samples were determined.

In the genotypic analyzes of the isolates obtained from positive samples, *sea* 3 (20%), *sec* 4 (26.7%), *sed* 15 (100%), *see* 2 (13.3%) were detected, while *seb* was not detected from any isolates. The ratio of genes responsible for SE synthesis in *S.aureus* isolates detected in July was 45.83% (11/24) and 54.16% (13/24) in November. *S.aureus* isolates detected in July, the predominant gene *sed* (72.72%, 8/11) was followed by *sec* (27.27%, 3/11), while in November the predominant gene *sed* (53.84%, 7/13) was *sea* (23.07%, 3/13), *see* (15.38%, 2/13), and *sec* (7.69%, 1/13) are listed.

As a result; Since *S.aureus* is a microorganism can pose a risk to human health, it is very important to have a low initial microbial load of the raw material and to produce it with an appropriate technique for protection from intoxications. In addition, it was concluded that the protocols stipulated by HACCP should be implemented, as well as controlling the effectiveness of product storage, transportation, service phase and sanitation programs.

Keywords; *S. aureus*, Cream pastry, Intoxication, Public health

1. GİRİŞ

Staphylococcus aureus (*S.aureus*) insan, hayvan, su ve hava gibi ortamlarda bulunabilen diğer bir ifade ile ubiquiter karakter gösteren, insanlarda infeksiyon ve/veya kontamine gıda tüketimi sonucunda toksikasyona neden olan bir mikroorganizmadır. Genel anlamda, mikrobiyel bulaşmalarda önemli faktörler olarak çalışan personel, çapraz kontaminasyon, kontamine hammadde, uygun olmayan depolama koşulları, soğutma ve ısıtma işlem yetersizliği sayılabilir (Erol 2007). Özellikle gıda sektöründe çalışanların deri ve burun mikroflorasın kaynaklı veya öksürme sonucu damlacık bulaşma gibi yollarla sekretleri ile gıdayı kontamine edebilirler (Archer 1998, Chaibenjawong ve Foster 2011, Çakıcı ve ark. 2015). Ayrıca gıda işletmelerinde kullanılan alet ve ekipman kaynaklı kontaminasyonlar bulaşmada önemli rol oynar (Sağlam ve Şeker 2016, Park ve Seo 2019, Valsangiacomo ve ark. 2000, Tarris ve ark. 2021).

Stafilokokal toksikasyonlarda salata, et ve ürünleri, süt ve ürünleri, yaş pasta, kek, konserve, tüketime hazır gıda ve yumurta sıklıkla karşımıza çıkan gıdalar listesinde yer almaktadır (Tatini ve Bennet 1999, CDC 2002, Erol 2007, Hampikyan ve ark. 2008, Giannatale ve ark. 2011, Gücükoğlu ve ark. 2012, Hennekinne ve ark. 2012, Rola ve ark. 2015, Kısa ve Tuncer 2021).

Stafilokokal enterotoksinler (SE) denatürasyon, düşük pH, yüksek ısı ve proteolitik enzimlere oldukça dirençlidir (Schantz ve ark. 1965, Humber ve ark. 1975, Evenson ve ark. 1988). Ayrıca, etkenin düşük su aktivitesinde üremesi ise gıdalarda toksin oluşumu riskini arttırmaktadır (Schmitt ve ark. 1990, Adams ve Moss 2008, Chaibenjawong ve Foster 2011, Fisher ve ark. 2017).

Kremalı pasta dünya ve ülkemiz mutfak kültüründe önemli bir yer tutmaktadır. Üretiminde yumurta, süt, un, şeker, nişasta ve kakao gibi malzemeler kullanılır ve bu malzemelerin mikrobiyel, kimyasal ve fiziksel kalitesi ürünün raf ömrünü ve insan sağlığını etkiler.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Staphylococcus aureus*

2.1.1. Genel Özellikleri

Stafilokoklar Robert Koch tarafından 1878 yılında tanımlanmıştır (Adams ve Moss, 2008). *Staphylococcus aureus* kaynaklı olarak oluşan infeksiyon ve toksikasyonlar ilk defa 1884 yılında Amerika Birleşik Devletlerinin (ABD) Michigan şehrinde kontamine peynirin tüketilmesi sonucunda saptanmıştır (Hennekinne ve ark. 2012). Takiben Seo ve Bohach (2007), Dack ve arkadaşlarının 1930 yılında kurutulmuş sığır eti tüketimine bağlı olarak toksikasyon olgusunu rapor ettiklerini bildirmektedirler.

Staphylococcus aureus çoğu gıdada üreme yeteneği olan, infeksiyon ve intoksikasyon oluşturabilen bir etkindir (Garrity ve ark. 2004, Normanno ve ark. 2007a, Riva ve ark. 2015, Parisi ve ark. 2016). Stafilokoklar *Staphylococcaceae* familyasının bir üyesi olup 0,5-1 µm çapı ve mikroskopik bakıda üzüm salkımına benzer şekilde görülen, Gram pozitif, aerob, fakültatif anaerob ve spor oluşturmeyen bakterilerdir (Foster 1996, Garrity ve ark. 2004). *Staphylococcus aureus* optimum 35-37°C, 6.0-7.0 pH ve %5-10 tuz aralığında (bazı suşları %20'e kadar tuzlu ortamda) yaşamsal aktivitesini devam ettirebilir. Etkenin yaşamsal aktivasyonu için min a_w 0.83 iken, toksin üretimi için min a_w 0.86 olduğu bilinmektedir. (Tatini 1973, Schmitt ve ark. 1990, Bremer ve ark. 2004, Adams ve Moss 2008, Chaibenjawong ve Foster 2011). Stafilokoklar bazı karbonhidratları (mannitol, maltoz ve sukroz) fermente ederek asit oluşturma yeteneğine sahip iken (Bremer ve ark. 2004, Hennekinne ve ark. 2012) üreyebilmek ve toksin üretebilmek için prolin, histidin, aspartat, glutamat, alanin, serin, magnezyum, fosfat ve potasyuma da ihtiyaç duyarlar (Hennekinne ve ark. 2012).

Staphylococcus aureus'un telluriti indirgeme yeteneği ve lesitinaz pozitif özelliği bulunmaktadır. Etkenin yumurta sarısı içeren Baird Parker Agar'da (Tellurit içeren besiyeri) üremesi sürecinde lesitinaz aktivitesi sonucu şeffaf bir zon ve telluriti telluriuma indirgemesi sonucu ise gri-siyah-parlak koloniler oluşur (Bennett ve Lancette 1998, Adams ve Moss 2008). Aynı zamanda, kanlı agarda *S. aureus* hemoliz meydana getirmektedir (Dinges ve ark. 2000).

Stafilokoklar DNase, fosfataz, fibrinolizin, hyaluronidaz, lipaz, penisilinaz, proteaz ve koagülaz gibi enzimleri üretebilirler (Waldvogel 2000, Winn ve ark. 2006, Bilgehan 2009). Bu enzimler infeksiyon alanının genişlemesi ve etkenin çoğalmasında rol alır (Dinges ve ark. 2000).

2.1.2. Virülens faktörleri

Staphylococcus aureus'un konakçılarda kolonize olabilmek, infeksiyon ve toksikasyon oluşturabilmek amacıyla ekzotoksinler sentezler (Müştak ve Esendal 2008). Bunlar virülens faktörleri olarak da bilinmektedir. Bunlar arasında α -toksin, β -toksin, γ -toksin, Υ -toksin Panton-Valentine Lökositidin, eksfoliatif toksin, enterotoksin, toksik şok sendrom toksin, lipazp, protein A, koagülaz, stafilokinaz, deoksiribonükleaz ve hyaluronidaz, bulunmaktadır. Ayrıca, etkenin kolonizasyonu sürecinde kapsular polisakkarit adezin, kollagen, klumping factor, fibrinektin bağlayan protein ve protein A gibi yüzey proteinleri de önemli rol oynamaktadır (Prevost ve ark. 1995, Lowy 1998, Dinges ve ark. 2000, Ladhani 2001, Win ve ark. 2006, Sudagidan ve Aydın 2010, Reygaert 2013, Otto 2014, Kong ve ark. 2016).

2.1.3. Enterotoksinleri ve özellikleri

Enterotoksinler, ısıya dayanıklı ve proteolitik enzim içeren tek zincirli polipeptidlerdir ve moleküler ağırlıkları 27-34 kDa arasında değişir (Balaban ve Rasooly 2000, Bhatia ve Zahoor 2007, Tarris ve ark. 2021, Lefebvre ve ark. 2022). Etkenin çoğunlukla ekspanensiyel üreme fazında üretilebilen proteinlerdir (Balaban ve Rasooly 2000).

Hennekinne ve ark. (2012), *S. aureus*'un bilinen 20'nin üzerinde enterotoksini olduğunu bildirmektedir. Bununla birlikte, SEA, SEB, SEC, SED ve SEE klasik enterotoksinleri olarak bilinmektedir (Argudin ve ark. 2010). Stafilokokal enterotoksinlerin nükleotid ve amino asit düzeyinde değişik oranlarda benzerliği var olmakla beraber (Bussche ve ark. 1993, Munson ve ark. 1998, Zhang ve ark. 1998, Fraser ve ark. 2008, Schelin ve ark. 2011) SEA, SEB, SEC, SED ve SEE'nin kodlandığı genler birbirinden farklıdır (Betley ve

Mekalanos 1985, Betley ve Mekalanos 1988, Couch ve ark. 1988, Bayles ve Iandolo 1989, Bohach ve ark. 1989, Hovde ve ark. 1990, Johns ve Khan 1998).

Gıdalarda 10^6 kob/g ve üzeri düzeyde uygun koşullarda enterotoksin sentezlendiğinden *S. aureus*'un düşük düzeyde bulunması risk oluşturmaz (Evenson ve ark. 1988, Adams ve Moss 2008, Tarris ve ark. 2021). Toubar ve ark. (2018), gıdalarda etken ve toksinin beraber bulunuyorsa uygulanan ısı zaman parametresinin *S. aureus*'u yıkımlarken toksin etkinliğini devam edebileceğini bildirmektedir. Bu SE'nin bileşimindeki disülfüt yapısına bağlanabilir (Jay ve ark. 2005). Araştırmacılar (Adams ve Moss 2008, Peliser ve ark. 2009, Ostyn ve ark. 2010, Yu ve ark. 2020, Tarris ve ark. 2021), gıdalarda 0.1 µg SE ve üzeri miktarlarda saptanması durumunda insanlarda toksikasyonun olabildiğini bildirmektedirler.

Bununla birlikte, Stafilocokal enterotoksinler (SE) ısıya oldukça dayanıklıdır. Holeckova ve ark. (2002) ve Le Loir ve ark. (2003) gıdalarda yetersiz ısı işlemleri uygulandığında etkenin ürettiği toksinlerin ısıya dayanıklı olduğunu ve toksikasyona sebep olabildiğini bildirmektedirler. Nitekim, bazı enterotoksinler gıdalarda uygulanan ısı işlemleri ile tamamen inaktive edilemezler. Enterotoksinlerin inaktivasyonu ısı, zaman parametresine ilaveten gıdanın matriks içeriğine (su aktivitesi, tuz yoğunluğu, pH ve kimyasal kompozisyonu) bağlı olarak değişebilir. Stafilocokal enterotoksinlerin bu özelliği ilgili yapılan bir araştırmada, SEA ve SEB için 100°C'de 90 dakika ve 120°C'de 30 dakikada inaktivasyon meydana gelirken, SEC 100°C'de 180 dakika sonrasında bile saptanırken, 120°C'de 60 dakika inaktive olduğu bildirilmektedir. Diğer bir ifade ile ısıya dayanıklılığı SEC>SEB>SEA olarak değişmektedir (Tibana ve ark. 1987).

Stafilocokal enterotoksinlerin insan sağlığı açısından risk yaratmasının nedenleri arasında sıcak ve soğuğa karşı direnç, düşük su aktivitesinde sentezlenebilme ($a_w > 0.86$), pepsin, tripsin ve kimozin gibi gastro intestinal enzimlere karşı dayanıklı olmasına bağlanabilir (Balaban ve Rasooly 2000, Le Loir ve ark. 2003, Argudin ve ark. 2010). Stafilocokal enterotoksinlerin bazı özellikleri Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Stafilokokal enterotoksinlerin bazı özellikleri

SE	Özellikleri	Gen	Kaynak
SEA	Moleküler ağırlığı; 27.1 kDa. Logaritmik fazın ilk dönemlerinde sentezlenmektedir. Bilinen 2 alt farklı tipi var. 771 baz çifti ve 257 aminoasit rezidüsünden oluşmakta ve <i>sea</i> tarafından sentezlenmektedir. En sıklıkla karşılaşılan stafilokokal enterotoksin olarak bilinmektedir	<i>sea</i>	Betley ve Mekalanos (1988) Borst ve Betly (1994) Balaban ve Rasooly (2000) Bhatia ve Zahoor (2007) Seo ve Bohach (2007) Wallin-Carlquist ve ark. (2010) Schelin ve ark. (2011) Yu ve ark. (2020)
SEB	Moleküler ağırlığı; 28.4 kDa. Logaritmik fazın ortasından sonra sentezlenmektedir. Genin kodlanma bölgesi 900 baz çiftinden oluşur.	<i>seb</i>	Johns ve Khan (1988) Ruzin ve ark. (2001) Jay ve ark. (2005) Pinchuk ve ark. (2010) Schelin ve ark. (2011) Yu ve ark. (2020)
SEC	Moleküler ağırlığı; 27500 kDa, Bilinen 3 farklı alt tipi vardır. Genin kodlanma bölgesi 801 baz çiftinden oluşur.	<i>sec</i>	Bohach ve ark. (1989) Hovde ve ark. (1990) Fitzgerald ve ark. (2001) Kuroda ve ark. (2001) Yarwood ve ark. (2002) Le loir ve ark. (2003) Novick ve ark. (2010) Schelin ve ark. (2011)
SED	Moleküler ağırlığı; 26360 kDa. Gıda toksikasyonlarında sıklıkla saptanmaktadır.	<i>sed</i>	Bayles ve Iandolo (1989) Le loir ve ark. (2003) Schelin ve ark. (2011)
SEE	Moleküler ağırlığı; 26425 kDa	<i>see</i>	Couch ve ark. (1988) Le loir ve ark. (2003) Schelin ve ark. (2011)

2.1.4. *Staphylococcus aureus*'un Gıdalarda Varlığı ve Halk Sağlığı Bakımından Önemi

Staphylococcus aureus sağlıklı insanların burun ve deri mikroflorasında bulunduğundan gıdaların stafilokoklarla kontamine olmasında insan portör konumundadır. Ayrıca, mastitisli hayvanlardan sağılan sütlerde karşımıza etken olarak sıklıkla çıkmaktadır (Adesiyun ve ark. 1998, Capurro ve ark. 1999, Le Loir ve ark. 2003).

Gıda intoksikasyonlarının seyri incelendiğinde *S.aureus* ile kontamine gıdaların tüketilmesinden yaklaşık 1-6 saat sonra bulantı, kusma, diyare ve abdominal kramp gibi semptomlar görülmektedir. Yine, *S. aureus* toksik şok sendromu, tromboflebit, endokardit, septik artrit, yumuşak doku ve osteoartiküler infeksiyonları, menenjit, osteomyelit, sepsis gibi hastalıkların primer etkeni olarak da karşımıza çıkmaktadır (Holmberg ve

Blake 1984, Murray 2005, Adams ve Moss 2008, Gelatti ve ark. 2009, Çakıcı ve ark. 2015, Tong ve ark. 2015, Lakhundi ve Zhang 2018). Enterotoksinler süperantijen aktivitesinden de sorumludurlar ve bu durum konakçı immun yanıtını daha fazla uyarak sitokin salınımının normalden daha fazla olmasına neden olur (Argudin ve ark. 2010).

Dünyanın değişik coğrafyasında yaşayan insanların doğal olarak tüketim alışkanlıkları farklıdır. Bununla beraber, stafilokokal gıda toksikasyonları insan sağlığı bakımından risk yaratanlar sıralamasında ilk sıralarda yer almaktadır. (Normanno ve ark. 2007b, Doyle ve ark. 2012, Sergelidis ve Angelidis 2017).

Farklı gıdalarda (et, süt ve ürünleri ile hazır gıdalar vb.) yapılan araştırmalar (Wieneke ve ark. 1993, Gundogan ve ark. 2005, Kitai ve ark. 2005, Vural ve ark. 2006, Pesavento ve ark. 2007, Hampikyan ve ark. 2008, Bendahou ve ark. 2009, Ertaş ve Gönülalan 2010, Giannatale ve ark. 2011, Kelman ve ark. 2011, Waters ve ark. 2011, Gücükoğlu ve ark. 2012, Rola ve ark. 2015, Can ve ark. 2017a-b, Ge ve ark. 2017, Irkın ve ark. 2021 ve Rortana ve ark. 2021) gıdalarda stafilokok ve *S.aureus*'un çok değişik düzey ve oranda saptandığını göstermektedirler.

