

KANATLI ETLERİNDE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* YAYGINLIĞI VE ANTİBİYOTİK DİRENÇ PROFİLLERİNİN, ANTİBİYOTİK DİRENÇ VE ENTEROTOKSİN GENLERİNİN BELİRLENMESİ*

Çilem Kısa, Yasin Tuncer**

Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta, Türkiye

Geliş / Received: 17.12.2020; Kabul / Accepted: 09.03.2021; Online baskı / Published online: 27.04.2021

Kısa, Ç., Tuncer, Y. (2021). Kanatlı etlerinde *Staphylococcus aureus* yaygınlığı ve antibiyotik direnç profillerinin, antibiyotik direnç ve enterotoksin genlerinin belirlenmesi. *GIDA* (2021) 46 (3) 692-706 doi: 10.15237/gida. GD21048

Kısa, Ç., Tuncer, Y. (2021). Determination of Staphylococcus aureus prevalence and antibiotic resistance profiles, antibiotic resistance and enterotoxin genes in poultry meats. GIDA (2021) 46 (3) 692-706 doi: 10.15237/gida. GD21048

ÖZ

Bu çalışmada, Isparta ve Antalya illerinde perakende satışı yapılan kanatlı etlerinde (32 piliç, 9 hindi, 9 bıldırcın) *Staphylococcus aureus* yaygınlığının araştırılması, antibiyotik direnç profilleri ve direnç genlerinin yanı sıra enterotoksin genleri varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Kanatlı etlerinden muhtemel *S. aureus* izolasyonunda Baird Parker agar besiyeri kullanılmıştır. İzolatların tür düzeyinde tanısı *S. aureus*'da termostabil nükleaz genine (*nuc*) özgü primer çifti kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile yapılmıştır. 130 muhtemel *S. aureus* izolatının 16'sında *nuc* genine özgü 458 bp büyüklüğünde ampikonlar elde edilmiştir. Kanatlı eti örneklerinde *S. aureus* bulunma sıklığı % 20 (10/50) bulunmuştur. Koagülaz testi, *S. aureus* izolatlarının tamamının koagülaz pozitif olduğunu göstermiştir. Disk difüzyon testi, izolatların tamamının (% 100) kloramfenikole ve teikoplanine duyarlı, penisilin G'ye ise dirençli olduğunu göstermiştir. İzolatların % 81.25'inin (13/16) metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) olduğu tespit edilmiştir. PZR işlemi sonucu *S. aureus* suşlarında en sık rastlanan antibiyotik direnç geninin *blaZ* (% 62.5, 10/16) olduğu tespit edilmiştir. *S. aureus* suşlarının hiçbirinde *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* geni varlığı belirlenmemiştir.

Anahtar kelimeler: Kanatlı eti, *Staphylococcus aureus*, antibiyotik direnç, antibiyotik direnç geni, enterotoksin geni

DETERMINATION OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* PREVALENCE AND ANTIBIOTIC RESISTANCE PROFILES, ANTIBIOTIC RESISTANCE AND ENTEROTOXIN GENES IN POULTRY MEATS

ABSTRACT

In this study, it was aimed to investigate the prevalence of *Staphylococcus aureus* in poultry meats (32 chickens, 9 turkeys, 9 quails) sold in Isparta and Antalya provinces, and to determine the presence of enterotoxin genes as well as antibiotic resistance profiles and resistance genes. Baird Parker agar

*Bu çalışma Çilem Kısa'nın yüksek lisans tez çalışmasıdır. Bu çalışmanın bir kısmı Uluslararası Genç Araştırmacılar Öğrenci Kongresi (IYRSC 2019) Burdur/Türkiye'de sözlü sunum olarak sunulmuş ve kongre kitabında bildiri olarak basılmıştır. *This paper is MSc thesis of Çilem Kısa. This study was presented as a oral presentation at the International Young Researchers Student Congress (IYRSC 2019) Burdur/Turkey, and a part of this study was published in the book of proceedings.*

** Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding Author

✉ yasintuncer@sdu.edu.tr

☎ (+90) 246 211 1713

☎ (+90) 246 237 0437

Çilem Kısa; ORCID no: 0000-0001-9209-1701

Yasin Tuncer; ORCID no: 0000-0002-2075-5027

medium was used to isolate presumptive *S. aureus* from poultry meats. The species-level identification of isolates was done by polymerase chain reaction (PCR) using primer pair specific to the thermostable nuclease gene (*nuc*) in *S. aureus*. As a result of the PCR analysis, amplicons of 458 bp specific to the *nuc* gene were obtained in 16 of 130 presumptive *S. aureus* isolates. The frequency of *S. aureus* in poultry meat samples was found to be 20% (10/50). Coagulase test showed that all the *S. aureus* isolates were coagulase positive. Disk diffusion test showed that all of the isolates (100 %) were susceptible to chloramphenicol and teicoplanin and resistant to penicillin G. It was determined that 81.25 % (13/16) of the isolates were methicillin resistant *S. aureus* (MRSA). The most common antibiotic resistance gene in *S. aureus* strains was found to be *blaZ* (62.5 %, 10/16) as a result of PCR. The presence of *sea*, *seb*, *sec*, *sed* and *see* genes was not detected in any of the *S. aureus* strains.

Keywords: Poultry meat, *Staphylococcus aureus*, antibiotic resistance, antibiotic resistance gene, enterotoxin gene

GİRİŞ

Staphylococcus aureus, *Bacillales* sınıfına, *Staphylococcaceae* familyasına ve *Staphylococcus* cinsine ait Gram pozitif, kok morfolojisinde, fakültatif anaerob, spor oluşturmeyen, hareketsiz, hemolitik, oksidaz-negatif, katalaz-pozitif ve koagülaz-pozitif bir bakteridir (Gulzar ve Zehra, 2018; Pal vd., 2020). *S. aureus*, kümeleşmiş koklar veya üzüm salkımına benzer kümeleşmiş koklar şeklinde mikroskopik morfoloji gösterir (Loir vd., 2003; Schelin vd., 2011). *S. aureus* toplumsal ve hastane kaynaklı hastalıklarla ilişkili yaygın bir patojendir (Lee, 2003; Pereira vd., 2009; Kadariya vd., 2014; Pal vd., 2020). İnsanlarda zatürre, ameliyat sonrası yara enfeksiyonları, cilt enfeksiyonları, bakteremi ve endokardit gibi hastalıklara neden olabilmektedir (Gulzar ve Zehra, 2018). *S. aureus* antibiyotiklere direnç gösteren mikroorganizmalar arasında halk sağlığını tehdit eden önemli bir bakteridir (Pal vd., 2020). Antibiyotikler hücre duvarı sentezini, protein sentezini, nükleik asit sentezini ve metabolik yolları inhibe ederek bakteriler üzerinde etkili olan antibakteriyel ajanlardır. Antibiyotiğe dirençli bakteriler, hem doğal (intrinsic) hem de kazanılmış (acquired) direnç mekanizmaları ile antibiyotiklerin etkisini engellerler. Transformasyon, transdüksiyon, plazmitler veya transpozonlarla konjugasyon ve mutasyon antibiyotik direnç kazanım yöntemleridir (Donham vd., 2010). *S. aureus*, kazanılmış antimikrobiyal direnç geliştirme potansiyeli yüksek bir mikroorganizma olarak tanımlanmaktadır. *S. aureus* suşları penisilin, metisilin ve vankomisin gibi birçok antibiyotiğe karşı direnç kazanmıştır. Metisilin dirençli *S. aureus* dünya genelinde büyük bir sorun haline gelmiş ve

hem hastanelerde hem de toplumda giderek daha fazla tespit edilmeye başlanmıştır (John vd., 2019).