Yetersiz ısı işlemi görmüş ürünler ve çapraz kontaminasyonlar olası toksikasyonların kök nedenleri arasında yer almaktadır (CDC 2002). Mikroorganizmaların süt ve süt ürünlerindeki varlığı; hayvanın derisindeki mikroflora, mastitisli hayvanların sütleri, süt tankları, sağım makineleri, alet-ekipman, sağım personeli, hava, su, yem ve toprak kaynaklı olabilir. Üretim sürecinde çalışan personel ve işletmenin fiziki yapısı da bu süreçte rol oynamaktadır (Çakıcı ve ark. 2015, Elmalı 2019). Sütün kontaminasyonunda subklinik mastitisli hayvanlar göz ardı edilmemelidir (Can ve ark. 2017a).

Süt ve ürünlerinin stafilokokların gelişmesi ve toksin oluşturması için uygun ortam ve bileşimde olduğu bilinmektedir. Nitekim konu ile ilgili yapılan araştırmalar süt ve ürünlerinden değişik oranlarda *S.aureus* ve SE saptandığını göstermektedir (Todd ve ark. 1983, Erol ve ark. 1996, Gümüş ve ark. 2005, Aydın ve ark. 2011, Can ve ark. 2017b).

Sağımdan sonra çiğ sütün sıcaklığının kısa süre içerisinde 4°C'ye düşürülerek, süt işleme merkezlerine en fazla 4°C'de ve en kısa sürede transfer edilmesi gerekmektedir. Depolama tesislerinden süt işleme merkezlerine soğuk zincir altında (4°C'de) gönderilen çiğ sütler en kısa sürede ısıl işlem uygulanarak pastörizasyon, UHT süt, steril süt, fermente süt ürünleri yada süt bazlı ürünler olarak değerlendirilmelidir. Sağım ünitelerinin ve ürüne işleme alanlarının temiz mekanlar olması primer ve sekonder kontaminasyonun

engellenmesinde önemlidir (Elmalı 2019). Sütlerin sağımdan sonra uygun olmayan sıcaklık ve koşullarda tutulması, pastörizasyon sıcaklığı koşullarının yetersizliği, pastörizasyon sonrası kontaminasyon, personel hijyeni ve işletmedeki uygun olmayan hijyenik koşullar süt ve ürünlerindeki enterotoksin oluşumunu artırır (Catsaras ve ark. 1970).

Food and Agriculture Organization (FAO) (2022), antibiyotik direncini toplum sağlığını tehdit eden önemli bir unsur olarak görmekte ve direnç oluşumunu önlemeye yönelik kontrol programlarının geliştirilmesini önermektedir.

2.1.5. *Staphylococcus aureus* ve Antibiyotik Direnci

Antibiyotikler etkenin çoğalmasını durduran (bakteriyostatik) ya da yıkımlayan (bakterisidal) biyolojik veya sentetik kaynaklı olan maddeler olarak tanımlanabilir (Saygı ve ark. 2012). Mikroorganizmalar yaşamsal aktivasyonuna devam edebilmek için antibiyotiklerin etki mekanizmalarına karşı direnç geliştirmektedir (Yüce 2001). *S. aureus*'un intoksikasyon dışındaki özelliklerinden biri de antibiyotiklere gösterdiği dirençtir (Normanno 2007b).

Stafilokokların tedavisinde beta-laktam grubu antibiyotikler ilk sentezlenen antibiyotikler olarak bilinmektedir. Zamanla antibiyotiklerin bilinçsizce kullanımı sonucunda gelişen direnç yeni nesil antibiyotiklerin keşfedilmesine neden olmuştur (Tarhane ve Yarsan 2022).

Staphylococcus aureus ve antibiyotiklere karşı gelişen direnç mekanizması Çizelge 2. 2'de verilmiştir (Reygaert 2013).

Çizelge 2.2. *Staphylococcus aureus* direnç mekanizması (Reygaert 2013).

Antibiyotik Grupları	Direnç Mekanizmaları
B-laktamlar	B-laktamaz ile inaktivasyon Değiştirilmiş Penisilin--Protein bağlama (PBP2a) Hedefleri
Glikopeptidler	VISA - Hücre Duvarı Kalınlaşır VRSA - modifiye edilmiş hedef
Lipopeptitler	Hücre zarının yükünde değişiklik -İlacın bağlanmasında azalma
Aminoglikozidler	Aminoglikoziti modifiye eden enzimler hedefi değiştirir.
Tetrasiklinler	Aktif Akış Ribozomal koruma - Yarışmacı bağlama
Kloramfenikol	İlacın asetilasyonu – İnaktivasyon
Makrolitler ve Linkozamidler	Ribozom metilasyonu- Bağlanmada azalma
Okzalidinozlar	Ribozom mutasyonu Ribozom metilasyonu
Streptograminler	Ribozom metilasyonu
Florokinolonlar	Gyrase -Değiştirilmiş hedef Topoizomeraz IV - Değiştirilmiş hedef - Aktif Akış
Metabolik İnhibitörler	Hedef enzimin modifikasyonu

2.1.6. Korunma ve Kontrol

-Subklinik mastitis, mastitis, diğer meme hastalık ve lezyonlarında mikroflorada bulunan *S.aureus* primer kontaminasyon kaynağı olarak risk yaratmaktadır. Bu nedenle yetiştirilen hayvanlarda meme sağlığı yönünden düzenli mastitis ve benzeri testlerle *S. aureus* yönünden incelenmelidir. Ayrıca sağım öncesinde uygun dezenfektanlar kullanılarak meme dezenfeksiyonu sağım başı ve sonu tekrarlanmalıdır.

-Ürünün ana bileşimini oluşturan süt, krema ve yumurtanın hijyenik kalitesi önemlidir. Özellikle bazı stafilokokal enterotoksinlerin düşük ısı zaman parametrelerinde yaşamsal aktivasyonunu devam ettirdiği düşünüldüğünde süt sağımdan sonra en kısa

sürede +4°C'ye soğutulmalı ve en kısa sürede ısı işlemi görmelidir. Böylelikle süt kaynaklı mikrobiyel kontaminasyon elimine edilebilecektir.

-İşletmelerde hamam böceği, fare ve sinek gibi mikroorganizma taşıyabilen canlıların kontrolü sağlanmalıdır.

-Üretim, işleme, muhafaza, taşıma ve depolama koşullarındaki hijyen ve sanitasyonun uygulamaları mevcut protokoller doğrultusunda yapılmalıdır. İşletmedeki süt tankları, alet-ekipmanların dezenfeksiyon ve sterilizasyonu uygun nitelikteki dezenfektan ile ısı-zaman uygulamalarıyla sağlanmalıdır.

-Gıda işletmesinde çalışan personelin periyodik portör kontrolü yapılmalıdır. Çalışanların eldiven ve maske takması mikrobiyel riski azaltmada önemli rol oynar.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Bu araştırmada, 2021 yılının Temmuz ve Kasım aylarında Adana ilinde farklı pastanelerde üretilip satışa sunulan 35 adet çikolatalı, 35 adet meyveli ve 30 adet sade toplamda 100 adet kremalı yaş pasta örneği materyal olarak kullanıldı. Ürünler laboratuvara soğuk zincir (+4°C) altında getirildi ve 24 saat içerisinde mikrobiyolojik analizleri gerçekleştirildi.

3.1.1. Mikrobiyolojik Analizlerde Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasal Maddeler

Baird Parker Agar Base (Oxoid, CM0275)

Hazır besi yerinden 63 gram terazide tartıldı, besi yeri 1 litre distile suda ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda çözündürüldü, pH 7.3 ± 0.2 'ye ayarlandı ve otoklavda 121°C'de 1 atmosfer basınçta 15 dakika sterilize edildi. Sterilizasyon sonrasında yaklaşık 50°C'de besi yeri üzerine Egg-yolk tellurite emulsion'dan (Merck, 1.03785.0007) 50 ml eklendi. Erlenmayer karıştırıldı, aseptik koşullarda steril tek kullanımlık petrilere döküldü. Besi yerleri donduktan sonra +4°C'de muhafaza edildi.

Egg Yolk –Tellurite Emulsion (%20) (Merck, 1.03785.0001)

50 ml egg yolk tellurite emülsiyon içeren şişe içeriği, otoklavlanmış ve 50°C'ye soğutulmuş Baird parker agara eklendi ve karıştırıldı.

Brain Heart Infusion Broth (Merck, 1.10493.0500)

Hazır besi yerinden 37 gram terazide tartılarak 1 litre distile su içerisinde ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda çözündürüldü. Besi yerinin pH'ı 7.4 ± 0.2 'ye ayarlandı. Besi yeri 16x150 mm tüplere 5 ml paylaştırılarak, 121°C'de 1 atmosfer basınçta 15 dakika sterilize edildi. Sterilizasyon işlemi bittikten sonra broth'lar +4°C'de muhafaza edildi.

Bacteriological Peptone (Oxoid, LP0037)

Hazır besi yerinden 1 gram hassas terazi ile tartıldı. Besi yeri 1000 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcıda çözündürüldü ve eritildi, takiben besi yerinin pH'ı $6.2 \pm$

0.2'ye ayarlandı ve otoklavda 121°C'de 1 atmosfer basınç altında 15 dakika sterilize edildi. Sterilizasyon işlemi bittikten sonra peptonlu su +4°C'de muhafaza edildi.

Bactident Coagulase (Merck 1.1336)

Liyofilize EDTA'lı tavşan plazması üzerine 3 ml steril distile su ilave edildi ve şişe vortekslendi. Koagulaz testi Harrigan (1998)'in önerdiği protokole gerçekleştirildi.

Katalaz testi

%30'luk Hidrojen peroksit (H₂O₂) stok çözeltisinden %3'lük çözelti hazırlandı. Katalaz testi Harrigan (1998)'in önerdiği protokole göre gerçekleştirildi.

Gliserinli- Brain Heart Infusion Broth (%15'lik)

İzolatların muhafazası amacıyla hazırlandı. Hassas terazi kullanarak hazır besi yerinden 3.7 g tartıldı ve erlenmayere konuldu. Mezüre 15 ml gliserin ve 100 ml çizgisine kadar distile su eklendi. Karışım erlenmayere aktarıldı, karışım karıştırıldı ve sonra 1 ml'lik ependorf tüplere besi yeri paylaştırıldı, takiben 121 °C'de 1 atm basınçta 15 dakika sterilize edildi. Steril besi yerleri -20°C'de muhafaza edildi.

3.1.2. Moleküler Analizde Kullanılan Malzemeler, Nitelik ve Bileşimleri

Moleküler analizlerde kullanılan malzemelerin, nitelik ve bileşimleri Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Moleküler analizlerde kullanılan malzemeler, nitelik ve bileşimleri

Ürün	Niteliği	Bileşimi
Hazır master miks	Ampliqon, PCR enzymes, Reagents	Tag 2x Master mix, 25mM mgCl ₂
DNA ladder	100 bp ladder (Thermo Fisher Scientific, SM0243)	-
10XTAE çözeltisi	SNP biyoteknoloji, 1909S7	Tris 0.4 M, Asetik asit 0.4 M, EDTA 0.01 M
Agarose	Sigma, A9539	-
Red safe	abm, cat no; G108	Protokol gereği hazırlanan agaroz jele %5 oranında katıldı
6xLoading dye	Thermo Fisher Scientific R0611	

10XTAE çözeltisi (SNP biyoteknoloji, 1909S7)

Stok çözeltiden 25 ml 10XTAE alınarak bir mezüre aktarıldı ve üzerine 475 ml distile su eklenerek 0.5xTAE çözeltisi hazırlandı ve +4°C’de muhafaza edildi.

Agarose (Sigma, A9539)

1.5 gram agaroz terazide tartıldı. Üzerine 100 ml 0.5x TAE eklenerek mikrodalga fırında eritildi. Agaroz 60-70°C sıcaklığa kadar soğutuldu, takiben üzerine %5 red safe (abm, G108) eklendi ve karıştırıldı. Agaroz jel kabına döküldü ve donduktan sonra jel elektroforez tankına yerleştirildi.

Primerler

Brakstad ve ark. (1992) ve Mehrotra ve ark. (2000) tarafından önerilen gen primer çiftleri kullanıldı. Primerler, sentezleyen firmanın önerdiği biçimde steril ultrasaf su ile 100 pmol/μl konsantrasyonda sulandırılarak stok primer çözeltisi hazırlandı. Stok primer çözeltiden 10 μl alındı ve üzerine 90 μl safsu eklenerek 10 pmol/μl konsantrasyonda primerler hazırlandı ve moleküler analizlerde kullanıldı.

3.1.3. DNA Ekstraksiyonunda Kullanılan Malzemeler ve Nitelikleri

DNA ekstraksiyonunda kullanılan malzemeler ve nitelikleri Çizelge 3.2.’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. DNA ekstraksiyonunda kullanılan malzemeler, nitelikleri ve bileşimleri

DNA ekstraksiyon kiti (Vivantis, Nucleic Acid Extraction Kit, GF-1)	DNA ekstraksiyonu üretici firmanın önerdiği direktiflere göre uygulandı.
Lysozyme (50mg/ml) (Sigma, L2879)	Hassas terazide 50 mg tartıldı. Lysozyme ependorf tüp içerisinde steril 1 mililitre distile suda vortekslenerek eritildi. Hazırlanan karışım -20°C’de muhafaza edildi.
Proteinase K (Sigma, lyophilized powder, P6556)	Yürütülen araştırmada 20 mg/ml olarak kullanıldı
Ultra Saf su (SNP biyoteknoloji)	Ultra saf su +4°C’de muhafaza edildi.

3.1.4. Pozitif Kontroller

Araştırmada kullanılan *seb*, *sec*, *sed*, ve *see* genlerinin pozitif kontrolleri Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi ve *sea* geninin pozitif kontrolü ise İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesinden temin edildi.

3.2. Yöntem

3.2.1. Örneklerin Alınması

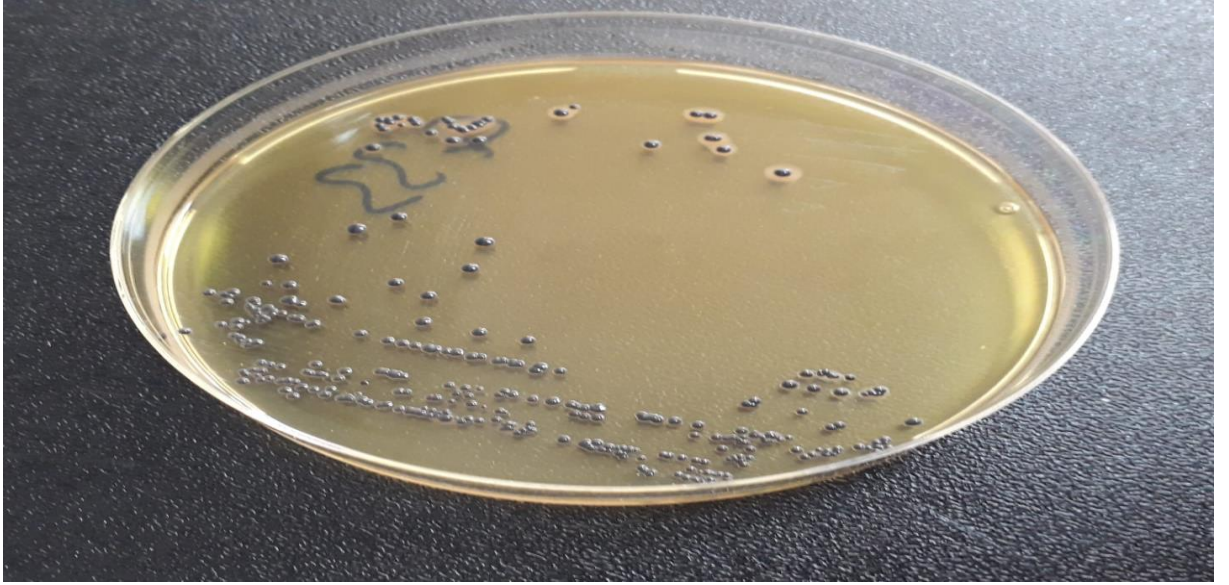
Aseptik koşullarda toplanan yaklaşık 100 gram kremalı pasta örnekleri soğuk zincir (+4°C) altında laboratuvara getirildi ve *S. aureus* varlığı ve enterotoksin sentezinden sorumlu (*sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see*) genler bakımından analiz edildi.