Halk sağlığı açısından önemli sorunlar oluşturmasının yanı sıra, *S. aureus* gıdalarda çoğalıp ürettiği enterotoksinler ile gıda zehirlenmelerine de sebep olabilmektedir (Lee, 2003; Pereira vd., 2009; Kadariya vd., 2014; Pal vd., 2020). Isıl işlem ile gıdalardan *S. aureus* hücreleri elimine edilebilmekte, ancak ürettikleri ısıya dirençli toksinler stafilokokal gıda zehirlenmelerine neden olabilmektedir (Schelin vd., 2011). Stafilokokal enterotoksinler, biyolojik aktiviteleri ve yapısal ilişkileri nedeniyle pirojenik toksin süperantijen ailesinin üyeleri olarak sınıflandırılmıştır (Omoe vd., 2002; Argudín vd., 2012). Toksik şok sendromu toksini (TSST-1), stafilokokal enterotoksinler (SEA'dan SEE'ye, SEG'den SEJ'ye, SEL'den SEQ'ya ve SER'den SET'ye) ve stafilokokal enterotoksin benzeri toksinler (SEIK'den SEIQ'ya, SEIU'dan SEIX'e) olmak üzere 23'ten fazla stafilokokal enterotoksin tanımlanmıştır (Oliveria vd., 2018). Stafilokok gıda zehirlenmelerinin yaklaşık % 95'ine SEA'dan SEE'ye stafilokokal enterotoksin tiplerinin neden olduğu bilinmektedir. Stafilokokal gıda zehirlenmelerinin geri kalan % 5'i yeni tanımlanmış diğer stafilokokal enterotoksinler ile ilişkilidir (Omoe vd., 2002).

Bu çalışmada Isparta ve Antalya illerinde perakende satışı yapılan 50 adet kanatlı (32 piliç, 9 hindi, 9 bildırcın) eti örneğinde *S. aureus* yaygınlığının araştırılması ve *S. aureus* izolatlarında antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında ayrıca *S. aureus* izolatlarında antibiyotik direnç genleri

(*mecA*, *blaZ*, *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia*, *aph(2'')-Ib*, *aph(2'')-Ic*, *aph(2'')-Id*, *aph(3')-IIIa*, *ant(4')-Ia*, *ant(6')-Ia*, *ermA*, *ermB*, *ermC*, *msrA*, *msrB*, *tekK*, *tetM*, *tetL*, *vanA* ve *vanB*) ve enterotoksin genleri (*sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see*) varlığı PZR ile araştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Kanatlı eti örnekleri

Çalışmada kullanılan toplam 50 adet kanatlı eti örnekleri (7 piliç kanat, 7 piliç baget, 4 piliç incik, 7 piliç göğüs, 7 piliç kelebek, 9 hindi boyun ve 9 bıldırcın) Antalya ve Isparta illerinde bulunan kasap ve marketlerden 2019 yılı Kasım-Haziran aylarını kapsayan 8 aylık dönemde temin edilmiştir.

Muhtemel *S. aureus* suşlarının izolasyonu

Muhtemel *S. aureus* suşlarının izolasyonu için kanatlı eti örnekleri aseptik koşullar altında steril bistüri kullanılarak küçük parçalara ayrılmış ve 10 g tartılarak steril blender (Waring Commercial 8011 ES, Torrington, CT, ABD) içerisinde 90 mL steril fizyolojik tuzlu su (% 0.85 NaCl, w/v) çözeltisi ilave edilerek yüksek devirde 1-1.5 dakika (dk) homojenize edilmiştir. Hazırlanan bu ilk dilüsyonu takiben kanatlı eti örnekleri 10⁻³ seviyesine kadar dilüe edilmiştir. Her bir dilüsyondan mikropipet yardımıyla 0.1 mL alınarak aseptik koşullarda egg yolk tellurite (Acumedia LAB M) çözeltisi eklenmiş Baird Parker agar (BPA, Acumedia LAB M) besiyeri ortamına aktarılmış ve Drigalski spatülü ile yayma ekim yöntemi uygulanmıştır. Daha sonra Petri kutuları 37 °C'de 24-48 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Süre sonunda Petri kutularında gözlemlenen tipik *S. aureus* kolonileri (siyah merkezli ve etrafında çökelti halkası oluşan koloniler) muhtemel *S. aureus* izolatu olarak düşünülmüş ve öze yardımı ile alınarak BHI broth besiyeri ortamlarına aktarılmıştır. İzolatlar 37 °C'de 24 saat geliştirilerek kültüre edilmiştir. Seçilen izolatların saflık kontrolü BPA besiyerinde yapılmış ve saf olan kültürler steril gliserol (% 20, w/v) içeren tüplerde -20 °C'de stoklanmıştır.

Morfolojik tanı ve katalaz testi

Muhtemel *S. aureus* izolatlarının mikroskopik morfolojileri Gram boyama metodu ile hazırlanan preparatların ışık mikroskopunda (Soif, Türkiye)

incelenmesi ile belirlenmiştir (Temiz, 1994). Mikroskopik morfolojileri belirlenen izolatların katalaz testleri % 3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) (Merck, Darmstadt, Almanya) çözeltisi kullanılarak tespit edilmiştir (Temiz, 1994). Katalaz testinde pozitif (*S. aureus* ATCC 25923) ve negatif (*Enterococcus faecalis* ATCC 29212) kontrol olarak kullanılan referans suşlar Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

Genomik DNA izolasyonu

Muhtemel *S. aureus* izolatlarından genomik DNA Cancilla vd. (1992) tarafından önerilen yöntem ile izole edilmiştir. Kısaca, 0.5 mL kültür Eppendorf tüplerine aktarılmış ve 13000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir (Sigma 2-16P, Rotor No: 12148, Almanya). Hücre çöktürleri 0.5 mL liziz çözeltisi ile çözülmüş ve 37 °C'de 30 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda tüplere 30 µL sodyum dodesil sülfat (SDS, % 10 w/v) ilave edilmiş ve 80 °C'de 5 dk tutulmuştur. Lize olan hücre süspansiyonları üzerine 0.7 mL fenol-kloroform (1:10) ilave edilmiş ve tüpler 13000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Üst faz alınarak yeni steril Eppendorf tüplerine aktarılmış, üzerine 0.7 mL soğuk 2-propanol (Merck) ilave edilmiş ve 13000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Çökelti 50 µL Tris-EDTA tamponu (pH 8.0) içerisinde çözülmüştür. Genomik DNA örnekleri kullanılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Genomik DNA örneklerinin varlığı % 0.7 (w/v) agaroz (AppliChem GmbH., Darmstadt, Almanya) içerecek şekilde hazırlanan jellerde agaroz jel elektroforez yöntemi ile kontrol edilmiştir. Elektroforez işlemi OWL EASYCAST B2 (Thermo Fisher Scientific, ABD) yatay elektroforez sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elektroforez işlemi, 85 voltta 1.5-2 saat süreyle yapılmıştır. Jel 0.2 µg/mL etidyum bromit (Amresco, Solon, Ohio, ABD) içeren boya çözeltisinde 45 dk boyanmış ve süre sonunda 312 nm dalga boyunda ultraviyole ışık (Vilber Lourmat, ECX-F20.M, Fransa) altında incelenerek fotoğrafı çekilmiştir.

nuc geni varlığının polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile araştırılması

Muhtemel *S. aureus* izolatlarının tür düzeyinde tanısı *S. aureus*'da termostabil nükleaz genine (*nuc*) özgü 458 bp büyüklüğünde fragment veren NUC1 (5'-ATGAAGTCAATAAATCGCT-3') ve NUC2 (5'-TTTGGTGAAAAATACTTCTC-3') primerleri kullanılarak TurboCycler 2 (Blue-Ray Biotech Ltd., Tayvan) gradient termal döngü cihazı kullanılarak yapılmıştır. PZR işlemi toplam 50 µL PZR karışımı (25 µL 2x PCR master miks (Thermo #K0171, Litvanya), 20 µL nükleaz içermeyen su, 3 µL kalıp DNA, 1 µL ileri primer ve 1 µL geri primer) kullanılarak 1 döngü başlangıç denatürasyonu (94 °C'de 2 dk), 40 döngü çoğalma (94 °C'de 2 dk, 55 °C'de 2 dk, 72 °C'de 3 dk) ve 1 döngü son uzama (72 °C'de 10 dk) aşamalarından oluşan protokol takip edilerek gerçekleştirilmiştir (Gandra vd., 2011). Çoğaltılan PZR fragmentlerinin elektroforezi OWL EASYCAST B2 yatay elektroforez tankında % 2 (w/v) oranında agaroz içeren jellerde 85 voltta 1.5-2 saat süre ile yapılmıştır. Fragment büyüklüklerinin hesaplanmasında Genesta™ 100-bp DNA marker (GeneAll, Kore) moleküler belirteç olarak kullanılmıştır. Jeller etidyum bromit (Amresco) içeren çözeltide boyanmış ve UV transilluminatör üzerinde (Vilber Lourmat) görüntülenmiştir.

Koagülaz testi

S. aureus kolonilerinin koagülaz aktivitesi Oxoid Staphylase (DR0595A) test kiti (Oxoid Ltd., Basingstoke, İngiltere) kullanılarak üretici firma tarafından önerilen yöntemle göre test edilmiştir. Koagülaz testinde Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan temin edilen *S. aureus* ATCC 29213 suşu pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Antibiyotik direnç

S. aureus suşlarının antibiyotik direnç profili Oxoid Ltd. Şti. (İngiltere)'den temin edilen amikasin (30 µg), doksisisiklin (30 µg), eritromisin (15 µg), gentamisin (10 µg), kanamisin (30 µg), kinupristin-dalfopristin (15 µg), kloramfenikol (30 µg), linezolid (30 µg), minosiklin (30 µg), penisilin G (10 U), rifampin (5 µg), sefoksitin (30 µg), siprofloksasin (5 µg), teikoplanin (30 µg), tetrasiklin (30 µg) ve trimetoprim/

sulfametoksazol (30 µg) ticari antibiyotik diskleri kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir (Cariolato vd., 2008; Yogurtcu ve Tuncer, 2013). Sonuçlar Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Standards Institute, CLSI) 2016 kılavuzuna göre değerlendirilmiştir.

Antibiyotik direnç genlerinin tespiti

S. aureus izolatlarında oksasilin (*mecA*), penisilin (*blaZ*), gentamisin (*aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia*, *aph(2'')-Ib*, *aph(2'')-Ic*, *aph(2'')-Id*), streptomisin (*aph(3')-IIIa*, *ant(4')-Ia*, *ant(6')-Ia*), eritromisin (*ermA*, *ermB*, *ermC*, *msrA*, *msrB*), tetrasiklin (*tetK*, *tetM*, *tetL*) ve vankomisin (*vanA*, *vanB*) direnç genlerinin varlığı Çizelge 1'de verilen primer çiftleri kullanılarak PZR ile araştırılmıştır.

PZR protokolleri *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia*, *aph(3')-IIIa*, *ant(4')-Ia*, *aph(2'')-Ib*, *aph(2'')-Ic* ve *aph(2'')-Id* genleri için 1 döngü 94 °C'de 3 dk, 40 döngü 94 °C'de 40 saniye (sn), 55 °C'de 40 sn, 72 °C'de 40 sn ve 1 döngü 72 °C'de 2 dk; *ant(6')-Ia* geni için 1 döngü 94 °C'de 3 dk, 40 döngü 94 °C'de 30 sn, 56 °C'de 30 sn, 72 °C'de 1 dk ve 1 döngü 72 °C'de 5 dk; *tetK*, *tetM*, *tetL*, *ermA*, *ermB*, *ermC*, *vanA* ve *vanB* genleri için 1 döngü 94 °C'de 2 dk, 30 döngü 94 °C'de 60 sn, uygun sıcaklıkta 60 sn (*tetL*, *vanA* ve *vanB* genleri için 54 °C, *ermA* ve *tetK* genleri için 55 °C, *tetM* geni için 45 °C; *ermB* geni için 52 °C, *ermC* geni için 48 °C), 72 °C'de 1 dk ve 1 döngü 72 °C'de 10 dk; *blaZ* geni için 1 döngü 94 °C'de 4 dk, 40 döngü 94 °C'de 30 sn, 55 °C'de 30 sn, 72 °C'de 1 dk ve 1 döngü 72 °C'de 5 dk; *mecA* geni için 1 döngü 94 °C'de 5 dk, 30 döngü 94 °C'de 60 sn, 50 °C'de 60 sn, 72 °C'de 2 dk ve 1 döngü 72 °C'de 10 dk ve *msrA* ve *msrB* genleri için ise 1 döngü 94 °C'de 10 dk, 25 döngü 94 °C'de 60 sn, 50 °C'de 60 sn, 72 °C'de 1.5 dk ve 1 döngü 72 °C'de 10 dk olarak uygulanmıştır (Dutka-Malen vd., 1995; Lina vd., 1999; Martineau vd., 2000; Depardieu vd., 2004; Zhang vd., 2004; Vakulenko vd., 2003; Ouoba vd., 2008 ve Niu vd., 2016). PZR denemelerinde *E. faecium* FYE41 (*ermC*⁺, *tetM*⁺, *tetL*⁺), *E. gallinarum* DYE45 (*ermA*⁺, *ermB*⁺, *tetM*⁺, *tetL*⁺), *E. faecium* ATCC 51559 (*vanA*⁺), *E. faecalis* ATCC 51299 (*vanB*⁺) ve *S. aureus* ATCC 43300 (*mecA*⁺) suşları pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Çizelge 1. Antibiyotik direnç ve enterotoksin genlerinin tespitinde kullanılan primerler ve ürün büyüklükleri

Table 1. Primers for detection of antibiotic resistance and enterotoxin genes and product sizes

Gen Gene	Primer dizileri (5'-3') Primer sequences (5'-3')	Ürün büyüklüğü (bp) Product size (bp)	Kaynak Reference
<i>mecA</i>	GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA CCAATTCCACATTGTTTCGGTCTAA	310	Zhang vd., 2004
<i>blaZ</i>	ACTTCAACACCTGCTGCTTTC TGACCACCTTTTATCAGCAACC	173	Martineau vd., 2000
<i>aac(6')-Ie</i>	CAGGAATTTTATCGAAAAATGGTAGAAAAG	369	Vakulenko vd., 2003
<i>-aph(2'')-Ia</i>	CACAATCGACTAAAGAGTACCAATC		
<i>aph(2'')-Ib</i>	CTTGGACGCTGAGATATATGAGCAC GTTTGTAGCAATTCAGAAACACCCTT	867	Vakulenko vd., 2003
<i>aph(2'')-Ic</i>	CCACAATGATAATGACTCAGTTCCC CCACAGCTTCCGATAGCAAGAG	444	Vakulenko vd., 2003
<i>aph(2'')-Id</i>	GTGGTTTTTACAGGAATGCCATC CCCTCTTCATACCAATCCATATAACC	641	Vakulenko vd., 2003
<i>aph(3')-IIIa</i>	GGCTAAAATGAGAATATCACCGG CTTTAAAAAATCATAACAGCTCGCG	523	Vakulenko vd., 2003
<i>ant(4')-Ia</i>	CAAACCTGCTAAATCGGTAGAAGCC GGAAAGTTGACCAGACATTACGAACT	294	Vakulenko vd., 2003
<i>ant(6')-Ia</i>	ACTGGCTTAATCAATTTGGG GCCTTTCCGCCACCTCACCG	577	Niu vd., 2016
<i>ermA</i>	AAGCGGTAAACCCCTCTGA TTCGCAAATCCCTTCTCAAC	190	Martineau vd., 2000
<i>ermB</i>	CTATCTGATTTGTTGAAGAAGGATT GTTTACTCTTTGGTTTAGGATGAAA	142	Martineau vd., 2000
<i>ermC</i>	AATCGTCAAATTCCTGCATGT TAATCGTGGAAATACGGGTTTG	299	Martineau vd., 2000
<i>msrA</i>	TCCAATCATTCACAAAATC AATTCCTCTATTTGGTGGT	163	Martineau vd., 2000
<i>msrB</i>	TATGATATCCATAATAATTATCCAATC AAGTTATATCATGAATAGATTGTCTGTT	595	Lina vd., 1999
<i>tetK</i>	TTAGGTGAAGGGTTAGGTCC GCAAACCTCATTCCAGAAGCA	718	Ouoba vd., 2008
<i>tetM</i>	GTTAAATAGTGTTCCTTGGAG CTAAGATATGGCTCTAACAA	657	Ouoba vd., 2008
<i>tetL</i>	GTTGCGCGCTATATTCCAAA TTAAGCAAACCTCATTCCAGC	788	Ouoba vd., 2008
<i>vanA</i>	GGGAAAACGACAATTGC GTACAATGCGGCCGTTA	732	Dutka-Malen vd., 1995
<i>vanB</i>	ACGGAATGGGAAGCCGA TGCACCCGATTTTCGTTT	647	Depardieu vd., 2004
<i>sea</i>	CCTTTGGAAACGGTTAAAACG TCTGAACCTTCCCATCAAAAAC	127	Omeo vd., 2005
<i>seb</i>	TGCATCAAACCTGACAAAACG GCAGGTACTCTATAAAGTGCCTGC	477	Omeo vd., 2005
<i>sec</i>	CTCAAGAACTAGACATAAAAAGCTAGG TCAAAAATCGGATTAACATATCC	271	Omeo vd., 2005
<i>sed</i>	CTAGTTTGGTAATATCTCCTTTAAAACG TTAATGCTATATCTTATAGGGTAAACATC	319	Omeo vd., 2005
<i>see</i>	CAGTACCTATAGATAAAGTTAAAACAAGC TAACCTACCGTGGACCCTTC	178	Omeo vd., 2005