3.2.2. Mikrobiyolojik Analizler

S. aureus varlığı klasik kültür metodu olarak Tallent ve ark. (2016), PCR analizinde ise Brakstad ve ark. (1992) tarafından önerilen *S.aureus*'a özgü *nuc* geni, enterotoksin sentezleyen genlerin varlığının saptanmasında ise Mehrotra ve ark. (2000) tarafından önerilen gen primer çiftleri kullanıldı.

3.2.2.1. *Staphylococcus aureus* İzolasyon ve İdentifikasyonu

Analiz edilecek örneklerden 10 gram alınarak steril polietilen poşetler konuldu, her bir steril polietilen poşetin içerisine 90 ml peptonlu su (%0.1) eklendi. Steril polietilen poşetlerin içerisindeki örnekler Stomacherde (Interscience, France) yaklaşık 2 dakika homojenize edildi. Önceden hazırlanan steril Baird parker agarlara (BP- Egg yolk tellurite içeren) öze kullanılarak çizme plak tekniği ile ekim yapıldı. Petriler 35°C'de 24-48 saat aerob koşullarda inkübe edildi. Bu sürenin sonunda üreyen tipik siyah, parlak, zon oluşturan lesitinaz pozitif koloniler ile atipik zon oluşturmeyan koloniler şüpheli kabul edildi (Şekil 3.1). Şüpheli kolonilere Gram boyama, katalaz, koagülaz testleri ve DNA ekstraksiyonu yapıldı.



Şekil 3.1. *S. aureus* kolonilerinin BP agardaki görünümü

3.2.3. Moleküler Analizler

3.2.3.1. DNA Ekstraksiyonu

BP agarda üreyen tipik ve atipik şüpheli kolonilerden Brain heart infusion brota (BHI) ekim yapıldı. BHI'lar 24 saat aerob koşullarda 35°C'de inkübe edilerek zenginleştirme işlemi yapıldı. (Şekil 3.2.) Bu süre sonunda bulanıklık oluşturan tüpler DNA ekstraksiyonunda kullanıldı.



Şekil 3.2. *S. aureus* kolonilerinin BHI'da üreme görünümü (Soldaki resim pozitif, sağdaki resim negatif)

DNA ekstraksiyonunda hazır ticari kit (Vivantis, GF-1) kullanıldı. DNA ekstraksiyonu üretici firmanın önerdiği protokole göre yapıldı.

3.2.3.2. PCR analizi

Moleküler analizlerde, Brakstad ve ark. (1992) tarafından önerilen *S.aureus*'a özgü *nuc* gen primer çiftleri kullanıldı. Kullanılan gen primer çiftleri Çizelge 3.3.'de verilmiştir. PCR analizinde hazır master miks kullanıldı (Ampliqon, PCR enzymes, Reagents). Analizde kullanılan PCR karışımı ticari firmanın önerdiği aralıkta Çizelge 3.4'de verildiği biçimde toplam hacim 20µl olarak hazırlandı. Keyvan ve Özdemir (2016) ve Mehrotra ve ark. (2000)'nın önerdiği amplifikasyon koşulları Çizelge 3.5. verildiği biçimde uygulandı.

Çizelge 3.3. *S.aureus* identifikasyonunda kullanılan gen primer çiftleri

Hedeflenen gen	Primer sekansı (5'-3')	Amplifikon büyüklüğü (bp)	Kaynak
<i>nuc</i>	F-GCG ATT GAT GGT GAT ACG GTT	279	Brakstad ve ark. (1992)
	R-AGC CAA GCC TTG ACG AAC TAA AGC		

F; Forward

R; Reverse

Çizelge 3.4. Araştırmada kullanılan PCR karışımı

PCR karışımı	Miktar
Hazır Master miks (Ampliqon, PCR enzymes, Reagents)	10 µl
<i>nuc</i> -F1	0,5 µl
<i>nuc</i> -R1	0,5 µl
PCR Water	7 µl
DNA	2 µl
Toplam	20 µl

F; Forward

R; Reverse

Çizelge 3.5. Araştırmada uygulanan amplifikasyon koşulları (Keyvan ve Özdemir 2016, Mehrotra ve ark. 2000).

Basamaklar	Isı-zaman
Ön Denatürasyon	94°C'de 4 dk
Denatürasyon	94°C'de 30 sn /35 siklus
Annealing (Bağlanma)	57,5°C'de 30 sn/35 siklus
Extension (Uzama)	72°C'de 40 sn/35 siklus
Son uzama	70°C'de 10 dk

3.2.4. Enterotoksin sentezleyen genlerin analizi

S.aureus pozitif olarak saptanan izolatlar stafilokokal enterotoksinlerin sentezinden sorumlu genler olan *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* bakımından Mehrotra ve ark., (2000) tarafından önerilen gen spesifik primerler kullanılarak analiz edildi. Araştırmada kullanılan hedef genler, primer sekansları ve amplifikon büyüklükleri (bp) Çizelge 3.6’de verilmiştir.

Moleküler analizde birbirine yakın bp aralıklardaki toksin üreten genleri jel elektroforezde kolay yorumlayabilmek için, *sea*, *sec* ve *see* primerlerini içeren PCR karışımı SET 1 (Çizelge 3.7) ile *seb* ve *sed* primerlerini içeren PCR karışımı ise SET2 (Çizelge 3.8) olarak hazırlanarak ayrı ayrı amplifiye edilmiştir.

Çizelge 3.9’da ise *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* hedef genleri için uygulanan amplifikasyon koşulları verilmiştir (Mehrotra ve ark. 2000).

Çizelge 3.6. Araştırmada kullanılan gen primer çiftleri

Hedeflenen Genler	Primer sekansı (5’-3’)	Amplifikon Büyüklüğü (bp)	Kaynak
<i>sea</i>	F-GGTTATCAATGTGCGGGTGG R-CGGCACTTTTTCTCTTCGG	102	Mehrotra ve ark. (2000)
<i>seb</i>	F-GTATGGTGGTGTAACTGAGC R-CCAAATAGTGACGAGTTAGG	164	
<i>sec</i>	F-AGATGAAGTAGTTGATGTGTATGG R-CACACTTTTAGAATCAACCG	451	
<i>sed</i>	F-CCAATAATAGGAGAAAATAAAAAG R-ATTGGTATTTTTTTCGTTTC	278	
<i>see</i>	F-AGGTTTTTTCACAGGTCATCC R-CTTTTTTTTCTTCGGTCAATC	209	

F; Forward

R; Reverse

Çizelge 3.7. Araştırmada *sea*, *sec* ve *see* genleri için kullanılan PCR karışımı (SET 1)

PCR karışımı	Miktar
Hazır Master miks	12,5 µl
<i>sea</i> F	1 µl
<i>sea</i> R	1 µl
<i>sec</i> F	1 µl
<i>sec</i> R	1 µl
<i>see</i> F	1 µl
<i>see</i> R	1 µl
Ultra saf su	5,5 µl
DNA	1 µl
Toplam hacim	25 µl

F; Forward

R; Reverse

Çizelge 3.8. Araştırmada *seb* ve *sed* genleri için kullanılan PCR karışımı (SET2)

PCR karışımı	Miktar
Hazır Master miks	12,5 µl
<i>seb</i> F	1 µl
<i>seb</i> R	1 µl
<i>sed</i> F	2 µl
<i>sed</i> R	2 µl
Ultra saf su	5,5 µl
DNA	1 µl
Toplam hacim	25 µl

F; Forward

R; Reverse

Çizelge 3.9. Araştırmada *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* genleri için uygulanan amplifikasyon koşulları (Mehrotra ve ark. 2000).

Ön Denatürasyon	94°C'de 5 dk
Denatürasyon	94°C'de 2 dk /35 siklus
Annealing (Bağlanma)	55°C'de 2 dk/35 siklus
Extension (Uzama)	72°C'de 1 dk/35 siklus
Son uzama	72°C'de 7 dk

Uygulanan amplifikasyon işlemleri sonucunda PCR ürünlerini içeren ampliconlar, pozitif ve negatif kontrol'den 5 µl (parafilm kağıt üzerinde 1 µl 6xloading dye ile karıştırılarak) ve DNA marker'den ise 3 µl (100 bp ladder; Thermo Fisher) %1,5 'lik konsantrasyonda hazırlanan agaroz jele (%5 oranında red safe içeren) yüklendi. Sonra, 120 volt elektrik akımında 50 dakika süre ile elektroforezde (CS-300V, England) yürütülerek, elektroforez işlemi yapıldı. Bu süre sonunda, ultraviyole transilluminatör jel görüntüleme cihazında (UVP, USA) DNA marker, pozitif ve negatif kontrol ile spesifik DNA bantları görüntülenerek değerlendirildi. Sırasıyla yaklaşık 279, 102, 164, 451, 278 ve 209 bp'de bant veren ampliconlar *nuc*, *sea*, *sec*, *sed* ve *see* geni bakımından pozitif olarak değerlendirildi. Araştırmada *seb* bulunmadı. Doğrulanmış izolatlar gliserinli broth içerisinde -20°C'de muhafaza edildi.

3.2.5. İstatistiksel Değerlendirme

Araştırma sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde yüzdelik olarak hesaplamalar yapıldı.

4. BULGULAR

Bu çalışmada Adana ilinde bulunan değişik pastanelerden Temmuz 2021 ve Kasım 2021 tarihlerinde toplanan 35 adet çikolatalı, 35 adet meyveli ve 30 adet sade olmak üzere, toplam da 100 kremalı yaş pasta örneğinden *S.aureus* varlığı ve elde edilen izolatlarda enterotoksin oluşumundan sorumlu olan *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* genlerinin varlığı araştırılmıştır.

Klasik kültür metodu ve moleküler analiz sonucunda; Analiz edilen 100 kremalı yaş pasta örneğinin 15'inden (%15) *S.aureus* izole edilmiştir. *Staphylococcus aureus* pozitif örneklerinin 3 adedi (%20) çikolatalı, 8 adedi (%53.3) meyveli ve 4 adedi (26.7) ise sade yaş pasta olarak belirlendi (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Farklı pasta örneklerinden izole edilen *S. aureus* sayı ve oranları

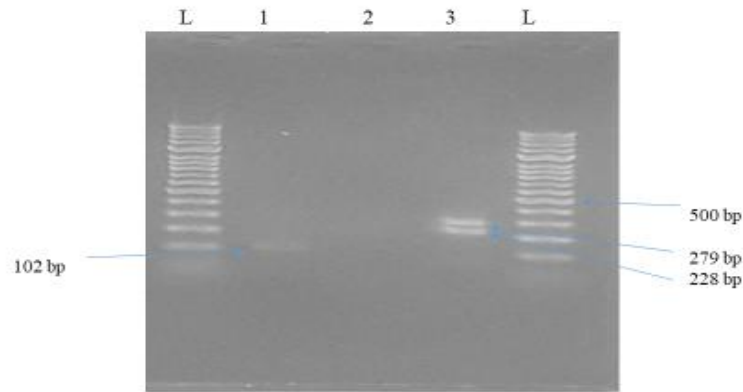
Örnek	Sayısı	<i>S.aureus</i> pozitif	Toplam <i>S.aureus</i> pozitif örneklerin içerisindeki oranı
Çikolatalı	35	3 (%8.5; 3/35)	%20 (3/15)
Meyveli	35	8 (%22.8; 8/35)	%53.3 (8/15)
Sade	30	4 (%13.3; 4/30)	%26.7 (4/15)
Toplam	100	15 (%15; 15/100)	%100 (15/15)

Elde edilen *S.aureus* izolatlarından 8'i (%53.3; 8/15) Temmuz, 7'si (% 46.7; 7/15) Kasım ayında üretilip tüketime sunulan pastalardan saptanmıştır. *S.aureus* bakımından pozitif bulunan 15 adet izolatta enterotoksin sentezinden sorumlu *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* genleri değerlendirildiğinde; *sea* 3 (%20), *sec* 4 (%26.7), *sed* 15 (%100), *see* 2 izolatta (%13.3) saptanırken, *seb* genini hiçbir izolatın taşımadığı bulundu.

Temmuz ayı içerisinde *S.aureus* izolatlarında SE sentezleyen genlerin oranı %45.83 (11/24) iken, kasım ayı içerisinde %54.16 (13/24) olarak saptandı. Temmuz ayında predominant gen *sed* (%72.72) takiben *sec* (%27.27) iken kasım ayında sıralama *sed* (%53.84), *sea* (23.07), *see* (%15.38) ve *sec* (%7.69) olarak saptandı. Pozitif izolatlarda saptanan enterotoksin sentezleyen genlerin ay ve örnekler göre dağılımı Çizelge 4.2'de detaylı olarak verilmiştir. İzolatların jel elektroforezdeki görüntüleri ise Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de verilmiştir.

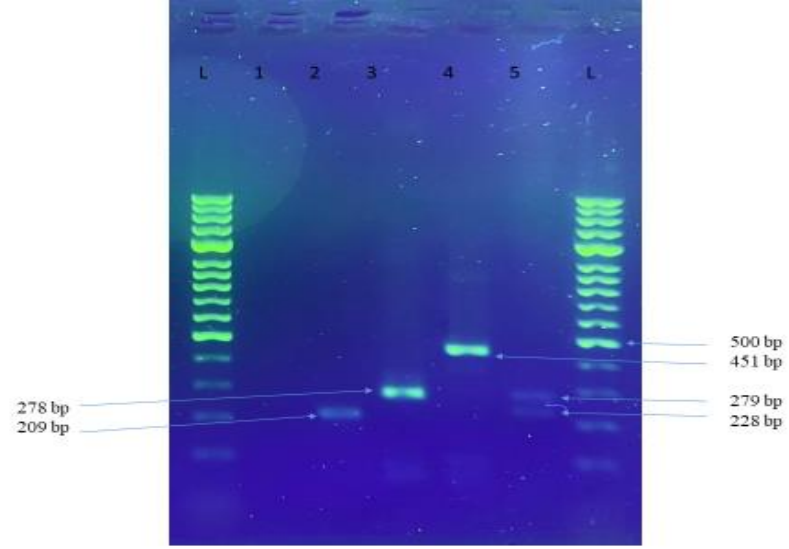
Çizelge 4.2. *S.aureus* izolatlarından saptanan enterotoksin sentezleyen genlerin ay ve örneklerle göre dağılımı

ÖRNEK İZOLAT/AY	sea	%	Seb	%	sec	%	sed	%	see	%
ÇİKOLATALI										
1. İzolat/Temmuz	-		-		+		+		-	
2. İzolat/Kasım	+		-		+		+		-	
3. İzolat/Kasım	-		-		-		+		-	
TOPLAM	1	%33.3 (1/3)	0	%0	2	%50 (2/4)	3	%20 (3/15)	0	%0
MEYVELİ										
4. İzolat/Temmuz	-		-		-		+		-	
5. İzolat/Temmuz	-		-		-		+		-	
6. İzolat/Temmuz	-		-		+		+		-	
7. İzolat/Temmuz	-		-		-		+		-	
8. İzolat/Kasım	-		-		-		+		+	
9. İzolat/Kasım	+		-		-		+		-	
10. İzolat/Kasım	-		-		-		+		-	
11. İzolat/Kasım	-		-		-		+		-	
TOPLAM	1	%33.3 (1/3)	0	%0	1	%25 (1/4)	8	%53.3 (8/15)	1	%50 (1/2)
SADE										
12. İzolat/Temmuz	-		-		-		+		-	
13. İzolat/Temmuz	-		-		+		+		-	
14. İzolat/Temmuz	-		-		-		+		-	
15. İzolat/Kasım	+		-		-		+		+	
TOPLAM	1	%33.3 (1/3)	0		1	%25 (1/4)	4	%26.7 (4/15)	1	%50 (1/2)
GENEL TOPLAM	3	%100	0	%0	4	%100	15	%100	2	%100



Şekil 4.1. İzolatların jel elektroforezde görüntüleri

L; Ladder (100 bp), 1; sea, 2; Negatif Kontrol (Ultra saf su), 3; *S. aureus* ve *Staphylococcus* spp. (Pozitif Kontrol)



Şekil 4.2. İzolatların jel elektroforezde görüntüleri

L; Ladder (100 bp), 1; Negatif Kontrol (Ultra saf su), 2; see, 3; sed, 4; sec, 5; *S. aureus* ve *Staphylococcus* spp. (Pozitif Kontrol)

5. TARTIŞMA

Bu araştırmada analiz edilen 100 kremalı yaş pasta örneğinin 15'inden (%15) *S.aureus* saptandı. *Staphylococcus aureus* varlığının analiz edilen kremalı pasta örneklerine göre dağılımı; 3 adedi (%20) çikolatalı, 8 adedi (%53.3) meyveli ve 4 adedi (26.7) ise sade yaş pasta örneği olarak belirlendi. Pozitif izolatların genotipik analizinde *sea* 3 (%20), *sec* 4 (%26.7), *sed* 15 (%100), *see* 2 izolatta (%13.3) saptanırken, *seb* hiçbir izolattan saptanmadı.