Çoğaltılan PZR fragmentlerinin agaroz jel elektroforezi OWL EASYCAST B2 yatay elektroforez tankında % 2 (w/v) oranında agaroz içeren jellerde 85 voltta 1.5-2 saat süre ile yapılmıştır. Fragment büyüklüklerinin hesaplanmasında Genesta™ 100-bp DNA marker (GeneAll, Kore) moleküler belirteç olarak kullanılmıştır. Jeller 0.2 µg/mL etidyum bromit (Amresco) içeren çözelti içerisinde 30 dk boyanmış ve UV transilluminatör üzerinde (Vilber Lourmat) görüntülenmiştir. Jel fotoğrafları Nikon D5100 (Nikon Corp.) dijital fotoğraf makinesi kullanılarak çekilmiştir.

Enterotoksin genlerinin tespiti

S. aureus izolatlarında SEA, SEB, SEC, SED ve SEE enterotoksinlerinin genetik determinantlarının (*sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see*) varlığı Çizelge 1'de verilen primer çiftleri kullanılarak TurboCycler 2 (Tayvan) gradient termal döngü cihazında multipleks-PZR (mPZR) yöntemi ile araştırılmıştır. mPZR işlemi toplam 20 µL PZR karışımı (10 µL Phusion Flash High-Fidelity PCR master miks (Thermo #F-548L, Litvanya), 3.5 µL nükleaz içermeyen su, 5 µL primer takımı ve 1.5 µL kalıp DNA) kullanılarak 1 döngü başlangıç denatürasyonu (95 °C'de 120 sn), 35 döngü çoğalma (95 °C'de 30 sn, 57 °C'de 90 sn, 72 °C'de 90 sn) ve 1 döngü son uzama (72 °C'de 10 dk) aşamalarından oluşan PZR protokolü takip edilerek gerçekleştirilmiştir (Omeo vd., 2005). Çoğaltılan enterotoksin genlerinin PZR fragmentlerinin agaroz jel elektroforezi % 2 (w/v) agaroz oranı ile hazırlanan jellerde yapılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

S. aureus izolasyonunda kullanılan 50 adet kanatlı eti örneğinden toplam 158 muhtemel *S. aureus* suşu izole edilmiştir. Muhtemel *S. aureus* olduğu düşünülen 158 adet izolatın izole edildiği örnek türü, temin edildiği iller ve izolat kodları Çizelge 2'de verilmiştir. Gram boyama ve katalaz testi sonucu 158 adet izolattan 130 adedinin Gram pozitif kok (tekli ve düzensiz kümeler) morfolojisinde ve katalaz pozitif özellik gösterdiği belirlenmiştir. Bu 130 izolat muhtemel *S. aureus* olabileceği düşünülerek çalışma materyali olarak seçilmiştir. *S. aureus* Gram pozitif ve katalaz pozitif özellik gösteren bakteridir. Kok

morfolojisine sahip olan bu bakterinin mikroskobik morfolojisi sıvı besiyeri ortamında kültüre edildiklerinde tekli ve düzensiz kümeler halinde görülmektedir (Schein vd., 2011). Diğer taraftan Gram negatif ve katalaz negatif özellik gösteren 28 izolat (S2, S9, S14, S15, S16, S17, S18, S25, S36, S37, S50, S51, S55-2, S57, S58, S59, S62, S65, S66, S67, S68, S73, S90, S99, S120, S121, S124, S125) ise *Staphylococcus* cinsinin genel özellikleri ile uyum göstermemesi nedeni ile çalışma kapsamından çıkarılmıştır.

Çalışma kapsamında izole edilen 130 muhtemel *S. aureus* izolatının tür düzeyinde tanısı *S. aureus*'a özgü termostabil nükleaz geni (*nuc*) varlığının PZR ile araştırılması ile yapılmıştır. Cancilla vd. (1992) tarafından önerilen yöntemle göre izole edilen genomik DNA örneklerinin varlığı agaroz jel elektroforez yöntemi ile belirlenmiştir (Veri gösterilmedi). Ekstraselüler termostabil nükleaz (TNaz) *S. aureus* tarafından üretilen hem DNA hem de RNA'yı kesme özelliğine sahip bir enzimdir. TNaz aktivitesi *S. aureus*'a özgül olmasa da bu enzimi kodlayan *nuc* geninde yer alan *S. aureus* türüne özgül diziler nedeni ile bu gen *S. aureus*'un tanısında moleküler belirteç olarak kullanılmaktadır (Brakstad vd., 1992). Genomik DNA örneklerinin kalıp olarak kullanıldığı PZR uygulaması sonucu 130 adet izolattan 16 adedinde (S3, S7, S11, S12, S19, S30, S31, S32, S33, S34, S39, S41, S42, S82, S96 ve S118) *nuc* genine özgü 458 bp büyüklüğünde ampikonlar elde edilmiştir (Şekil 1). Elde edilen bu bulgular ışığında S3, S7, S11, S12, S19, S30, S31, S32, S33, S34, S39, S41, S42, S82, S96 ve S118 kodlu izolatlar *S. aureus* olarak tanımlanmıştır. Baird Parker agarda *S. warneri* ve *Proteus penneri* türleri *S. aureus* ile benzer koloni morfolojisine sahiptir (Abolghait vd., 2020). Bu nedenle çalışma kapsamında *nuc* genine özgül primer çifti ile ampikon vermeyen izolatların *S. warneri* veya *P. penneri* türleri olabileceği düşünülmektedir. Bu izolatların tür düzeyinde kesin tanısının 16S rDNA dizi analizi ile yapılması gerekmektedir. Bu çalışmaya benzer olarak geçmiş yıllarda yapılan pek çok çalışmada da *S. aureus*'un tanısında *nuc* genini hedef alan primer çiftleri sıklıkla kullanılmıştır (Karmakar vd., 2016; Sırıken vd., 2018; Kadiroğlu vd., 2019; Sadiq vd., 2020).

Çizelge 2. Muhtemel *S. aureus* izolasyonunda kullanılan örnek türü, örneğin temin edildiği il ve izolat kodları

Table 2. Sample type used in presumptive *S. aureus* isolation, province from which the sample was provided and isolate codes

Örnek türü Sample type	Temin edildiği il Provided province		İzolat kodları Isolate codes
	Antalya	Isparta	
Piliç kanat (n= 7) (Chicken wing)	2	5	S1, S2, S3, S10, S11, S12, S13, S14, S25, S26, S34, S63, S64, S70, S71, S147, S148, S156, S157
Piliç baget (n= 7) (Chicken drumstick)	2	5	S16, S17, S27, S28, S29, S30, S31, S32, S33, S35, S49, S50, S51, S52, S53, S54, S66, S67, S68, S69, S83, S92, S93, S152, S153
Piliç sarma (n= 4) (Chicken shank)	1	3	S4, S5, S6, S22, S23, S24, S39, S40, S41, S42, S43, S44, S48, S82, S149
Piliç göğüs (n= 7) (Chicken breast)	4	3	S7, S8, S9, S18, S19, S20, S21, S38, S60, S61, S62, S72, S73, S74, S75, S76, S80, S81, S145
Piliç kelebek (n= 7) (Chicken butterfly)	5	2	S15, S36, S37, S38, S45, S46, S47, S55-1, S55-2, S56, S57, S58, S59, S65, S77, S78, S79, S84, S85, S95, S154, S155
Hindi boyun (n= 9) (Turkey neck)	0	9	S86, S87, S88, S89, S90, S91, S94, S96, S97, S98, S99, S100, S101, S102
Bıldırcın (n= 9) (Quail)	0	9	S103, S104, S105, S106, S107, S108, S109, S110, S111, S112, S113, S114, S115, S116, S117, S118, S119, S120, S121, S122, S123, S124, S125, S126, S127, S130, S131, S132, S133, S134, S135, S136, S137, S138, S139, S140, S141, S142, S143, S144, S146, S147, S150, S151

n: örnek sayısı / number of sample



Şekil 1. Muhtemel *S. aureus* izolatlarında *nuc* geni varlığının PZR ile tespiti

1: S1; 2: S3; 3: S4; 4: S7; 5: S8; 6: S10; 7: S11; 8: S12; 9: S27; 10: Genesta™ 100 bç DNA marker (GeneAll, Kore); 11: S34; 12: S40; 13: S41; 14: *S. aureus* ATCC 25923 (pozitif kontrol) ; 15: negatif kontrol (su)

Figure 1. Detection of *nuc* gene presence in presumptive *S. aureus* isolates by PCR

1: S1; 2: S3; 3: S4; 4: S7; 5: S8; 6: S10; 7: S11; 8: S12; 9: S27; 10: Genesta™ 100 bp DNA marker (GeneAll, Korea); 11: S34; 12: S40; 13: S41; 14: *S. aureus* ATCC 25923 (positive control) ; 15: negative control (water)

İzolatlarda *nuc* geni varlığının PZR ile araştırıldığı denemelerden elde edilen bulgular sonucunda çalışma kapsamında izolasyon materyali olarak kullanılan 50 adet kanatlı eti örneğinin 10 adedinden *S. aureus* izole edildiği belirlenmiştir. Kanatlı eti örneklerinde *S. aureus* izolasyon sıklığı % 20 olarak hesaplanmıştır. İzole edilen 16 adet *S. aureus* suşunun 14 adedi (14/16, % 87.5) piliç eti örneklerinden, 1'er adedi (1/16, % 6.25) ise bıldırcın ve hindi boyun örneklerinden izole edilmiştir. Bu çalışmada kanatlı eti örneklerinde tespit edilen *S. aureus* izolasyon sıklığına benzer olarak ABD'de yapılan bir çalışmada 45 piliç eti örneğinin % 18.2'sinde ve 36 hindi örneğinin % 19.4'ünde *S. aureus* varlığı saptanmıştır (Hanson vd., 2011). Farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda ise kanatlı eti örneklerinde *S. aureus* bulunma sıklığı bu çalışmada bulunan değerden yüksek bulunmuştur (Kitia vd., 2005; Kaya vd., 2015; Özdemir ve Keyvan, 2016). Çalışma kapsamında izole edilen *S. aureus* suşlarının tamamı Isparta ilinde satışı yapılan örneklerden izole edilmiştir. Antalya ilinden temin edilen örneklerin hiçbirinden *S. aureus* suşu izole edilmemiştir. Bu durumun iki il arasında toplanan örnek sayısı farklılığından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Ancak ette *S. aureus* tespiti, genellikle üretim sürecine dahil olan bireyler tarafından işleme, nakliye, dilimleme, depolama ve satış noktası sırasındaki zayıf hijyenik uygulamalarla ilgilidir (Sadiq vd., 2020). Bu nedenle *S. aureus* izolatlarının yalnız Isparta ilinden temin edilen örneklerden çıkması kanatlı etlerinin işlenmesi sırasında kullanılan aletlerin veya işleyen kişilerin *S. aureus* taşıyıcısı olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Koagülaz testi *S. aureus*'un diğer stafilokok türlerinden ayırımında kullanılan kolay bir yöntemdir (Kaçmaz vd., 2015). Rutin laboratuvar uygulamalarında *S. aureus*'un diğer stafilokoklardan ayırımında koagülaz üretimi sıklıkla tek kriter olarak kullanılmaktadır. Ancak *S. aureus* dışında koagülaz pozitif stafilokokların da olduğu göz ardı edilmemelidir (Anonymous, 2020). Bunun yanı sıra geçmiş yıllarda yapılan çalışmalarda koagülaz negatif *S. aureus* suşlarının da olduğu rapor edilmiştir (Vandenesch vd., 1994; Olwer vd., 2004; Bayston vd., 2006). Bu nedenle

bu çalışma kapsamında koagülaz testi izolatların *nuc* geni varlığının araştırılmasından sonra yapılmıştır. PZR sonucu *nuc* geni varlığı belirlenen suşların koagülaz aktivitesi incelenmiş ve *nuc*⁺ izolatların tamamının aynı zamanda koagülaz pozitif özellikte olduğu belirlenmiştir.

Disk difüzyon testi sonucu, *S. aureus* izolatlarının tamamının (% 100) en az bir antibiyotiğe karşı dirençli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3). Benzer olarak Wang vd. (2017) Çin'de 203 şehirden temin ettikleri 27000 gıda örneğinden (4500'ü kanatlı eti) izole ettikleri 1150 *S. aureus* izolatının % 97.6'sının (1122/1150) en az bir antibiyotiğe karşı dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Çin'de yapılan bir başka çalışmada da perakende satışı yapılan kanatlı eti ve ürünlerinin de içinde yer aldığı 1850 et ve et ürününden izole edilen 868 *S. aureus* izolatından yalnız 11'inin çalışmada kullanılan 24 antibiyotiğin tamamına duyarlı olduğu, izolatların % 94.6'sının ise 3 veya daha fazla antibiyotiğe dirençli veya orta seviyede dirençli olduğu belirlenmiştir (Wu vd., 2018).

Kanatlı eti örneklerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık ve direnç yüzdeleri Çizelge 4'de verilmiştir. *S. aureus* izolatlarının tamamının (% 100) kloramfenikole ve teikoplanine duyarlı olduğu belirlenmiştir. İzolatların kloramfenikol ve teikoplaninden sonra en duyarlı olduğu antibiyotiklerin % 93.75 ile (15/16) doksisisiklin, linezolid ve tetrasiklin olduğu belirlenmiştir. Bu antibiyotikleri % 81.25 (13/16) ile minosiklin, % 68.75 (11/16) ile rifampin, % 62.5 (10/16) ile amikasin ve % 56.25 (9/16) ile gentamisin, kanamisin ve siprofloksasin antibiyotikleri izlemektedir. Çalışmada kullanılan diğer antibiyotiklere karşı ise izolatların daha düşük düzeyde duyarlılık gösterdiği belirlenmiştir. Bu bulgulara benzer olarak Wu vd. (2018) et ve et ürünlerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarının linezolid (% 0.6), teikoplanin (% 0.9), amikasin (% 7.5) ve rifampin (% 9.3) direnç düzeylerinin düşük olduğunu tespit etmişlerdir.

Çizelge 3. *S. aureus* suşlarının antibiyotik direnç profilleri ve antibiyotik direnç genleri
Table 3. Antibiotic resistance profiles and antibiotic resistance genes in *S. aureus* strains

Suşlar <i>Strains</i>	Antibiyotik direnç* <i>Antibiotic resistance*</i>	Antibiyotik direnç genleri <i>Antibiotic resistance genes</i>
<i>S. aureus</i> S3	AK, P, FOX, SXT, QD	-
<i>S. aureus</i> S7	CN, P, FOX, SXT	<i>tetK</i>
<i>S. aureus</i> S11	P	<i>blaZ</i>
<i>S. aureus</i> S12	P	<i>blaZ, msrA, msrB, tetK</i>
<i>S. aureus</i> S19	P	<i>blaZ, tetK</i>
<i>S. aureus</i> S30	E, KA, P, FOX, SXT, QD, RD	<i>ant(6')-Ia</i>
<i>S. aureus</i> S31	P, FOX, QD	<i>blaZ</i>
<i>S. aureus</i> S32	AK, LZD, P, FOX, QD, RD, CIP	<i>blaZ</i>
<i>S. aureus</i> S33	P, FOX	<i>blaZ</i>
<i>S. aureus</i> S34	P, FOX, SXT	-
<i>S. aureus</i> S39	AK, KA, MH, P, FOX, SXT, CIP	<i>blaZ, aph(3')-IIIa</i>
<i>S. aureus</i> S41	E, P, FOX, SXT	<i>blaZ</i>
<i>S. aureus</i> S42	CN, P, FOX, SXT, TE	<i>blaZ, tetK</i>
<i>S. aureus</i> S82	E, KA, P, FOX, SXT, QD, RD	<i>ant(6')-Ia</i>
<i>S. aureus</i> S96	E, KA, P, FOX, SXT, QD, CIP	-
<i>S. aureus</i> S118	AK, E, CN, P, FOX, SXT, QD	<i>mecA, blaZ, tetL</i>