Konu ile ilgili olarak yapılan ulusal ve uluslararası araştırmalar incelendiğinde, kremalı pastalarda çok geniş bir skalada *S.aureus* varlığı gözlemlenmektedir. Todd ve ark. (1983), 465 adet kremalı turtanın 2 adedinden (<%1) *S.aureus* saptandığını bildirmektedirler. Yücel ve ark. (1992), Bursa'da çeşitli pastanelerden toplanan 41 adet kremalı, çikolatalı, meyveli ve kakaolu pasta örneğinde stafilokok düzeyinin 10^1 - 10^5 kob/g aralığında değiştiğini bildirmektedirler. Erol ve ark. (1996), Ankara'da 16 farklı pastaneden temin edilen 15 sade kremalı pastanın 11 adedinden 10^2 - 10^5 kob/g, 53 kakaolu kremalı ve 32 meyveli kremalı pastanın tamamından 10^2 - 10^5 kob/g düzeyinde ve toplam olarak 100 kremalı pasta örneğinin 96'sından koagülaz pozitif stafilokok izole edildiğini bildirmektedir.

Akgün ve ark. (1997), Bursa ilinde 10 adet pastaneden alınan 30 adet kremalı pastanın 24 adedinde 10^2 - 10^5 kob/g arasında stafilokok, 15 örnekte ise *S.aureus* saptandığını, *S.aureus* düzeyinin 10^3 - 10^5 kob/g aralığında değiştiğini bildirmektedirler. Rosec ve ark. (1997), Güney Fransa'da farklı gıdalardan izole edilen *S.aureus*'ların enterotoksijenik özellikleri üzerine yaptıkları araştırmada pastalardan izole edilen 28 izolattın 18 adedinde enterotoksijenik özelliği olduğunu bildirmektedirler.

Fueyo ve ark. (2005), sağlıklı bireylerden ve el teması olan gıdalardan izole edilen 269 adet *S.aureus* izolatının incelendiği araştırmada, tek başına olarak SEA 9, SEB 8, SEC 21 ve SED'nin 9 izolatta, toplamda ise SEA ve SEC'nin herbirinin 36 izolat (%9.7), SEA+SEC 2, SEC+SED 3 ve SEA+SED'nin 1 izolatta saptandığını bildirmektedirler. Yine aynı araştırmada, tüketime sunulan gıdalar içerisinde olan kekten SEA, SEB, SEC, SED'nin izole edildiğini, SED'nin ise en büyük oranda kekten izole edildiği bildirilmiştir.

Gümüş ve ark. (2005), Tekirdağ ilinde faaliyet gösteren 30 adet pastaneden temin edilen meyveli ve çikolatalı olmak üzere toplam 120 yaş pasta örneğinin incelendiğini, meyveli ve çikolatalı 120 adet örneğin %36'sından *S. aureus* saptandığını bildirmektedirler. 60 meyveli pasta örneğinin 22 adedinden saptanan *S.aureus* düzeyinin 10^2 - 10^3 kob/g arasında değiştiğini, 60 çikolatalı pasta örneğinin 21 adedinden saptanan *S.aureus* düzeyinin 10^2 - 10^3 kob/g aralığında olduğunu bildirmektedirler. Evren (2006), Samsun ilinde tüketime sunulan 34 adet kremalı pasta örneğinden (17 adet kakaolu ve 17 adet meyveli) *S. aureus* saptanmadığını bildirmektedir. Meldrum ve ark. (2006), Birleşik Krallıkta 2003 Kasım-2005 Mart tarihleri arasında tüketime sunulan 433 adet kremalı kekta yapılan analizlerde *S.aureus* düzeyinin örneklerin %0.2'sinde 10^2 - 10^4 kob/g veya $>10^4$ kob/g arasında olduğunu bildirmektedirler.

Oh ve ark. (2007), Kore'de analiz edilen 38 adet kremalı kekin %31.6'sından ve 342 adet pirinçli kekin %33.9'undan *S.aureus* izole edildiğini, pirinçli keklerde enterotoksijenik *S.aureus* oranının % 59.1 ve ısı işlemi görmüş ürünlerde (kremalı kek, krem kek ve ekmek) ise %56.3 olarak saptandığını, *sea*'nın predominant karakter gösterdiğini bildirmektedirler. Huong ve ark. (2010), 48 adet süt örneğinden % 35.4 ve 55 adet pirinç kek örneğinden %16.3 oranında *S.aureus* saptadıklarını bildirmektedirler. Araştırmacılar aynı araştırmada süt örneklerinin 3'ünden SEA, 2'sinden SEB, 3'ünden SEC, pirinçli kek örneklerinin 3'ünden SEB saptandığını bildirmektedirler. Ljupco ve ark. (2010), Makedonyada 2009 yılında 16 farklı noktadan temin edilen 70 kek ve pastanın *S.aureus* bakımından riskli olmadığını bildirilmiştir.

Aydın ve ark. (2011), Marmara bölgesinden temin ettikleri 141 adet ısı işlemi görmüş ürün (pasta, yufka, kek), 303 çiğ süt ve 452 adet süt ürünü (krema, peynir, yağ ve yoğurt) inceledikleri araştırmada sırasıyla 5, 31 ve 36 örnekten *S.aureus* enterotoksin sentezleyen gen izole edildiğini, *sea* sırasıyla %0, %9.7 ve %11.1, *sec* %0, %22.6, %8.3, *sea+sec* %0, %3.2, %2.8, *seb+sec* %0,%0, %2.8 oranında saptandığını bildirmektedirler.

Can ve Yalçın (2011), Mersin'de 50 farklı pastaneden temin edilen 50 kremalı pasta örneğinin 5 adedinden *S.aureus* izole edildiğini bildirmektedirler. Giannatale ve ark. (2011), 55 adet kremalı pasta örneğinden %3.6 oranında *S.aureus* izole edildiğini ve *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see*'nin saptanmadığını bildirmektedirler.

Aslan (2012), 25 adet yaş pasta örneğinin %36'sından *S. aureus* izole edildiğini, *S.aureus* düzeyinin 10^1 - 10^4 kob/g aralığında değiştiğini, 4 izolatin 10^3 kob/g düzeyinin

üzerinde olduğunu ve 2 örnekte (%8) enterotoksin saptandığını bildirmektedir. Jafaeri ve ark. (2013), 35 adet kek ve turta örneğinden sırasıyla %94.4 ve %48 oranında *S.aureus* saptandığını bildirmektedirler.

Baumgartner ve ark. (2014), ön ısıtma işlemi görmüş pastalarda bakteri düzeyinin en fazla 2.9×10^5 kob/g olduğunu, izole edilen izolatlarda ise *sec*, *seg* ve *sei* genlerinin saptandığını bildirmektedirler. Tang ve ark. (2015), Çinde 2010 yılı içerisinde 1 adet süt ürünü, 5 adet kek, 3 adet şekerleme ve 2 adet yumurta ürününde yaptıkları araştırmada *S.aureus* oranını sırasıyla %0, 80, 33.3 ve 100 olarak saptadıklarını bildirmektedirler. Aynı araştırmada elde edilen *S.aureus* izolatlarının entertoksijenik gen dağılımı ise sırasıyla kekta 1 adet *seln*, şekerlemelerde 1 adet *seg*, *selj* ve *ser* ve yumurta ürününde 2 adet *selk*, *seln* ve *ser* olarak belirlenmiştir.

Argudin ve ark. (2012), gıda, gıda ile temas eden, gıda enfeksiyonu kaynaklı olan ya da olmayan 64 adet *S.aureus* izolatı üzerine yaptıkları araştırmada, izolatların % 54.8'inden bir veya birden fazla gen olarak *sea*, *seb*, *sec* ve *sed* genlerini saptadıklarını, oranlarının ise sırasıyla %38.7, 12.9, 16.1 ve 22.6 olduğunu bildirmektedirler. Alamoti ve ark. (2016), İranda 2014-2015 yılları arasında 9 aylık süre içerisinde 80 adet pasta örneğini incelediklerini, örneklerin %60'nın *S.aureus* içerdiğini ve düzeyinin ise 0-4.04 log kob/g aralığında olduğunu bildirmektedirler.

Çalışkan (2016), İstanbul'da tüketime sunulan pastalarda %4 oranında *S.aureus* saptandığını, düzeylerinin ise 10^3 - 10^4 kob/g aralığında yoğunlaştığını bildirmektedir. Tirsi (2016), Mayıs 2015-Şubat 2016 tarihleri arasında 13 adet sade kremalı, 19 meyveli ve 28 çikolatalı toplamda ise 60 adet yaş pasta örneğinin incelendiğini, 3 çikolatalı (2 adedi 10^2 - 10^3 , 1 adedi $>10^3$ kob/g düzeyinde, yaz ve kış mevsimlerinde saptanmış), 1 sade kremalı (10^2 - 10^3 kob/g düzeyinde, yaz mevsiminde saptanmış) ve 2 meyveli yaş pasta örneğinden (2 adedi 10^2 - 10^3 kob/g düzeyinde, yaz ve sonbahar mevsiminde saptanmış) *S. aureus* izole edildiğini bildirmektedir.

Cho ve ark. (2019), 1464 adet kremalı üründen 42 adet koagülaz pozitif *S.aures* izole edildiğini, genotipik incelemede ise *sea* %61.9, *seb*, *sec*, *sed* %0, *sea+seb* %2.4 ve *sea+sec*'ı %9.5 oranında saptandığını bildirmektedirler. Song ve ark. (2016), Çin'de toplanan 910 adet kremalı kekten % 15.5 oranında *S.aureus* izole edildiğini, izolatların %29.8'inde SE üreten *S.aureus* saptandığını, %7.8'inin ise SEB olarak tanımlandığını bildirmektedirler.

Gönül (2017), Trakya bölgesinde üretim yapan 5 adet üretim yerinden alınan 5 adet krema örneğinden *S.aureus* saptamadıklarını bildirmektedir. Gönül ve Bostan (2018), kremanın raf ömrünü arttırmak için olası *S.aureus* intoksikasyonunu ortadan kaldırmak için nisin kullanılabileceği sonucuna vardıklarını bildirmektedirler. Kanada Gıda İnceleme Ajansı (CFIA) (2018), Kanada’da Nisan 2016-Mart 2018 tarihleri arasında analiz edilen 2697 kekin 1’inden *S.aureus* izole edildiğini, düzeyinin ise $10^2 < x \leq 10^3$ kob/g olduğunu bildirmektedir. Hassanzadazar ve ark. (2018), İran’da 2017 yılı haziran-temmuz aralığında 62 adet kremalı pastanın %87.09’nun *S.aureus* ile kontamine olduğunu bildirmektedirler.

Carav (2019), Ocak-Haziran 2018 tarihleri arasında İstanbul’da satışa sunulan 27 adet meyveli, 9 adet çikolatalı yaş pasta ve 11 adet ek örneği stafilocokal enterotoksinlerin varlığı yönünden incelendiğini, 1 adet beyaz orman meyveli pastada SEA ve SED, 1 adet meyveli pastada SEA, 1 adet çikolatalı pastada SEA, 1 adet ekte SEA saptandığını bildirmiştir. Lakhanpal ve ark. (2019), Hindistan’da toplanan 30 adet sütlü kek örneğinden % 26.6 oranında *S.aureus* saptadıklarını bildirmektedirler. Sundararaj ve ark. (2019), 25 süt ve 25 adet kek örneğinin sırasıyla 13 ve 4 adedinden *S.aureus* izole edildiğini bildirmektedirler. Araştırmacılar, süt ve kek örneklerinden elde edilen izolatlarla sırasıyla *sea*, *seb* ve *sec*’i 6,3,4 ve 1,1,2 izolatla saptadıklarını bildirmektedirler.

Gücüköğlu ve ark. (2020), analiz edilen süt içeren tatlılardan (35 supangile, 30 keşkül, 25 fırın sütlaç, 15 kazandibi, 15 tavuk göğsü ve 10 profiterol) sırasıyla % 31.4, 40, 4, 20, 26.6 ve 40 oranında *S.aureus* izole edildiğini bildirmektedirler. Araştırmacılar, Supangilede 1 (%25) örnekte *sea*, 3 (%75) örnekte *seb*, keşkül örneklerinde 2 (%50) örnekte *sea*, 1 örnekte (%25) *seb*, 1 (%25) örnekte *sea+seb*, kazandibinde 1 (%100) örnekte *seb*, tavuk göğsünde 2 (%50) örnekte *sea*, 1 (%25) örnekte *see*, 1 (%25) örnekte *sea+seb* izole edilirken, profiterol ve fırın sütlaçtan ise *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* izole edilemediğini bildirmektedirler. Titouche ve ark. (2020), 54 adet çiğ süt ve 83 adet pasta örneğinden sırasıyla %37.04 ve %14.46 oranında *S.aureus* izole edildiğini, çiğ süttan 24 ve pastadan 25 adet izole edilen izolatın sırasıyla *sea*, *seb* ve *sec* sayısının 2,4,0 ve 0,2,4 olarak saptandığını bildirmektedirler.

Achek ve ark. (2021), 112 gıda örneğinden (süt, kıyma, kek, tavuk eti, sucuk) 24 adet (10 süt, 10 kıyma, 2 kek, 1 tavuk eti, 1 sucuk), 71 nazal swap ve 20 klinik suştan ise 16 izolatın *S.aureus* olarak izole edildiğini bildirmektedirler. Jassim ve Kandala (2021), 23

adet pastadan %17.4 oranında *S.aureus* izole edildiğini, bildirmektedirler. Arı Yıldız (2021), 2019 Aralık-2020 Mart ayları arasında Bolu ve ilçelerinde ile Zonguldak ve Düzcede tüketime sunulan 170 adet yaş pasta örneğinde %11.2 oranında koagülaz pozitif stafilokok izole edildiğini bildirmektedir.

Arabestani ve ark. (2022), İran'da tüketime sunulan 370 kremalı ve kuru pastadan yaptıkları analiz sonucunda, sırasıyla %34.64 ve %3.33 oranında *S.aureus* izole edildiğini bildirmektedirler. Canlı (2022), Antalya sahil kuşağında 26 farklı işletmeden temin edilen 52 adet yaş pastada *S.aureus* saptanmadığını bildirmektedir.

Erol ve ark. (1996), Akgün ve ark. (1997), Gümüş ve ark. (2005), Oh ve ark. (2007), Huong ve ark. (2010) (pirinç kek araştırma bulguları), Aslan (2012), Jafaeri ve ark. (2013), Tang ve ark. (2015) (kek araştırma bulguları), Alamoti ve ark. (2016), Hassanzadazar ve ark. (2018), Lakhanpal ve ark. (2019), Gücükoğlu ve ark. (2020) (Profiterol bulguları), Jassim ve Kandala (2021), Arabestani ve ark. (2022) (kremalı pasta bulguları)'nın araştırma bulguları bu araştırma verilerine göre yüksek bulunmuştur.

Todd ve ark. (1983), Evren (2006), Meldrum ve ark. (2006), Ljupco ve ark. (2010), Can ve Yalçın (2011), Giannatale ve ark. (2011), Çalışkan (2016), Tirsi (2016), Cho ve ark. (2019), Kanada Gıda İnceleme Ajansı (2018), Arı Yıldız (2021), Arabestani ve ark. (2022) (kuru pasta bulguları) ve Canlı (2022)'nin araştırma bulguları ise bu araştırma verilerine göre düşük bulunmuştur.

Song ve ark. (2016), Sundararaj ve ark. (2019) ve Titouche ve ark. (2020) (pasta örnekleri) araştırma bulguları ise bu araştırma verileri ile benzerlik göstermektedir.