*AK: Amikasin/*Amikacin* (30 µg); DO: Doksisisiklin/*Doxycycline* (30 µg); E: Eritromisin/*Erythromycin* (15 µg); CN: Gentamisin/*Gentamicin* (10 µg); C: Kloramfenikol/*Chloramphenicol* (30 µg); KA: Kanamisin/*Kanamycin* (30 µg); LZD: Linezolid/*Linezolid* (30 µg); MH: Minosiklin/*Minocycline* (30 µg); P: Penisilin G/*Penicillin G* (10 U); FOX: Sefoksitin/*Cefoxitin* (30 µg); SXT: Trimetoprim/sulfametoksazol/*Trimethoprim/sulfamethoxazole* (30 µg); QD: Quinupristin/dalfopristin/*Quinupristin/dalfopristin* (15 µg); RD: Rifampin/*Rifampin* (5 µg); CIP: Siprofloksasin/*Ciprofloxacin* (5 µg); TEC: Teikoplanin/*Teicoplanin* (30 µg) ve TE: Tetrasiklin/*Tetracycline* (30 µg)

Çizelge 4. *S. aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık ve direnç yüzdeleri (%)
Table 4. Antibiotic susceptibility and resistance percentages (%) of *S. aureus* isolates

Antibiyotikler <i>Antibiotics</i>	S*		I		R	
	<i>n</i> **	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Amikasin (<i>Amikacin</i>)	10	62.5	2	12.5	4	25
Doksisisiklin (<i>Doxycycline</i>)	15	93.75	1	6.25	0	0
Eritromisin (<i>Erythromycin</i>)	6	37.5	5	31.25	5	31.25
Gentamisin (<i>Gentamicin</i>)	9	56.25	4	25	3	18.75
Kloramfenikol (<i>Chloramphenicol</i>)	16	100	0	0	0	0
Kanamisin (<i>Kanamycin</i>)	9	56.25	3	18.75	4	25
Linezolid (<i>Linezolid</i>)	15	93.75	0	0	1	6.25
Minosiklin (<i>Minocycline</i>)	13	81.25	2	12.5	1	6.25
Penisilin G (<i>Penicillin G</i>)	0	0	0	0	16	100
Sefoksitin (<i>Cefoxitin</i>)	3	18.75	0	0	13	81.25
Trimetoprim/sulfametoksazol (<i>Trimethoprim/sulfamethoxazole</i>)	5	31.25	1	6.25	10	62.5
Quinupristin/dalfopristin (<i>Quinupristin/dalfopristin</i>)	6	37.5	3	18.75	7	43.75
Rifampin (<i>Rifampin</i>)	11	68.75	2	12.5	3	18.75
Siprofloksasin (<i>Ciprofloxacin</i>)	9	56.25	4	25	3	18.75
Teikoplanin (<i>Teicoplanin</i>)	16	100	0	0	0	0
Tetrasiklin (<i>Tetracycline</i>)	15	93.75	0	0	1	6.25

*S: Duyarlı/*Susceptible*; I: Orta seviyede dirençli/*Intermediary*; R: Dirençli/*Resistant*

***n*: izolat sayısı / *number of isolate*

Çalışma kapsamında kanatlı eti örneklerinden izole edilen *S. aureus* suşlarının tamamının (% 100) penisilin G'ye dirençli olduğu tespit edilmiştir. Penisilin G dışında izolatların % 81.25'inin (13/16) sefoksitine, % 62.5'inin (10/16) trimetoprim/sulfametoksazole, % 43.75'inin (7/16) quinupristin/dalfopristine ve % 31.25'inin (5/16) eritromisine dirençli olduğu belirlenmiştir. İzolatlarda amikasin, kanamisin, gentamisin, rifampin, siprofloksasin, linezolid, minosiklin ve tetrasiklin direncinin ise düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4). Elde edilen bulgulara benzer olarak Wang vd. (2017) 1150 *S. aureus* izolatının en çok (% 83.7, 963/1150) penisiline dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Ancak diğer taraftan araştırmacılar bu çalışmada elde edilenden daha yüksek oranda linezolid (% 67.7, 778/1150) ve tetrasiklin (% 38.2, 439/1150) direnci belirlemişlerdir. Wu vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada da et ve et ürünlerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarında yüksek oranda (% 84.6) penisilin direnci tespit edilmiştir. Sefoksitin disk difüzyon testi MRSA'ların tespitinde fenotipik marker olarak kullanılmaktadır (Annad vd., 2009; Abolghait vd., 2020; Sadiq vd., 2020). Bu bilgi ışığında sefoksitine dirençli olduğu tespit edilen *S. aureus* izolatları (% 81.25'i, 13/16) MRSA olarak tanımlanmıştır. Sadiq vd. (2020) mezbahe ve et satışı yapılan dükkanlardan temin ettikleri tavuk örneklerinden izole edilen *S. aureus* suşlarının % 63'ünün (19/25) sefoksitine dirençli olduğunu belirlemiş ve bu suşları MRSA olarak tanımlamışlardır. Çalışma kapsamında kanatlı eti örneklerinden izole edilen *S. aureus* suşları arasında yüksek oranda MRSA tanımlanması tüketici sağlığı açısından endişe uyandırmaktadır.

S. aureus suşlarında *mecA*, *blaZ*, *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia*, *aph(2'')-Ib*, *aph(2'')-Ic*, *aph(2'')-Id*, *aph(3')-IIIa*, *ant(4')-Ia*, *ant(6')-Ia*, *ermA*, *ermB*, *ermC*, *msrA*, *msrB*, *tetK*, *tetM*, *tetL*, *vanA* ve *vanB* direnç genlerinin varlığı spesifik primerler kullanılarak PZR ile araştırılmış ve elde edilen bulgular Çizelge 3'de verilmiştir. *S. aureus* izolatları arasında S3, S34 ve S96 suşları dışında kalan izolatlarda en az bir antibiyotik direnç geni varlığı tespit edilmiştir. *S. aureus* S12 (*blaZ*, *msrA*, *msrB*, *tetK*), S118 (*mecA*, *blaZ*, *tetL*), S19 (*blaZ*, *tetK*), S39 (*blaZ*, *aph(3')-IIIa*) ve S42 (*blaZ*, *tetK*) suşlarında ise birden fazla

antibiyotik direnç geni varlığı belirlenmiştir (Çizelge 3).

PZR işlemi sonucu *S. aureus* suşlarında % 62.5 ile (10/16) en sık rastlanan genin *blaZ* olduğu tespit edilmiştir. Stafilokoklarda penisilin direnci *blaZ* ve *mecA* genleri üzerinde kodlu iki mekanizma ile gerçekleşmektedir. Bu mekanizmalardan en önemlisi β -laktamaz üretimidir (Olsen vd., 2006) Kromozom veya plazmid üzerinde yer alabilen *blaZ* geni tarafından kodlanan β -laktamaz enzimi, β -laktam halkasını hidrolize ederek stafilokoklarda penisilin direncine neden olmaktadır (Olsen vd., 2006; Bacigil vd., 2012; Takayama vd., 2015; Pal vd., 2020). İkinci mekanizmada ise *mecA* geninde kodlu penisilin bağlayıcı protein PBP2a kaynaklıdır (Olsen vd., 2006; Pal vd., 2020). *blaZ* geni PZR sonuçları, antibiyotik disk difüzyon testi sonuçlarını genel anlamda destekler nitelikte bulunmuştur. Ancak, disk difüzyon testi sonucu fenotipik olarak penisiline dirençli olan S3, S7, S30, S34, S82 ve S96 kodlu izolatlarda *blaZ* geni tespit edilmemiştir. Benzer olarak geçmiş yıllarda yapılan çalışmalarda da fenotipik olarak penisiline dirençli stafilokok suşlarında *blaZ* geni bulunmadığı bildirilmiştir (Frey vd., 2013; Yang vd., 2015). Fenotipik olarak penisiline dirençli ancak *blaZ* geni içermeyen bu suşlarda penisilin direnci nokta mutasyonlardan veya başka bir direnç mekanizmasından kaynaklanıyor olabilir. *blaZ* geni dışında izolatların % 25'inde (4/16) *tetK*, % 12.5'inde (2/16) *ant(6')-Ia* ve % 6.25'inde (1/16) *mecA*, *aph(3')-IIIa*, *msrA*, *msrB* ve *tetL* geni varlığı tespit edilmiştir. İzolatların hiçbirinde *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia*, *aph(2'')-Ib*, *aph(2'')-Ic*, *aph(2'')-Id*, *ant(4')-Ia*, *ermA*, *ermB*, *ermC*, *tetM*, *vanA* ve *vanB* geni varlığı tespit edilmemiştir (Çizelge 3).