Araştırmacıların pasta, kremalı pasta veya kek odaklı çalışmaları bireysel olarak incelendiğinde bu araştırmaya göre *S.aureus* varlığı ve düzeyi ile ilgili bulguların farklı olması araştırmaların yapıldığı coğrafya (Erol ve ark. 1996, Akgün ve ark. 1997, Gümüş ve ark. 2005, Evren 2006, Meldrum ve ark. 2006, Oh ve ark. 2007, Huong ve ark. 2010, Ljupco ve ark. 2010, Can ve Yalçın 2011, Giannatale ve ark. 2011, Aslan 2012, Jafaeri ve ark. 2013, Tang ve ark. 2015, Alamoti ve ark. 2016, Çalışkan 2016, Tirsi 2016, Cho ve ark. 2019, Hassanzadazar ve ark. 2018, Kanada Gıda İnceleme Ajansı 2018, Lakhanpal ve ark. 2019, Gücükoğlu ve ark. 2020, Arı Yıldız 2021, Canlı 2022, Arabestani ve ark. 2022), araştırmanın yapıldığı mevsim ve araştırma süresinin (Meldrum ve ark. 2006, Huong ve ark. 2010, Ljupco ve ark. 2010, Giannatale ve ark. 2011, Tirsi 2016, Hassanzadazar ve ark.

2018, Kanada Gıda İnceleme Ajansı 2018, Gücükoğlu ve ark. 2020, Arı Yıldız 2021) farklı olmasına bağlanabilir.

Araştırmalarda örnek sayısının az ya da çok olması (Akgün ve ark. 1997, Gümüş ve ark. 2005, Evren 2006, Meldrum ve ark. 2006, Oh ve ark. 2007, Huong ve ark. 2010, Ljupco ve ark. 2010, Can ve Yalçın 2011, Giannatale ve ark. 2011, Aslan 2012, Jafaeri ve ark. 2013, Tang ve ark. 2015, Alamoti ve ark. 2016, Çalışkan 2016, Tirsi 2016, Cho ve ark. 2019, Hassanzadazar ve ark. 2018, Kanada Gıda İnceleme Ajansı 2018, Lakhanpal ve ark. 2019, Gücükoğlu ve ark. 2020, Arı Yıldız 2021, Canlı 2022, Arabestani ve ark. 2022), örneklerin toplanma sıklığı ve örneklerin alındığı bölgenin coğrafi genişliği araştırma bulgularının farklı oranlarda olmasının nedenleri olabilir.

Yine, araştırma bulgularının farklı olması araştırmalarda yaşam alanlarının nüfus bağlamında büyüklüğü veya küçüklüğü, örnek alınan yerin niteliği gibi nedenlere bağlanabilir.

Araştırmada uygulanan izolasyon prosedürü (klasik kültür, moleküler teknikler) (Erol ve ark. 1996, Akgün ve ark. 1997, Gümüş ve ark. 2005, Evren 2006, Meldrum ve ark. 2006, Oh ve ark. 2007, Huong ve ark. 2010, Ljupco ve ark. 2010, Can ve Yalçın 2011, Giannatale ve ark. 2011, Aslan 2012, Jafaeri ve ark. 2013, Tang ve ark. 2015, Alamoti ve ark. 2016, Çalışkan 2016, Tirsi 2016, Cho ve ark. 2019, Hassanzadazar ve ark. 2018, Kanada Gıda İnceleme Ajansı 2018, Lakhanpal ve ark. 2019, Gücükoğlu ve ark. 2020, Arı Yıldız 2021, Canlı 2022, Arabestani ve ark. 2022), örneklerin alındığı işletmelerde üretim sürecinde uygulanan hatalı işlemlere bağlı oluşan teknolojik kusurlar, ürünün muhafaza koşulları ve yetersiz sanitasyon programları gibi faktörlerde araştırma bulgularındaki farklılıkların nedenleri arasında değerlendirilmektedir.

Bu araştırmada temmuz ayında toplanan örneklerden %53.3 (8/15) ve kasım ayında toplanan örneklerden ise %46.6 (7/15) oranında *S.aureus* izole edilmiştir. Oransal olarak, sıcak temmuz ayı ile daha serin olan kasım ayında *S.aureus*'un saptanma oranında ciddi bir fark görülmemiştir. Enterotoksin sentezleyen genler bakımından değerlendirildiğinde ise; temmuz ayı içerisinde saptanmış *S.aureus* izolatlarında SE sentezleyen genlerin toplam içerisindeki oranı %45.83 (11/24) ve kasım ayı içerisinde ise %54.16 (13/24) olarak saptanmıştır. Temmuz ayı içerisinde saptanmış *S.aureus* izolatlarında predominant gen *sed* (%72.72), takiben *sec* (%27.27) gelirken, kasım ayı içerisinde predominant gen *sed* (%53.84), *sea* (%23.07), *see* (%15.38) ve *sec* (% 7.69) sıralanmıştır.

Bu araştırmada izole edilen *S.aureus* izolatlarındaki *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* genleri oranları, kremalı pasta ve pasta bileşimine giren süt, krema, kek vb. rnler zerine yapılan araştırmacılarıdaki enterotoksijen sentezinden sorumlu gen verileri ile karşılaştırıldığında (Adwan ve ark. 2005, Gencay ve ark. 2010, Ertaş ve Gönülalan 2010, Aydın ve ark. 2011, Giannatale ve ark. 2011, Argudin ve ark. 2012, Rahimi 2013, Baumgartner ve ark. 2014, Hassani ve ark. 2014, Mashouf ve ark. 2015, Tang ve ark. 2015, Cho ve ark. 2019, Sundararaj ve ark. 2019, Gücükoğlu ve ark. 2020, Titouche ve ark. 2020, Diab ve ark. 2021) benzer olan ya da olmayan veriler bulunmaktadır. Bu farklılık ürünlerin bileşimi, kimyasal yapısı, pH'ı ve üretim tekniği ile izolatların genotipik özelliklerinin farklı olması ile açıklanabilir.

Bu araştırmada kremalı pastalarda SE varlığı analiz edilmediğinden SE varlığı üzerine çalışma yapan araştırmacıların (Fueyo ve ark. 2005, Huong ve ark. 2010, Cho ve ark. 2019, Song ve ark. 2016 ve Carav 2019) gıdalarda SEA, SEB, SEC, SED ve SEE'yi fenotipik olarak saptaması, izolatlarda entetoksin sentezinden sorumlu gen veya genlerin (*sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see*) izolatlarda aktif olarak bulunabileceği şeklinde yorumlanmaktadır.

Kremalı yaş pasta; yumurta, süt, sıvı yağ, şeker, un, kabartma tozu, vanilya krema ve lezzeti arttırmak amacıyla farklı alternatif ürünlerinde kullanılarak ürünün bileşimine katılmasıyla hazırlanmaktadır. Ürünün bileşiminde olan her bir öğenin ürünün mikrobiyel ve kimyasal kalitesi ile lezzeti ve raf ömrü üzerine etkisi bulunmaktadır. Pasta retiminde kullanılan hammaddelerin başlangıç mikrobiyel yükünün uygun olmaması, hammaddelerin uygun olmayan depolama koşullarında muhafaza edilmesi ve uygun olmayan hijyenik koşullarda üretim yapılması, primer veya sekonder kontaminasyon kaynaklı *S.aureus* düzeyinin artması ve SE oluşumu sonucunda intoksikasyon oluşabilir.

Kremalı yaş pastanın bileşiminde ana öğe olan çiğ süt, krema ve yumurta gibi ürünlerle ilgili olarak yapılan araştırmalarda *S.aureus* ve enterotoksinlerinin varlığı önemli derecede risk olduğunu göstermektedir. Lopes ve ark. (1993) ve Schelin ve ark. (2011) gıdanın kompozisyonu, sıcaklığı ve pH'ının sentezlenen SE'nin tipini etkilediğini bildirmektedirler. Nitekim yapılan araştırmalar genotipik olarak *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* genleri ile SEA, SEB, SEC, SED ve SEE'nin yalnız veya kombine olarak farklı oranlarda saptandığını göstermektedir. Adwan ve ark. (2005), 250 adet çiğ süt örneğinden (120 koyun ve 130 keçi) toplamda 37 adet enterotoksijenik *S.aureus* izole edildiğini, *sea*, *seb*,

sec, *sed* ve *see* oranının sırasıyla %10.8, 54.1, 10.8, 16.2 ve 8.1 olarak saptandığını bildirmektedirler. Bendahou ve ark. (2009), 81 adet çiğ süt örneğinin 40 adedinden *S.aureus* izole edildiğini, sırasıyla genotipik olarak *sea* ve *sed*'nin izolatlarda, fenotipik olarak örneklerde SEA ve SEE'nin predominant olduğunu bildirmektedirler.

Gencay ve ark. (2010), süt ürünlerinden yapılan analizlerde elde edilen 24 adet stafilocokun 23 adedini koagülaz pozitif stafilocok (KPS), 1 adedini koagülaz negatif stafilocok (KNS), 23 adet KPS'nin %73.9'unu (17 adet), *S.aureus* olarak saptadıklarını, izolatların hiçbirinden *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* genlerinin saptanmadığını bildirmektedirler. Yılmaz ve Gönülalan (2010), Kayseri ilinde çiğ süt üretimi yapan işletmelerde toplam 60 adet çiğ süt örneğinin %50'sinde SE toksin saptadıklarını bildirmektedirler.

Ertaş ve Gönülalan (2010), Kayseri'de incelenen 100 çiğ süt örneğinden %60 oranında stafilocok saptandığını, 300 izolattan %14'ünün (42 adet) *S.aureus* olduğunu, 31 izolatta (%73.8) enterotoksin genleri varlığının saptandığını, bunların %38.7'sinin *sea*, %6.5'inin *seb*, %16.1'inin *sec*, %32.3'ünün *sed*, %6.5'inin *sea+sed* olduğunu bildirmektedirler. Aynı araştırmacılar, ELISA yöntemi ile yapılan analizlerde SE'lerin sırasıyla %35.7'sinin SEA, %7.1'nin SEB, %17.8'inin SEC, %32.2'sinin SED, %7.1'nin SEA+SED olduğunu bildirmektedirler. Yücel ve Anıl (2011), Ankara'da 148 işletme, 42 sokak sütü toplamda 190 süt örneğinden yapılan analizlerde, 157 koagülaz pozitif izolat saptandığını, bu izolatların %35'inin *S.aureus* olarak saptandığını bildirmektedirler.

Hu ve ark. (2013), 40 adet çiğ süt örneğinden %30, 40 adet süt ürününden ise %7.5 oranında *S.aureus* iole ettiklerini bildirmektedirler. Hassani ve ark. (2014), Tahran'da 60 adet koyun, 30 adet inek ve 30 adet keçi sütünden oluşan çiğ süt örneklerinde yaptıkları araştırmada, sırasıyla 27 (%45), 10 (%33) ve 13 (%43) örnekten *S.aureus* izole ettiklerini ve izolatların ise *sea* pozitif oranının sırasıyla 6 (%22), 1 (%10) ve 3 (%23) olarak değiştiğini, *sea* geninin en çok koyun sütünden izole edilenlerde saptandığını bildirmektedirler.

Rahimi (2013), İran'da 36 krema örneğinden %5.6 oranında *S.aureus* saptadıklarını, izolatların hiç birinden SE saptanmadığını, izolatlardan *seg*, *sei* 1 adet ve *sei*, *seh* 1 adet saptandığını, *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see*'nin saptanmadığını bildirmektedirler. Mashouf ve ark. (2015), 66 adet krema, 271 adet çiğ süt ve 47 geleneksel krema örneğinden yapılan analizlerde, sırasıyla 4 (%6.1), 29 (%10.7) ve 2 adet (%4.3) izolatın *S.aureus* olarak saptandığını bildirmektedirler. Araştırmacılar, krema örneklerinden *sea* 1,

sed 1, *sec*+*sed* 1 adet, çiğ süt örneklerinden *sea* 5, *seb* 1, *sec* 2, *sed* 2 ve *see* 1 adet olarak saptanırken, geleneksel krema örneklerinin hiçbirinden *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* saptanmadığını bildirmektedirler.

Can ve ark. (2017a), Hatay ilinde mastitisli ineklerden alınan inek sütü örneğinin %48'inden pozitif sonuç elde edildiğini, 56 izolattan 22 adedin koagülaz pozitif stafilocok, 20 adedin ise *S.aureus* olduğunu bildirmektedirler. Can ve ark. (2017b), Hatay ilinde 50 adet çiğ süt örneğinden 25 adedinden (%50) *S.aureus* izole edildiğini bildirmektedirler. Diab ve ark. (2021), Mısır'da 170 inekten alınan 680 çiğ süt örneğinden yapılan analizlerde 157'sinden %21.6 oranında *S.aureus* saptandığını bildirmektedirler. *S.aureus* izolatlarında enterotoksin sentezleyen genlerin varlığını ise, *sea* 10, *seb* 3, *sec* 3, *sed* 2, *see* 2, *sea-seb* 1, *seb-sed* 1 olarak belirlendiğini bildirmektedirler. Yıldırım ve ark. (2019), Amasya ilinde 50 adet çiğ süt örneğinden 32 adedinden *S.aureus* saptandığını, izolatların hiç birinden SE saptanmadığını bildirmektedirler.

Bryan (1976), 1938-1972 yılları arasında kremalı pasta tüketimi kaynaklı *S.aureus* intoksikasyonların ilk sıralarda olduğunu bildirmiştir. Aynı araştırmacı, 1920-1972 yılları arasında kremalı pasta kaynaklı 367 zehirlenme olgusunun kök nedenlerini değerlendirdiklerinde, olguların ilk sırasında %70.8 ile yetersiz soğutma, %24.8'inde infekte çalışan, %22.3'ünde taze olmayan ürün, %7.4'ünde sanitasyon programının yetersizliği, %5.2'sinde gıda ile temasta olan çalışanın hijyen eksikliği, %4.6'sında yeterince temizlenmeyen alet ve ekipman, %4.1'inde kontamine ham materyal (yumurta ve süt), %3.3'ünde pişirme ve ısıtma hataları, %1.4'ünde rodent kontaminasyonu, %1.1'inde sanitasyon kurallarına uyulmaksızın hatalı kurulum ve %0.5'inde ise sıcakta muhafazaya bağlanabileceği bildirilmektedir.

Pondit ve ark. (2018), 220 tavuk, 80 bıldırcın yumurtası yüzeyinden alına swap örneklerden sırasıyla %10.45 ve %5 oranında *S.aureus* saptandığını bildirmektedirler. Rahman ve ark. (2018), 20 adet tavuk yumurtasından %55 oranında *S.aureus* izole edildiğini bildirmektedirler. Syed ve ark. (2018), 300 yumurtadan %21.3 oranında stafilocok izole edildiğini ve %59'unun *S.aureus* olarak tanımlandığını bildirmektedirler. Kholy ve ark. (2022), Mısır'da 250 adet yumurta örneğinden %13.5 oranında *S.aureus* izole edildiğini, izolatların 2 adedinde *seb*, 1 adedinden *sed* saptandığını bildirmektedirler.

Kremalı pasta üretim sürecinde üretimde kullanılan hammadelerin başlangıç mikrobiyel yükü ile üretim süreci ve sonrasındaki rekontaminasyonlar son ürünlerdeki

S.aureus varlığı, düzeyi ve SE oluşumunu etkileyebilmektedir. Kontamine gıdaların tüketilmesinden sonra uygun koşullarda (su aktivitesi, pH, oksidasyon redüksiyon potansiyeli, sıcaklık ve %NaCl) ve matriks bileşimine bağlı olarak, etkenin logaritmik üreme fazına girdiği görülmektedir (Tatini, 1973; Adams ve Moss 2008). Anunciaçao ve ark. (1995), oda sıcaklığında muhafaza ile başlangıç kontaminasyon düzeyinin SE sentez için gerekli süreyi azalttığını bildirmektedirler.

Keki pişirme sürecinde uygulanan ısı-zaman parametresiyle, hamur karışımındaki *S.aureus* yıkımlanırken, olası SE toksinleri yıkımlanmayabilir. Uygulanan ısı işlemiyle *S.aureus* yıkımlandığından, pişirme sonucunda kremalı yaş pastalarda yapılan analizlerde *S.aureus*'un saptanması sekonder kontaminasyonlara bağlanabilir.

Son üründe, SE saptanması ise ısı işlemi öncesi *S. aureus* ile kontaminasyon düzeyinin 10^6 kob/g ve üzerinde olması durumunda uygun koşullarda SE oluşumu veya ısı işlem sonrasında sekonder kontaminasyona bağlı olarak *S.aureus* düzeyinin 10^6 kob/g ve üzeri olması sonucu oluşan SE oluşumuna bağlanabilir. Nitekim bazı araştırmacılar (Holeckova ve ark. 2002, Le Loir 2003) ürünün matriksine de bağlı olarak gıdalara yetersiz ısı işlem uygulandığında (60°C'de, 30 dk) *S.aureus*'un yıkımlanmadığını ve ürettiği toksinlerin ısıya dirençli olmasından ötürü intoksikasyonlara neden olabileceğini bildirmektedirler.