Tetrasiklin direnç genleri *tetK* ve *tetL* membran ile ilişkili ATP-bağımlı efluks proteinleri kodlamaktadırlar. Bu proteinler tetrasiklinin hücre içerisinde birikmesini önleyerek hücreye direnç kazandırmaktadırlar. *tetM* geni ise ribozomal koruma proteini kodlayarak tetrasiklinin ribozoma olan ilgisini azaltmaktadır (Ullah vd., 2012). Çalışma kapsamında *S. aureus* suşlarında en yaygın karşılaşılan tetrasiklin direnç geninin *tetK* olduğu belirlenmiştir. Benzer olarak son yıllarda

farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda da stafilokoklarda tetrasiklin direncine yaygın olarak *tetK* geninin aracılık ettiği belirlenmiştir (Ullah vd., 2012; Pyzik vd., 2019).

Aminoglikozid modifiye edici enzim kodlayan *ant(6')-Ia* geni *S. aureus* S30 ve S82 suşlarında, *aph(3')-IIIa* geni ise *S. aureus* S39 suşunda tespit edilmiştir. Stafilokoklarda *ant(6')-Ia* geni tarafından kodlanan aminoglikozid nkleotidiltransferaz enzimi streptomisin (Hauschild vd., 2008), *aph(3')-IIIa* geni tarafından kodlanan aminoglikozid fosfotransferaz enzimi ise amikasin, neomisin ve kanamisin direncine neden olmaktadır (Woegerbauer vd., 2014). Çalışma kapsamında da *aph(3')-IIIa* geni içeren *S. aureus* S39 suşunun amikasin ve kanamisine dirençli olduğu belirlenmiştir.

mecA geni stafilokoklarda oldukça korunmuş bir gen olup metisilin dirençli *S. aureus* suşlarının genotipik olarak belirlenmesinde potansiyel biyomarker olarak kullanılmaktadır (Sadiq vd., 2020). Çalışma kapsamında fenotipik olarak metisiline dirençli olduğu tespit edilen 13 izolattan yalnız *S. aureus* S118 suşunda *mecA* geni varlığı tespit edilmiştir. Bu durum söz konusu suşlarda modifiye doğal (intrinsic) penisilin bağlayıcı proteinlerin (PBP'ler) retimi ile metisilin affinitesindeki değişim (Tomasz vd., 1989) veya arttırılmış β -laktamaz üretimi ile metisilin inaktive edilmesinden kaynaklanıyor olabilir (Swenson vd., 2002). Elde edilen bu bulgulara benzer olarak Asfour ve Darwish (2011) tarafından yapılan çalışmada da fenotipik olarak sefoksitin dirençli 43 stafilokok izolatının 27'sinde *mecA* geni varlığı tespit edilmiştir. Wang vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada ise fenotipik olarak sefoksitine dirençli 111 *S. aureus* izolatının 91'inde *mecA* geni tespit edilmiştir. Diğer taraftan bu bulguların aksine farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda fenotipik olarak sefoksitine (30 μ g) dirençli *S. aureus* suşlarının tamamında *mecA* geni varlığı gösterilmiştir (Anand vd., 2009; Karmakar vd., 2016; Wu vd., 2018; Wu vd., 2019; Abolghait vd., 2020).

Çalışma kapsamında yalnız fenotipik olarak orta seviyede eritromisine dirençli *S. aureus* S12

suşunda *msrA* ve *msrB* genleri tespit edilmiştir. Fenotipik olarak eritromisine dirençli bulunan *S. aureus* S30, S41, S82, S96 ve S118 izolatlarında ise eritromisin direnç geni varlığı tespit edilmemiştir. Stafilokoklarda eritromisin direnci genellikle diğer makrolidlere direnç ile ilişkilidir (Pyzik vd., 2019). *erm* genleri kodladıkları metiltransferaz enzimleri ile stafilokoklarda ribozomal hedef bölgenin modifikasyonu yolu ile makrolidlere, linkozamidlere ve tip B streptograminlere dirence neden olmaktadır (Reyes vd., 2007; Pyzik vd., 2019). *msrA* ve *msrB* genleri ise ATP-bağımlı efluks pompası kodlayarak indüklenebilir eritromisin direncine neden olmaktadır (Pyzik vd., 2019; Pal vd., 2020).

Kanatlı eti örneklerinden izole edilen 16 adet *S. aureus* suşunda *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* enterotoksin geni varlığı mPZR yöntemi ile araştırılmıştır. mPZR denemeleri sonucunda *S. aureus* suşlarının hiçbirinde *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* geni varlığı tespit edilmemiştir. Bu bulguların aksine ülkemizde ve yurt dışında farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda kanatlı eti örneklerinden izole edilen *S. aureus* suşlarının farklı düzeylerde de olsa enterotoksin geni içerdiği belirlenmiştir (Gencay vd., 2010; zdemir ve Keyvan, 2016; Wang vd., 2017; Saad vd., 2018; Abolghait vd., 2020). Çalışma kapsamında kanatlı eti örneklerinden izole edilen *S. aureus* suşlarında klasik enterotoksin genlerinin (*sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see*) tespit edilmemiş olması tüketicici sağlığı açısından bir avantajdır. Ancak söz konusu suşlarda diğer enterotoksin genlerinin varlığının da araştırılması gerekmektedir.

SONUÇ

S. aureus insanlarda hem gıda zehirlenmesine hem de önemli enfeksiyonlara yol açtığı bilinen bir patojendir. Çalışma kapsamında 50 kanatlı eti örneğinden 16 *S. aureus* suşu izole edilmiştir. *S. aureus* izolatlarının tamamı penisilin G'ye dirençli bulunmuş ve % 81.25'inin MRSA olduğu tespit edilmiştir. İzolatlarda en sık rastlanan antibiyotik direnç geninin *blaZ* olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan izolatların hiçbirinde klasik enterotoksin genleri varlığına rastlanılmamıştır. Yapılan alışma tüketicici sağlığı açısından mevcut riski ortaya koyması açısından önem taşımaktadır. Kanatlı

etlerinden izole edilen *S. aureus* suşları arasında yüksek oranda MRSA izolatlarına rastlanmıştır olması endişe uyandırıcıdır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı FYL-2019-6994 nolu proje ile maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne teşekkür ederiz.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarların, başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

YT, çalışma konusunu belirlemiş ve deneysel çalışma düzenini planlamıştır. ÇK ve YT deneysel çalışmaları gerçekleştirmiştir. ÇK makalenin taslağını oluşturmuş, YT makalenin son halini almasını sağlamıştır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

KAYNAKLAR

Abolghait, S.K., Fathi, A.G., Youssef, F.M., Algammal, A.M. (2020). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from chicken meat and giblets often produces staphylococcal enterotoxin B (SEB) in non-refrigerated raw chicken livers. *Int J Food Microbiol*, 328: 1-9.

Anand, K.B., Agrawal, P., Kummar S., Kapila K. (2009). Comparison of sefoxitin disc diffusion test, oxacillin screen agar, and PCR for *mecA* gene for detection of MRSA. *Indian J Med Microbiol*, 27(1): 27-29.

Anonymous (2020). UK standarts for microbiology investigations. Identification of *Staphylococcus* species, *Micrococcus* species and *Rothia* species. UK SMI ID: 7, Issue no: 4, Issue date: 26.05.20, England.

Argudín, M., Mendoza, M., González-Hevia, M., Bances, M., Guerra, B., Rodicio, M. (2012). Genotypes, exotoxin gene content, and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* strains recovered from foods and food handlers. *Appl Environ Microbiol*, 78(8): 2930-2935.

Asfour, H.A.E., Darwish, S.F. (2011). Phenotypic and genotypic detection of both *mecA*- and *blaZ*-

genes mediated β -lactam resistance in *Staphylococcus* strains isolates from bovine mastitis. *Glob Vet*, 6(1): 39-50.

Bacigil, A.F., Taponen S., Koort, J., Bengtsson, B., Myllyniemi, A.L., Pyörälä, S. (2012). Genetic basis of penicillin resistance of *S. aureus* isolated in bovine mastitis. *Acta Vet Scand*, 54(69): 1-7.