İşletmelerde üretimde çalışanların personel hijyeni konusunda bilinçlendirilmesi ve hizmet içi eğitimin sürekliliği olası intoksikasyon risklerini azaltmada önemli rol oynamaktadır. Gıda işletmelerinde çalışan personel gıda üretim zincirinin önemli bir kontaminasyon kaynağıdır (Çakıcı ve ark. 2015). Nitekim, yapılan araştırmalar *S.aureus*'un sağlıklı olan ya da olmayan, üretim sürecinde çalışan ya da çalışmayan bireylerden saptanabileceğini göstermektedir. Pereira ve ark. (1994), Brezilya'da kremalı pasta tüketimi sonucu 4 saat sonra kusma ve diyare semptomları ile getirilen 20 kişinin hastanede değerlendirildiğini, pastadan 10^8 kob/g düzeyinde *S.aureus* izole edildiği ve SEA saptandığını bildirmektedirler. Araştırmacılar, özellikle üretimde çalışan personelin çoğu stafilokokal intoksikasyonda önemli bir kaynak olarak ürünü kontamine ettiğini, kontaminasyonu minimize etmek için maske, eldiven kullanılarak ürüne direkt temasın azaltılması ile uygun hijyenik koşullarda üretimin olası riskleri azaltmada önemli olduğunu bildirmektedirler.

Uçan (2001), Selçuk Üniversitesi'nde el hijyeninin belirlenmesine yönelik yapılan bir araştırmada, 30 öğrenci metisiline dirençli *S.aureus* taşıyıcılığı bakımından taranmış ve öğrencilerin elinden %23.3 oranında *S.aureus*'un izole edildiğini bildirmiştir. Yazgı ve ark. (2003), 262 Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi çalışanı ve 75 sağlıklı gönüllü üzerinde yapılan araştırmada sağlık personelinin %27.5, gönüllülerde ise %24 oranında nazal *S.aureus* taşıyıcılığı saptandığını bildirmektedirler. Özen ve ark. (2013), 2009-2010 yılları içerisinde portör muayenesi yapılan 15600 gıda çalışanından alınan nasal sürüntü örneğinden %3.37 oranında *S.aureus* izole edildiğini bildirmektedirler. Yüksekaya ve ark. (2017), 2009-2013 yılları arasında Konya'da hastanede yatan hastalardan alınan kanlardan izole edilen 409 *S.aureus* suşunun %33'ünü metisilin dirençli *S.aureus* olarak saptadıklarını bildirmektedirler.

Demir ve ark. (2011), Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesinde 2007-2008 yılları arasında hastaların kan, yara, idrar, konjunktival svap ve trakeal spirattan alınan örneklerden izole edilen 120 adet *S.aureus* izolatının %65.8'inin1 veya daha fazla enterotoksin sentezleyen gene sahip olduğu bildirmektedirler. Aynı araştırmacılar, 48 yara, 36 idrar, 17 kan, 11 trakeal spirat, 8 konjunktival spirattan 1 veya daha fazla enterotoksin sentezleyen gen taşıyan *S.aureus* oranının sırasıyla % 83.3, 50, 70.6, 54.5 ve 37.5 olduğunu bildirmektedirler. Araştırmacılar aynı çalışmada, en çok saptanan gen kombinasyonu olarak *seg+sei* %13.9, *sea+seg+sei* %8.9 ve *sea+sei* %7.6 olarak sıralandığı bildirilmektedir.

Çatar ve Yıldırım (2020), Erciyes Üniversitesinde bulunan 23 kantinde gıda ile teması olan çalışanların parmaklarının hijyenik açıdan değerlendirilmesi ile ilgili yapılan bir araştırmada, *S.aureus*'un %82.6 oranında saptandığını bildirmektedirler. Diab ve ark. (2021), Mısır'da işletmelerde çalışan personelden alınan 43 nazal ve 43 el svabından toplam 76 örnekten yapılan analizlerde el svaplarının %44.2'si (19 adet), nasal svapların ise %32.6 (14 adet) toplamda ise %38.37 oranında *S.aureus* izole ettiklerini bildirmektedirler. Aynı araştırmacılar sırasıyla *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *sea-seb* ve *seb-sed* sayısını 8, 3,3,1,1,3 ve 2 olarak saptadıklarını, el ve nazal svaptan en fazla *sea* izole edildiğini bildirmektedirler. Okoro ve ark. (2022), Nijerya'da gıda üretim zincirinde gıda ile temas eden kişilerde yapılan araştırmalarda 360 kişiden 101 kişide (%28.1) *S.aureus* izole edildiğini, izolatların ise 38 adedinin (%37.6) toksin ürettiğini saptadıklarını bildirmektedirler.

İşletmelerde üretimde çalışan personelin üretim bandının tüm aşamalarında yapacağı gıda güvenliğini sağlamaya yönelik uygulamalar (GMP, GHP ve HACCP) intoksikasyon risklerini azaltmada önemli rol oynamaktadır.

Kolat (2008), Ankara’da 42 pastane bu işletmelerde çalışan 416 çalışan üzerinde HACCP sisteminin uygulanabilirlik düzeylerini değerlendirdiği (anket ve gözlem esaslı) araştırmada, işletmelerde çalışanların %83.8’inin sağlık kontrollerinden geçerek işe başlatıldığını, %82.4’ünün çalışma hayatı boyunca düzenli olarak sağlık kontrollerinden geçtiğini, %21.8’inin üretim sürecinde önlük, bone, eldiven ve maske kullandıklarını, üretimde görev alanların %90.8’inin materyallerle temas sonucu ve tuvaletten çıktıktan sonra ellerini yıkadıklarını bildirmiştir. Yine aynı araştırmada, personelin %72.6’sının hizmet içi eğitim aldığı, üretim sürecinde %69.9’unun kremayı üretim sürecinde taze hazırladıkları, %56.9’unun kremalı pastaların soğukta muhafazasına önem verdiğini, %40.4’ünün üretimde yumurtaları temizlemeden kullandığını saptamıştır.

Novoa ve ark. (2018), Meksika’da gıda ile temas eden yüzeylerden 293 örnek toplandığını, örneklerden elde edilen izolatların %35.7’sinin *S.aureus* olarak tanımlandığını, 84 izolatın %64.3’nün stafilokokal enterotoksin sentezleyen gen bakımından pozitif olduğunu, *sed* %4.7, *sea+sej* %1.1, *sed+seg* %2.3, *sec+sej* %1.1, *sed+seg+sej* %2.3, *sed+seg+sei* %1.1, *seb+sed+sei* %1.1, *sec+sed+seh+sej* %1.1 ve *sec+sed+seg+sej* %1.1 olarak saptandığını bildirmektedirler.

Pamuk ve ark. (2018), Afyon Kocatepe Üniversite kampüs kantinlerinde gıda işletmelerinde kullanılan 40 adet bıçak ve ürünün işlendiği 27 yüzeyde yaptıkları araştırmada, *S.aureus* düzeyini ($\geq 10^2$ kob/g) sırasıyla %17.5 ve %14.8 oranında saptadıklarını bildirmektedirler. Araştırmacılar aynı araştırmada 45 çalışan personelin el hijyen profilinde ise %57.7 oranında *S.aureus* saptadıklarını bildirmektedirler.

Bu araştırma bulguları genel anlamda değerlendirildiğinde, *S.aureus* gibi insan sağlığı açısından risk yaratabilen patojen bir mikroorganizmanın neden olduğu intoksikasyonlardan korunmada sağlıklı hammadde, uygun üretim tekniği, ürünün muhafazası ve sanitasyon programlarının etkinliğine dikkat edilmesi öngörülmektedir.

6. SONUÇ

Araştırma kapsamında Adana ilinden toplanan ve analiz edilen 100 kremalı yaş pasta örneğinin 15'inden (%15) *S.aureus* saptandı. Temmuz ayında toplanan örneklerden %53.3 ve kasım ayında toplanan örneklerden ise %46.6 oranında *S.aureus* izole edilmiştir. Analiz edilen kremalı pasta örneklerinde saptanan *S.aureus* varlığının dağılımı değerlendirildiğinde 3 adedi (%20) çikolatalı, 8 adedi (%53.3) meyveli ve 4 adedi (26.7) ise sade yaş pasta örneği olarak belirlendi. Pozitif örneklerde genotipik analizlerde *sea* 3 (%20), *sec* 4 (%26.7), *sed* 15 (%100), *see* 2 örnekten (%13.3) saptanırken, *seb* hiçbir izolattan saptanmadı.

Sonuç olarak; *S.aureus* insan sağlığı açısından risk yaratabilen bir mikroorganizma olduğundan stafilokokal intoksikasyonlardan korunmada ham maddenin başlangıç mikrobiyel yükünün düşük olmasının ve uygun teknikte üretim yapılmasının önemli olduğu, ürünün muhafazası, nakil, servis aşaması ve sanitasyon programlarının etkinliğinin kontrol edilmesinin yanı sıra, HACCP'in ön gördüğü protokoller kapsamında uygulanmasının gerektiği kanaatine varılmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Achek R, Adawy H, Hotzel H, Hendam A, Tomaso H ve ark. Molecular Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolated from Human and Food Samples in Northern Algeria. Pathogens, **2021**, 10 (10): 1276.
2. Adams MR, Moss MO. Food Microbiology. 3th Edition, University of Surrey, Guildford, **2008**, S. 252-256.
3. Adesiyun AA, Webb LA, Romain HT. Prevalence and Characteristics of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Bulk and Composite Milk and Cattle Handlers. J Food Prot. **1998**, 61(5), :629-32.
4. Adwan G, Abu-Shanab B, Adwan K. Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in Raw Milk in The North of Palestine. Türk J Biol, **2005**, 29 (4): 229-232.
5. Akgün S, Soyutemiz E, Anar Ş, Çıbık R. Tüketime Sunulan Kremalı Pastaların Mikrobiyolojik Niteliklerinin Saptanması. The Journal of Food, **1997**, 22(6):433-438.
6. Alamoti MP, Rezaei A, Mahmoudi R. Microbial Contamination of Pastry Cream: Evidence From Hamedan, Iran. Arch Hyg Sci, **2016**, 5(3):207-213.
7. Anunciaçao LLC, Linardi, WB, Carmo LS, Bergdoll, MS. Production of Staphylococcal Enterotoxin A in Cream Filled Cake. International Journal of Food Microbiology, **1995**, 26(2): 259-263.
8. Arabestani MR, Kamarehei F, Dini M, Jalilian FA, Moradi A ve ark. Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolates From Pastry Samples by Rep-PCR and Phage Typing. Iranian Journal of Microbiology, **2022**, 14 (1) :76-83.
9. Archer, GL. *Staphylococcus aureus*: a Well-Armed Pathogen. Clinical Infectious Diseases, **1998**, 26(5):1179-1181.
10. Argudin MA, Mendoza MC, Rodicio MR. Food Poisoning And *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. Toxins, **2010**, 2(7): 1751-1773.
11. Argudin MA, Mendoza MC, Gonzalez-Hevia MA, Bances M, Guerra B ve ark. Genotypes, Exotoxin Gene Content and Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus aureus* Strains Recovered from Foods and Food Handlers. Appl Environ Microbiol, **2012**, 78(8): 2930–2935.
12. Arı Yıldız FH. Bolu ve Çevre İllerde Satılan Yaş Pastaların Mikrobiyolojik Kalitesinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, **2021**, Bolu.
13. Aslan Ö. Bazı Gıdalardan İzole Edilen *Staphylococcus aureus*’ların Enterotoksijenik Özellikleri ve Farklı Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Saptanması. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, **2012**.
14. Aydın A, Sudagidan M, Muratoğlu K. 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, **2011**, 148(2): 99-106.
15. Balaban N, Rasooly A. Staphylococcal Enterotoxins. International Journal of Food Microbiology, **2000**, 61(1): 1-10.
16. Baumgartner A, Niederhauser I, Johler S. Virulence and Resistance Gene Profiles of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated From Ready-to-Eat Foods. J Food Prot, **2014**, 77(7):1232-6.
17. Bayles KW, Iandolo JJ. Genetic and Molecular Analyses of The Gene Encoding Staphylococcal Enterotoxin D. Journal of Bacteriology, **1989**, 171(9):4799-4806.
18. Bendahou A, Abid M, Bouteldoun N, Catelejine D, Lebbadi M. Enterotoxigenic Coagulase Positive *Staphylococcus*, In: Milk and Milk Products, Lben and Jben, in Northern Morocco. Journal Infect Developing Countries, **2009**, 3(3): 169-176.
19. Bennett RW, Lancette GA. *Staphylococcus aureus*. FDA, Bacteriological Analytical Manual, 8. Baskı, Düzenleyen: Jackson GJ, **1998**, Gaithersburg.
20. Betley MJ, Mekalanos JJ Staphylococcal Enterotoxin A Is Encoded by Phage. Science, **1985**, 229, S:185-187.

21. **Betley MJ, Mekalanos JJ**, Nucleotide Sequence of the Type A Staphylococcal Enterotoxin Gene, *J Bacteriol*, **1988**,170(1):34-41.
22. **Bhatia A, Zahoor S**. *Staphylococcus aureus* Enterotoxine: A Review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, **2007**, 1(2): 188-197.
23. **Bilgehan H**. *Staphylococcus*. Özel Bakterioloji ve Bakteri Enfeksiyonları Fakülteler Kitabevi, Barış Yayınları, İzmir **2009**, S: 240-266.
24. **Bohach GA, Handley JP, Schlievert PM**. Biological and Immunological Properties of The Carboxyl Terminus of Staphylococcal Enterotoxin C1. *Infect Immun*, **1989**,57(1):23-28.
25. **Borst DW, Betley MJ**. Phage-Associated Differences in Staphylococcal Enterotoxin A Gene (*sea*) Expression Correlate with Sea Allele Class. *Infect Immun*, **1994**; 62(1): 113-118.
26. **Brakstad OG, Aasbakk K, Maeland JA**. Detection of *Staphylococcus aureus* by Polymerase Chain Reaction Amplification of the *nuc* Gene. *Journal of Clinical Microbiology*, **1992**, 30(7): 1654-1660.
27. **Bremer PJ, Fletcher GC, Osborne C**. *Staphylococcus aureus*. New Zealand Institute for Crop and Food Research Limited, Christchurch, **2004**.
28. **Bryan FL**, Public Health Aspects of Cream-Filled Pastries A Review. *J Milk Food Technol.*, **1976**, 39(4): 289-296.
29. **Bussche VD, Ronald A, Lyon-Julie D, Bohach-Gregory A**. Molecular Evolution of the Staphylococcal and Streptococcal Pyrogenic Toxin Gene Family. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **1993**, 2, S:281-292.
30. **Can HY, Elmalı M, Ergün Y**. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Milk From Dairy Cows with Chronic Mastitis. *Eurasian J Vet Sci*, **2017a** 33(4): 255-259.
31. **Can HY, Elmalı M, Karagöz A**. Molecular Typing and Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated From Raw Milk, Cheese, Minced Meat and Chicken Meat Samples, *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, **2017b**, 37(2):175-180.
32. **Can ÖP, Yalçın H**. Mersin'de Faydalanmak İçin Kremalı Makarnaların Mikrobiyolojik Kalitelerinin Değerlendirilmesi. *Gıda Teknol Elektr Derg*. **2011**;6(3):42-8.
33. **Canadian Food Inspection Agency**. Bacterial Pathogens in Pre-Prepared, Refrigerated Baked Desserts, April 1, 2016 To March 31, 2018. *Food Microbiology- Targeted Surveys- Final Report*, **2018**.
34. **Canlı Ç**. Antalya Sahil Kuşağında Satışa Sunulan Yaş Pastalarda Patojen Bakteri Varlığının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, **2022**, Antalya.
35. **Capurro By A, Concha C, Nilsson L, Ostensson K**. Identification of *Coagulase-Positive Staphylococci* Isolated from Bovine Milk, *Acta Vet. Scand*. **1999**, 40(4): 315-321.
36. **Carav NF**, Yaş Pasta ve Sütlu Tathılarda Stafilokokal Enterotoksinlerin Varlığı. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, **2019**, İstanbul.
37. **Catsaras M, Seynave R, Sery C**. Creams Pastries and Public Health. I. An Epidemic of Food Poisoning by *Staphylococcus* type A Caused by Cream Pastries. *Anneles De l'Institut Pasteur De Lille*, **1970**, 21, s:177-191.
38. **Centers For Disease Control and Prevention (CDC)**. *Staphylococcus aureus* Resistant to Vancomycin. **2002**. Erişim: <https://www.cdc.gov/mmwr/Preview/Mmwrhtml/Mm5126a1.Htm>. Erişim Tarihi: 20.12.2022.
39. **Chaibenjawong P, Foster SJ**. Desiccation Tolerance in *Staphylococcus aureus*. *Archives of Microbiology*, **2011**,193(2): 125–135.
40. **Cho YS, Lee MK, Hwang SH**, Toxin Gene Profiles, Genetic Diversity, Antimicrobial Resistance, and Coagulase Type of *Staphylococcus aureus* From Cream-Filled Bakery Products. *Food Sci Nutr.*, **2019**,7(5):1727-1734.
41. **Couch JL, Soltis MT, Betley MJ**. Cloning and Nucleotide Sequence of The Type E Staphylococcal Enterotoxin Gene. *Journal of Bacteriology*, **1988**, 170(7): 2954-2960.
42. **Çakıcı N, Zorba NND, Akçalı A**. Gıda Endüstrisi Çalışanları ve Stafilokokal Gıda Zehirlenmeleri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, **2015**, 72(4): 337-350.

43. **Çalışkan E.** İstanbul İlinde Satışa Sunulan Pastalarda Patojen Bakteri Varlığının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, **2016**, İstanbul.
44. **Çatar O, Yıldırım Y.** Hand Hygiene Profile of Food Handlers in Canteens of Erciyes University Campus. *Kocatepe Vet J*, **2020**, 13(1):52-59.
45. **Dack GM, Garry BİZ, Woolpert O.** An Outbreak of Food Poisoning Proved To Be Due to A Yellow Hemolytic *Staphylococcus*. *Journal of Preventive Medicine*, **1930**,4, s:175-75.
46. **Demir C, Aslantaş Ö, Duran N, Ocak S, Özer B.** Investigation of Toxin Genes in *Staphylococcus aureus* Strains Isolated in Mustafa Kemal University Hospital, *Türk J Med Sci*, **2011**, 41(2), S:343-352.
47. **Diab MS, Ibrahim NA, Elnaker YF, Zidan SA, Saad MA.** Molecular Detection of *Staphylococcus aureus* Enterotoksigenes Isolated From Mastitic Milk and Humans in El-Bahira, Egypt, *International Journal of One Health*, **2021**, 7(1):70-77.
48. **Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM.** *Staphylococcus aureus*'un Ekzotoksinleri. *Clin Microbiol Rev.* **2000**, 13 (1), 16-34.
49. **Doyle ME, Hartmann FA, Ong ACL.** Methicillin-Resistant Staphylococci: Implications for Our Food Supply. *Animal Health Research Review*, **2012**,13(2):157-180.
50. **Elmalı M.** Türkiye Klinikleri. Sütün Hijyenik Kalitesi. 1. Baskı, Ankara, **2019**. S. 97-102.
51. **Erol İ,** Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, **2007**.
52. **Erol İ, Sırıken B, Şireli UT, Kısa Ö, Albay A ve ark.** Kremalı Pastaların Mikrobiyolojik Kalitelerinin Belirlenmesi. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **1996**, 43, s:413-420.
53. **Ertas N, Gonulalan Z,** Kayseri İlinde Satılan Çiğ Sütlerde *Staphylococcus aureus* ve Enterotoksinlerinin Varlığı Üzerine Araştırmalar. *F.Ü. Sağ Bil Vet Derg.*, **2010**, 24(1):11-15.
54. **Evenson ML, Hens MW, Bernstein RS, Bergdoll MS.** Estimation of Human Dose of *Staphylococcal Enterotoxin A* Form A Large Out Break of Staphylococcal Food Poisoning Involving Chocolate Milk. *International Journal of Food Microbiology*, **1988**,7(4): 311-316.
55. **Evren M.** Samsun Piyasasında Satışa Sunulan Kremalı Pastaların Mikrobiyolojik Nitelikleri. Türkiye 9. Gıda Kongresi, **2006**, 24-26 Mayıs, Bolu.
56. **Fisher EL, Qin L, Da F, Tan DCS, Nguyen TH ve ark.** Toxin Mediates Sepsis Caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus epidermidis*. *Plos Pathogen*, **2017**, **13**(2): e1006153.
57. **Fitzgerald JR, Sturdevant DE, Mackie SM, Gill SR, Musser JM.** Evolutionary Genomics of *Staphylococcus aureus*: Insights Into The Origin of Methicillin-Resistant Strains and The Toxic Shock Syndrome Epidemic., *Proc Natl Acad Sci USA*. **2001**, 98(15):8821-8826.
58. **Food and Agriculture Organization of The United Nations.** The FAO Action Plan on Antimicrobial Resistance 2021-2025, FAO, **2022**.
59. **Foster T.** Medical Microbiology. Chapter 12: *Staphylococcus*. 4th Edition, Ed: Samuel Baron, Galveston (TX): University of Texas Medical Branch At Galveston, Galveston, **1996**, S. 1-11.
60. **Fraser JD, Clow F, Proft T.** Immobilization of Proteins To Biacore Sensor Chips Using *Staphylococcus aureus* Sortase A. *Biotechnology Letters*, **2008**, 30(9):1603–1607.
61. **Fueyo JM, Mendoza MC, Rodicio MR, Muñoz J, Alvarez MA ve ark.** Cytotoxin and Pyrogenic Toxin Superantigen Gene Profiles of *Staphylococcus aureus* Associated with Subclinical Mastitis in Dairy Cows and Relationships with Macrorestriction Genomic Profiles. *Journal of Clinical Microbiology*, **2005**, 43(3): 1278-1284.
62. **Garrrity GM, Bell JA, Lilburn TG.** Taxonomic Outline of the Prokaryotes. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Staphylococcaceae*. 2th Edition, New York Berlin Heidelberg, New York, **2004**, S. 186-189.
63. **Ge B, Mukherjee S, Hsu CH, Davis JA, Tran TTT ve ark.** MRSA and Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* in US Retail Meats, 2010–2011. *Food Microbiology*, **2017**, 62, s: 289-297.
64. **Gelatti LC, Bonamigo RR, Becker AP, d'Azevedo.** *Staphylococcus aureus* Resistentes à Metilina: Disseminação Emergente na Comunidade, *An. Bras. Dermatol.* **2009**, 84 (5).
65. **Gencay YE, Ayaz ND, Kasımoğlu Doğru A.** Enterotoxin Gene Profiles of *Staphylococcus aureus* and Other Staphylococcal Isolates From Various Foods and Food Ingredients. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.* **2010**, 7(2):75-80.

66. **Giannatale Di E, Prencipe V, Tonelli A, Marfaglia C, Migliorati G.** Characterisation of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated From Food For Human Consumption. *Veterinaria Italiana*, **2011**, S. 47(2): 165- 173.
67. **Gönül Ö.** Pastacılıkta Kullanılan Kremaların Kalitesi, *Aydın Gastronomy*, **2017**, 1(2): 57-66.
68. **Gönül Ö, Bostan K.** Kremaların Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerine Nisin ve Lisozimin Etkisi. *Aydın Gastronomy*, **2018**, 2(1):1-13.
69. **Gücükoğlu A, Kevenk TO, Uyanık T, Çadırcı Ö, Terzi G ve ark.** Detection of Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in Raw Milk and Dairy Products By Multiplex PCR. *Journal of Food Science*, **2012**, 77(11): 620-623.
70. **Gücükoğlu A, Çadırcı Ö, Terzi Gülel G, Uyanık T, Abdullahi A.** Enterotoxin Gene Content and Antibiotic Resistance Profiles of *Staphylococcus aureus* Isolated From Traditional Turkish Dairy-Based Desserts, **2020**,29(4): 2073-2080.
71. **Gümüş T, Dağhoğlu O, Konyalı AM.** Tekirdağ'da Tüketime Sunulan Yaş Pastaların Mikrobiyolojik Kalitesi, *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, **2005**, 2, s: 215-220.
72. **Gündoğan N, Citak S, Yücel N, Devren A.** A Note on the Incidence and Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus* Isolated from Meat and Chicken Samples. *Meat Science*, **2005**, 69(4):807-10.
73. **Hampikyan H, Ulusoy B, Bingöl EB, Çolak H, Akhan M.** İstanbul'da Tüketime Sunulan Bazı Izgara Tipi Gıdalar ile Salata ve Mezelerin Mikrobiyolojik Kalitelerinin Belirlenmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Dergisi*, **2008**, 38(2): 87-94.
74. **Harrigan WF.** Laboratory Methods in Food Microbiology. 3 Th Edition, Academic Press, USA, **1998**, s: 113-115.
75. **Hassani S, Doust RH, Mobarez AM,** Enterotoxin A Gene Barrier *Staphylococcus aureus*, Within Traditionally Dairy Products of Tehran, *Int J Enteric Pathog*, **2014**, 2(4): e20906.
76. **Hassanzadazar H, Taami B, Abbasi Z, Aminzare M.** Microbial Contamination of Cream-Filled Pastries in the Confectioneries of Zanjan, Iran. *Nutrition Fasting and Health*, **2018**, 6(1):30-34.
77. **Hennekinne JA, De Buyser ML, Dragacci S.** *Staphylococcus aureus* and its Food Poisoning Toxins: Characterization and Outbreak Investigation. *FEMS Microbiology Reviews*, **2012**, 36(4): 815-836.
78. **Holeckova B, Holoda E, Fotta M, Kalinacova V, Gondol J ve ark.** Occurrence of Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in Food, *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, **2002**, 9(2):179-182.
79. **Holmberg SD, Blake PA.** Staphylococcal Food Poisoning in the United States. New Facts and Old Misconceptions. *JAMA*. **1984**, 251(4):487-489.
80. **Hovde CJ, Hackett SP, Bohach GA.** Nucleotide Sequence of the Staphylococcal Enterotoxin C3 Gene Sequence Comparison of All Three Type C Staphylococcal Enterotoxins. *Molecular and General Genetics*. **1990**, 220(2): 329-333.
81. **Hu SK, Liu SY, Hu WF, Zheng TL, Xu JG,** Molecular Biological Characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from food. *Eur Food Res Technol*, **2013**, 236, 285-291.
82. **Humber J, Denny CB, Bohrer CW.** Influence of pH on the Heat Inactivation of Staphylococcal Enterotoxin a as Determined by Monkey Feeding and Serological Assay, *American Society for Microbiology Applied Microbiology*, **1975**, 30(5):755-758.
83. **Huong BTM, Mahmud ZH, Neogi SB, Kassu A, Nhien NV ve ark.** Toxigenicity and Genetic Diversity of *Staphylococcus aureus* Isolated from Vietnamese Ready-To-Eat Foods. *Food Control*. **2010**, 21(2):166-171.
84. **Irkin R, Bozkurt B, Tümen G.** Determination of the Prevalence of *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus* in Meat Products By Real-Time PCR and Testing Their Antibiotic Susceptibility. *Medycyna Weterynaryjna*, **2021**, 77(7): 358-364.
85. **Jafari SMA, Madi NS, Nahaisi MH.** Incidence of Pathogenic Bacteria in Cakes and Tarts Displayed for Sale in Tripoli, Libya. *World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Nutrition and Food Engineering*, **2013**, 7(3):210-211.
86. **Jassim SA, Kandala NJ.** Molecular Detection of Enterotoxin genes of Multiresistant *Staphylococcus aureus* Isolates from Different sources of Food. *Iraqi Journal of science*, **2021**, 62(1):61-74.

87. **Jay JM, Loessner MJ, Golden DA.** Staphylococcal Gastroenteritis. In: Modern Food Microbiology, Seventh Edition. (2005). ISBN 0-387-23180-3, USA.
88. **Johns MB, Khan SA.** Staphylococcal Enterotoxin B Gene Is Associated With A Discrete Genetic Element. Journal of Bacteriology, Sept. **1988**, 170(9): 4033-4039.
89. **Kelman A, Soong YA, Dupuy N, Shafer D, Richbourg W ve ark.** Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus* from Retail Ground Meats. Journal of Food Protection, **2011**, 74(10):1625-1629.
90. **Keyvan E, Özdemir H.** Sığır Karkaslarında *Staphylococcus aureus*'un Varlığı, Enterotoksijenik Özellikleri ve Antimikrobiyel Dirençliliği. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, **2016**, 63, s:17-23.
91. **Kholy AM, Shater MAH, Abdel-Gawad MM, Zeinhom MMA.** Prevalence of Enterotoxigenic *S. aureus* in Table Eggs in El-Fayoum City, Egypt. Journal of Veterinary Medical Research, 2022, 29(1):1-5.
92. **Kısa Ç, Tuncer Y.** Kanatlı Etlerinde *Staphylococcus aureus* Yaygınlığı ve Antibiyotik Direnç Profillerinin, Antibiyotik Direnç ve Enterotoksin Genlerinin Belirlenmesi. Gıda The Journal of Food, **2021**, 46 (3): 692-706.
93. **Kitai S, Shimizu A, Kawano J, Sato E, Nakano C ve ark.** Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated From Retail Raw Chicken Meat in Japan. Journal of Veterinary Medical Science. **2005**, 67(1): 107-110.
94. **Kolat B.** Ankara'da Bulunan Pastane İmalathanelerinde HACCP'in Uygulanabilirlik Düzeyi, **2008**, Gazi Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü, Aile Ekonomisi ve Beslenme Eğitimi Anabilim Dalı, 124 s, Ankara.
95. **Kong C, Neoh H, Nathan S.** Targeting *Staphylococcus aureus* Toxins: A Potential Form of Anti-Virulence Therapy. UKM Medical Molecular Biology Institute (UMBI), Universiti Kebangsaan Malaysia, 56000 Cheras, Kuala Lumpur, Malaysia, **2016**, 8(3): 72.
96. **Kuroda M, Ota T, Uchiyama I, Baba T, Yuzawa H ve ark.** Whole Genome Sequencing of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Lancet, **2001**, 357 (9264):1225-1240.
97. **Ladhani S.** Recent Developments in Staphylococcal Scalded Skin Syndrome. Clinical Microbiology and Infection, **2001**, 7(6): 301-307.
98. **Lakhundi S, Zhang K.** Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. Clinical Microbiology Reviews, **2018**, 31(4): e00020-18.
99. **Lakpanhal P, Panda AK, Chahota R, Choudhary S, Thakur SD.** Incidence and Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Isolated From Ready-to-Eat Foods of Animal Origin From Tourist Destinations of North-Western Himalaya's, Himachal Pradesh, India, J. Food Sci Technol, **2019**, 56(2):1078-1083.
100. **Le Loir Y, Baron F, Gautier M.** *Staphylococcus aureus* and Food Poisoning. Genetics and Molecular Research, **2003**, 2(1): 63-76.
101. **Lefebvre D, Blanco-Valle K, Hennekinne JA, Simon S, Fenaille F ve ark.** Multiplex Detection of 24 Staphylococcal Enterotoxins in Culture Supernatant Using Liquid Chromatography Coupled to High-Resolution Mass Spectrometry. Toxins, **2022**, 14(4): 249.
102. **Ljupco A, Pavle S, Dean J, Marija R, Sandra K ve ark.** Microbiological Quality of Cakes and Pastries Sold in Skopje, Macedonia. Mac. Vet Rew. **2010**, 33(1):9-12.
103. **Lopes HR, Noletto ALS, Heras MDL, Bergdoll MS.** Selective Enterotoxin Production in Foods by *Staphylococcus aureus* Strains That Produce More Than One Enterotoxin, J Food Prot, **1993**, 56 (6): 538-540.
104. **Lowy FD.** *Staphylococcus aureus* Infections. New England J Med, **1998**, 339(8):520-532.
105. **Mashouf RY, Hosseini SM, Mousavi SM, Arabestani MR.** Prevalance of Enterotoxin Genes and Antibacterial Susceptibility Pattern of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated From Animal Originated Foods in West of Iran, Oman Medical Journal, **2015**, 30 (4): 283-290.
106. **Mehrotra M, Wang G, Johnson WM.** Multiplex PCR for Detection of Genes for *Staphylococcus aureus* Enterotoxins, Exfoliative Toxins, Toxic Shock Syndrome Toxin 1, and Methicillin Resistance. Journal of Clinical Microbiology, **2000**, 38(3): 1032-1035.

107. **Meldrum R.J, Smith R.M.M, Enis P, Garside J.** Microbiological Quality of Randomly Selected Ready-To-Eat Foods Sampled Between 2003 and 2005 in Wales, UK. *International Journal of Food Microbiology*, **2006**, 108 (3):397-400.
108. **Munson SH, Tremaine MT, Betley MJ, Welch RA.** Identification and Characterization of Staphylococcal Enterotoxin Types G and I from *Staphylococcus aureus*. *Infection and Immunity*. **1998**, 66(7): 3337-3348.
109. **Murray RJ.** Recognition and Management of *Staphylococcus aureus* Toxin-Mediated Disease. *Internal Medicine Journal*, **2005**, 35(2):106-19.
110. **Müştak HK, Esendal ÖM.** *Staphylococcus aureus* Ekzotoksinleri. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, **2008**, 19(1), 69–74.
111. **Normanno G, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia NC, Corrente M ve ark.** Occurrence, Characterization and Antimicrobial Resistance of Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* Isolated From Meat and Dairy Products. *International Journal of Food Microbiology* **2007a**, 115(3): 290-296.
112. **Normanno G, Corrente M, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia NC ve ark.** Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) In Foods of Animal Origin Product In Italy. *International Journal of Food Microbiology* **2007b**, 117, s:219-222.
113. **Novick R, Götz F, Herbert S, Ziebandt AK, Ohlsen K ve ark.** Repair of Global Regulators in *Staphylococcus aureus* 8325 and Comparative Analysis with Other Clinical Isolates. *Infect Immun*. **2010**, 78(6): 2877–2889.
114. **Novoa MGA, Moreno MIM, Gomez JPG, Castillo EZ, Medina PJG ve ark.** Detection of Enterotoxin Genes of *Staphylococcus aureus* Isolates From Food Contact Surfaces in the Dairy Industry of Jalisco, Mexico. *Revista Ciencias Biologicas Y De La Salud*, **2018**, s:72-78.
115. **Oh SK, Lee N, Cho GG, Shin DB, Koo M.** Occurrence of Toxigenic *Staphylococcus aureus* in Ready-to-Eat Food in Korea. *J Food Prot.*, **2007**, 70 (5): 1153–1158.
116. **Okoro AA, Amala SE, Nwokah EG.** Enterotoxin production and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* among food handlers in sub-urban setting in rivers state, Nigeria. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, **2022**, 9(3):54-59.
117. **Ostyn A, De Buyser M L, Guillier F, Groult F, Félix B ve ark.** First Evidence of a Food Poisoning Outbreak Due to Staphylococcal Enterotoxin Type E, France, 2009. *Euro Surveill.*, **2010**, 15(13): 19528.
118. **Otto M.** *Staphylococcus aureus* Toxins. *Current Opinion in Microbiology*. **2014**, 17: 32–37.
119. **Özen NS, Ataman ŞT, Seyman D, Aldağ H, Emek M.** Antalya İli Gıda Çalışanlarında Nazal *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığının ve MRSA Oranlarının Üç Farklı Yöntem Kullanılarak İncelenmesi, *Türk Hij Biyol Derg*, **2013**, 70 (2):51-58.
120. **Pamuk Ş, Erdoğan M, Yıldırım Y, Hızlısoy H, Al S ve ark.** Üniversite Kampüs Kantinlerindeki Gıdaların Mikrobiyolojik Kalitesinin ve Gıda Çalışanlarının El Hijyen Durumlarının Değerlendirilmesi. *Kocatepe Vet J*, **2018**, 11(4):363-373.
121. **Parisi A, Caruso M, Latorre L, Santagada G, Fraccalvieri R ve ark.** Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Sheep and Goat Bulk Tank Milk from Southern Italy. *Small Ruminant Research*, **2016**, 135, s:26-31.
122. **Park JY, Seo KS.** *Staphylococcus aureus*, *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, 5th Edition, Editor(s):Michael P. Doyle, Francisco Diez-Gonzalez, Colin Hill, **2019**.
123. **Peliser MR, Klein CS, Ascoli KR, Zotti TR, Arisili ACM.** Occurrence of *Staphylococcus aureus* and Multiplex PCR Detection of Classic Enterotoxin Genes in Cheese and Meat Products. *Brazilian J. Microbiol.* **2009**, 40(1):145-148.
124. **Pereira ML, Carmo LS, Santos EJ, Bergdol MS,** Staphylococcal Food Poisoning From Cream-Filled Cake in a Metropolitan Area of South-Eastern Brazil, *Rev. Saude Publica*, **1994**, 28 (6) :406-409.
125. **Pesavento G, Ducci B, Comodo N, Lo Nostro A.** Antimicrobial Resistance Profile of *Staphylococcus aureus* Isolated from Raw Meat: A Research for Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Food Control*, **2007**, 18(3):196-200.
126. **Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE.** Staphylococcal Enterotoxins. *Toxins*, **2010**, 2(8):2177-2197.

127. **Pondit A, Haque ZF, Sabuj AAM, Khan MDSR, Saha S.** Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolated From Chicken and Quail Eggshell. *J Adv Vet Anim Res*, **2018**, 5(4):466-471.
128. **Prevost G, Cribier B, Couppie P, Petiau P, Supersac G ve ark.** Pantón-Valentine Leukocidin and Gamma-Hemolysin from *Staphylococcus aureus* ATCC 49775 are Encoded by Distinct Genetic Loci and Have Different Biological Activities. *Infeksiyon and Community*, **1995**, 63(10): 4121-412.
129. **Rahimi E.** Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* Isolated From Traditional and Commercial Dairy Products Marketed in Iran. *Brazilian Journal of Microbiology*, **2013**, 44(2):393-399.
130. **Rahman MA, Rahman AKMA, Islam Mda, Alam Mdm.** Multi-Drug Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Milk. Chicken Meat, Beef and Egg in Bangladesh, *Bangladesh Journals Online*, **2018**, 5(2): 175-183.
131. **Reygaert WC.** Antimicrobial Resistance Mechanisms of *Staphylococcus aureus*, Department of Biomedical Sciences. Oakland University William Beaumont School of Medicine, Rochester, MI, USA, **2013**.
132. **Riva A, Borghi E, Cirasola D, Colmegna S, Borgo F ve ark.** Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Raw Milk: Prevalence, Sccmec Typing, Enterotoxin Characterization, and Antimicrobial Resistance Patterns. *International Association for Food Protection*, **2015**, 78 (6): 1142-1146.
133. **Rola JG, Korpysa-Dzirba W, Czubkowska A, Osek J.** Prevalence of Enterotoxin Genes and Antimicrobial Resistance of Coagulase-Positive *Staphylococci* Recovered from Raw Cow Milk. *Journal of Dairy Science*, **2015**, 98(7): 4273-4278.
134. **Rortana C, Nguyen-Viet H, Tum S, Unger F, Boqvist S ve ark.** Prevalence of *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus* in Chicken Meat and Pork From Cambodian Markets. *Pathogens*, **2021**, 10(5): 556.
135. **Rosec JP, Guiraud JP, Dalet C, Richard N.** Enterotoxin Production by *Staphylococci* Isolated from Foods in France. *International Journal of Food Microbiology*, **1997**, 35 (3): 213-221.
136. **Ruzin A, Lindsay J, Novick RP.** Molecular Genetics of SaPI1-a Mobile Pathogenicity Island in *Staphylococcus aureus*. *Molecular Microbiology*, **2001**, 41(2) 365-377.
137. **Sağlam D, Şeker E.** Food-Borne Bacterial Pathogens. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, **2016**, 9(2): 105.
138. **Saygı Ş, Battal D, Şahin N.** Çevre ve İnsan Sağlığı Yönünden İlaç Atıklarının Önemi. *Marmara Pharmaceutical Journal*, **2012**, 16(2): 82-90.
139. **Schantz EJ, Rössler WG, Wagman J, Spero L, Dunnery DA ve ark.** Stafilokokal enterotoksin B'nin saflaştırılması. *Biyokimya*, **1965**, 4(6):1011-6.
140. **Schelin J, Wallin-Carlquist N, Cohn MT, Lindqvist R, Barker GC ve ark.** The Formation of *Staphylococcus aureus* Enterotoxin in Food Environments and Advances in Risk Assessment, Virulence, **2011**, 2(6): 580-592.
141. **Schmitt M, Schuler-Schmid U, Schmidt-Lorenz W.** Temperature Limits of Growth, Tnase and Enterotoxin Production of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Foods. *International Journal of Food Microbiology*, **1990**, 11(1): 1-19.
142. **Seo KS, Bohach GA.** *Staphylococcus aureus*. 493-518. In: Doyle MP, Beuchat LR (Eds.), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* ASM Press, **2007**, Washington.
143. **Sergelidis D, Angelidis AS.** Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Controversial Food-Borne Pathogen. *Letters in Applied Microbiology*, **2017**, 64 (6): 409-418.
144. **Song Q, Zhu Z, Chang Y, Shen X, Gao H ve ark.** Prevalance and Characteristics of Enterotoxin B-Producing *Staphylococcus aureus* Isolated From Food Sources: A Particular Cluster of ST188 Strains Was Identified. *Journal of Food Science*, **2016**, 81(3): 715-718.
145. **Sudagidan M, Aydin A.** Virulence Properties of Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Food Isolates Encoding Pantón-Valentine Leukocidin Gene. *International Journal of Food Microbiology*, **2010**, 138(3): 287-291.
146. **Sundararaj N, Kalagatur NK, Mudilli V, Krishna K, Antonysamy M.** Isolation and Identification of Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* Isolates from Indian Food Samples: Evaluation of in-house Developed Aptamer Linked Sandwich ELISA (ALISA) Method. *J Food Sci Technol*, **2019**, 56(2):1016-1026.

147. **Syed MA, Shah SHH, Sherafzal Y, Rehman SS, Khan MA ve ark.** Detection and Molecular Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Table Eggs in Haripur, Pakistan, Foodborne Pathogens and Disease, **2018**, 15(2): 86-93.
148. **Tallent S, Hait J, Bennett RW, Lancette GA.** Bam Chapter12: *Staphylococcus aureus*. **Rev. 2016, page date: 2019.** Erişim: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-12-staphylococcus-aureus>. Erişim tarihi: 12.11.2021.
149. **Tang J, Zhang R, Chen J, Zhao Y, Tang C ve ark.** Incidence and Characterization of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Food Markets, Ann Microbiol, **2015**, 65: 279-286.
150. **Tarhane AK, Yarsan E.** Kanatlı Hekimliği. Antibiyotik Direnci. 1.Baskı, Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, **2022**, S. 821.
151. **Tarisse CF, Goulard-Huet C, Nia Y, Devilliers K, Marce D ve ark.** Highly Sensitive and Specific Detection of Staphylococcal Enterotoxins SEA, SEG, SEH, and SEI By Immunoassay. Toxins, **2021**, 13(2): 130.
152. **Tatini SR.** Influence of Food Environments on Growth of *Staphylococcus aureus* and Production of Various Enterotoxins. Journal of Milk and Food Technology, **1973**, 36 (11): 559–563.
153. **Tatini SR, Bennett RW.** *Staphylococcus* detection by cultural and modern techniques. Encyclopedia of Food Microbiology. London: Academic Press, **1999**, s: 2071–2076
154. **Tibana A, Rayman K, Akhtar M, Szabo R.** Thermal Stability of Enterotoxins A, B, and C in a Buffered System. J Food Prot. **1987**, 50(3): 239-242.
155. **Tirsi S.** İstanbul’da Tüketime Sunulan Yaş Pastaların Bazı Patojen Bakteriler Yönünden İncelenmesi ve Mevsimlere Göre Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, **2016**, Tekirdağ.
156. **Titouche Y, Houali K, Ruiz-Ripa L, Vingadassalon N, Nia Y ve ark.** Enterotoxin Genes and Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* Isolated from Food Products in Algeria, Journal of Applied Microbiology, **2020**, 129:1043-1052.
157. **Todd ECD, Jarvis GA, Weiss KF, Riedel GW, Charbonneau S.** Microbiological Quality of Frozen Cream-Type Pies Sold in Canada. Journal of Food Protection, **1983**, 46(1): 34-40.
158. **Tong SYC, Davis JS, Eichenberger E, Hollanda TL, Fowler Jr VG.** *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations and Management. Clin Microbiol Rev, **2015**, 28(3):603-61.
159. **Toubar SME, Elbialy AA, Zaky MMM, El-Shafey AA.** Prevalence of *Staphylococcus aureus* in Raw Milk and Some Dairy Products in Port Said Governorate. American Journal of Zoology, **2018**, 1(2): 40-46.
160. **Uçan US.** Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğrencilerinde El Hijyeni ve Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığının Araştırılması. Vet Bil Derg, **2001**, 17(4), s:27-30.
161. **Valsangiacamo C, Dolina M, Peduzzi R, Jaggli M,** Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Isolates from Hospitalized Patients and Dairy Food (Fresh Cheese): A Survey Over a Decade in Southern Switzerland, Concise Communications, **2000**, 6(7): 393-394.
162. **Vural A, Erkan ME, Yesilmen S.** Microbiological Quality of Retail Chicken Carcasses and Their Products in Turkey. Medycyna Weter, **2006**, 62: 1371-1374.
163. **Waldvogel, F.A.** *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, Eds., Principles and Practice of Infectious Diseases, Churchill Livingstone, Philadelphia, **2000**, s: 2069-2092.
164. **Wallin-Carlquist N, Marta D, Borch E, Radström P.** Prolonged Expression and Production of *Staphylococcus aureus* Enterotoxin A in Processed Pork Meat. Int J Food Microbiol, **2010**, 141(1): 69-74.
165. **Waters AE, Contente-Cuomo T, Buchhagen J, Liu CM, Watson L ve ark.** Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* in US Meat and Poultry. Clinical Infectious Diseases, **2011**, 52(10):1227-1230.
166. **Wieneke AA, Roberts D, Gilbert, RJ.** Staphylococcal Food Poisoning in The United Kingdom, 1969–90. Epidemiology Infection. **1993**, 110(3): 519-531.
167. **Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G ve ark.** Koneman’s Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Lippincott Williams & Wilkins, Sixth Edition, Philadelphia, USA, **2006**.

168. **Yarwood JM, McCormick JK, Paustian ML, Orwin PM, Kapur V ve ark.** Characterization and Expression Analysis of *Staphylococcus aureus* Pathogenicity Island 3. Implications for The Evolution of Staphylococcal Pathogenicity Islands. J Biol Chem, **2002**, 277(15):13138-47.
169. **Yazgı H, Ertek M, Özbek A, Kadanalı A,** Hastane Personeli ve Normal Popülasyonda Nazal *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığı ve İzolatların Antibiyotik Direnci, Mikrobiyol Bült, **2003**, 37: 137-142.
170. **Yıldırım T, Sadati F, Kocaman B, Siriken B.** Staphylococcal Enterotoxin Detection in Raw Milk and Cheese Origin Coagulase Positive Isolates, International Journal of Science Letters, **2019**, 1(1): 30-41.
171. **Yılmaz S, Gönülalan Z.** Kayseri Bölgesinde Tüketime Sunulan Çiğ Sütlerde *Staphylococcus aureus* ve Enterotoksin varlığının Araştırılması, Journal of Health Science, **2010**, 19(1): 26-33.
172. **Yu T, Xu H, Zhao Y, Han Y, Zhang Y ve ark.** Aptamer Based High Throughput Colorimetric Biosensor for Detection of *Staphylococcus aureus*, Scientific Reports, 2020, 10(1): 9190.
173. **Yüce A.** Antimikrobik İlaçlara Direnç Kazanma Mekanizmaları. Klimik Dergisi, **2001**, S.14: 41-46.
174. **Yücel A, İşgöz BB, Göçmen D, Tiryakioğlu.** Bursa’da Tüketime Sunulan Kremalı Pastaların Mikrobiyolojik Nitelikleri Üzerinde Bir Araştırma. Uludağ Üniv Zir Fak Derg, **1992**, 9:91-98.
175. **Yücel N, Anıl Y.** Çiğ Süt ve Peynir örneklerinden *Staphylococcus aureus* ve Koagülaz negatif stafilokokların İdentifikasyonu ve Antibiyotik duyarlılığı. Türk Hij Den Biyol Derg, **2011**, 68(2): 73-78.
176. **Yüksekkaya Ş, Opuş A, Güvenç Hİ, Kaya M, Akkaya O ve ark.** 2009-2013 Yılları Arasında Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Kan Kültüründen İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarının Antimikrobiyal Ajanlara Duyarlılıklarının Değerlendirilmesi. ANKEM Derg, **2017**, 31 (1):1-6.
177. **Zhang S, Iandolo JJ, Stewart GC.** The Enterotoxin D Plasmid of *Staphylococcus aureus* Encodes A Second Enterotoxin Determinant (Sej). FEMS Microbiol, **1998**, 168(2): 227-233.

ÖZGEÇMİŞ

İlköğrenimini Gazi Paşa İlk Öğretim Okulu'nda, orta öğrenimini Adana Kız Lisesi'nde ve Yüksek öğrenimini 2013-2018 yılları arasında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde tamamladı. Yüksek Lisans eğitimime 2020 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nda Sayın Prof. Dr. Mehmet ELMALI danışmanlığında başladı. Şuan Seher Entegre Tavukçuluk LTD ŞTİ'de Veteriner Hekim olarak görev yapmaktadır.