Bayston, R. (2006). Coagulase-negative methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect*, 62(1): 127.

Brakstad, O.G., Aasbakk, K., Maeland, J.A. (1992). Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the *nuc* gene. *J Clin Microbiol*, 30(7): 1654-1660.

Cancilla, M.R., Powell, I.B., Hillier, A.J., Davidson, B.E. (1992). Rapid genomic fingerprinting of *Lactococcus lactis* strains by arbitrarily primed polymerase chain reaction with 32P and fluorescent labels. *Appl Environ Microbiol*, 58(5): 1772-1775.

Cariolato, D., Andrighetto, C., Lombardi, A. (2008). Occurrence of virulence factors and antibiotic resistances in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* collected from dairy and human samples in North Italy. *Food Control*, 19(9): 886-892.

Clinical and Laboratory Standards Institute, (CLSI 2016). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement M100-S26 CLSI, Wayne, PA.

Depardieu, F., Perichon, B., Courvalin, P. (2004). Detection of van alphabet and identification of enterococci and staphylococci at the species level by multiplex PCR. *J Clin Microbiol*, 42(12): 5857-5860.

Donham, K.J. (2010). Community and occupational health concerns in pork production. *J Anim Sci*, 88: 102-111.

Dutka M.S., Evers, S., Courvalin, P. (1995). Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. *J Clin Microbiol*, 33(1): 24-27.

- Frey, Y., Rodriguez, J.P., Thomann, A., Schwendener, S., Perreten, V. (2013). Genetic characterization of antimicrobial resistance in coagulase-negative staphylococci from bovine mastitis Milk. *J Dairy Sci*, 96: 2247-2257.
- Gandra, E., Fernandez, M.A., Silva, J.A., Silva, W.P. (2011). Standardization of a multiplex PCR for the identification of coagulase-positive *Staphylococcus*. *Ciênc Tecnol Aliment*, 31(4): 946-949.
- Gencay, Y.E., Ayaz, N.D., Doğru, A.K. (2010). Enterotoxin gene profiles of *Staphylococcus aureus* and other staphylococcal isolates from various foods and food ingredients, *Erişyes Üniv Vet Fak*, 7(2): 75-80.
- Hanson, B.M., Dressler, A.E., Harper A.L., Scheibel R.P., Wardyn, S.E., Roberts, L.K., Kroeger J.S., Smith, T.C. (2011). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on retail meat in Iowa. *J Infect Public Health*, 4: 169-174.
- Hauschild, T., Sacha, P., Wiczorek, P., Zalewska, M., Kaczyńska, K., Tryniszewska, E. (2008). Aminoglycosides resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from a university hospital in Bialystok, Poland. *Folia Histochem Cytobiol*, 46(2): 225-228.
- John, J., George, S., Nori, S.R.C. Nelson-Sathi, S. (2019). Phylogenomic analysis reveals the evolutionary route of resistant genes in *Staphylococcus aureus*. *Genome Biol Evol*, 11(10): 2917-2926.
- Kaçmaz, B., Gül, S., Öztürk, D.B., Ecemiş, E. (2015). *Staphylococcus aureus* suşlarında koagülaz testi için uygun sıcaklığın araştırılması. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 75(2): 99-102.
- Kadariya, J., Smith, T., Thapaliya, D. (2014). *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. *BioMed Res Int*, 2014: 827965.
- Kadiroğlu, P., Korel, F., Ceylan, Ç. (2019). Identification of *Staphylococcus aureus* cheese isolates with respect to virulence properties, genetic relatedness and antibiotic resistance profiles. *Food and Health*, 5(3): 149-159.
- Karmakar, A., Dua, P., Ghosh, C. (2016). Biochemical and molecular analysis of *Staphylococcus aureus* clinical isolates from hospitalized patients. *Can J Infect Dis Med*, 2016: 9041636.
- Kaya, H., Onmaz, N.E., Gönülalan, Z., Al, S. (2015). Kayseri ilinde tüketime sunulan tavuk etlerinde *Staphylococcus aureus* ve enterotoksin varlığının araştırılması. *Erişyes Üniv Vet Fak*, 12(2): 93-98.
- Lee, J.H. (2003). Methicillin (oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. *Appl Environ Microbiol*, 69(11): 6489-6494.
- Lina, G., Quaglia, A., Reverdy, M.E., Leclercq, R., Vandenesch, F., Etienne, J. (1999). Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins among staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother*, 43: 1062-1066.
- Loir, Y., Baron, F., Gautier, M. (2003). Staphylococcal food poisoning. *Genet Mol Res*, 2(1): 7-28.
- Martineau, F., Picard, F., Lansac, N., Menard, C., Roy, P.H., Ouellette, M., Bergeron, M.G. (2000). Correlation between the resistance genotype determined by multiplex PCR assays and the antibiotic susceptibility patterns of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 44(2): 231-238.
- Niu H., Yu H., Hu T., Tian G., Zhang L., Guo X., Hu H., Wang Z. (2016). The prevalence of aminoglycoside-modifying enzyme and virulence genes among enterococci with high-level aminoglycoside resistance in Inner Mongolia, China. *Braz J Microbiol*, 47: 691-696.
- Olsen, J.E., Christensen, H., Aarestrup F.M. (2006). Diversity and evolution of *blaZ* from *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. *J Antimicrob Chemother*, 57: 450-460.
- Omoe, K., Hu, D.L., Takahashi-Omoe, H., Nakane, A., Shinagawa, K. (2005). Comprehensive analysis of classical and newly described staphylococcal superantigenic toxin

- genes in *Staphylococcus aureus* isolates. *FEMS Microbiol Lett*, 246: 191-198.
- Omoe, K., Ishikawa, M., Shimoda, Y., Hu, D.L., Ueda, S., Shinagawa, K. (2002). Detection of *seg*, *seh*, and *sei* genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *S. aureus* isolates harboring *seg*, *seh*, or *sei* genes. *J Clin Microbiol*, 40(3): 857-862.
- Ouoba, L.I.I., Lei, V., Jensen, L.B. (2008). Resistance of potential probiotic lactic acid bacteria and bifidobacteria of African and European origin to antimicrobials: determination and transferability of the resistance genes to other bacteria. *Int J Food Microbiol*, 121: 217-224.
- Özdemir, H., Keyvan, E. (2016). Isolation and characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from beef, sheep and chicken meat. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 63: 333-338.
- Pal, M., Kerorsa, G.B., Marami, L.M., Kandi, V. (2020). Epidemiology, pathogenicity, animal infections, antibiotic resistance, public health significance, and economic impact of *Staphylococcus aureus*: a comprehensive review. *Am J Public Health Res*, 8(1): 14-21.
- Pereira, V., Lopes, C., Castro, A., Silva, J., Gibbs, P., Teixeira, P. (2009). Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from serious foods in Portugal. *Food Microbiol*, 26: 278-282.
- Pyzik, E., Marek, A., Pysniak, D.S., Chmiel, R.U., Jarosz, L.S., Podebska, I.J. (2019). Detection of antibiotic resistance and classical enterotoxin genes in coagulase negative staphylococci isolated from poultry in Poland. *J Vet Res*, 63: 183-190.
- Reyes, J., Hidalgo, M., Diaz, L., Rincon, S., Moreno, J., Vanegas, N., Castaneda, E., Arias, C.A. (2007). Characterization of macrolide resistance in Gram-positive cocci from Colombian hospitals: a countrwide surveillance. *Int J Infect Dis*, 11: 329-336.
- Saad, M.S., A, N., Elroos, A., Abdel-Fadeel, S.R. (2018). Incidence and characterization of *S. aureus* in broiler carcasses. *Benha Veterinary Medical Journal*, 34(2): 191-200.
- Sadiq, A., Samad, M., Saddam, Basharat, N., Ali, S., Roohullah, Saad, Z., Khan, A.N., Ahmad, Y., Khan, A., Khan, J. (2020). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in slaughter houses and meat shops in capital territory of Pakistan during 2018-2019. *Front Microbiol*, 11: 1-12.
- Schelin, J., Wallin-Carlquist, N., Cohn, M., Lindqvist, R., Barker, G. (2011). The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. *Virulence*, 2(6): 580-592.
- Sırıken, B., İnat, G., Yıldırım, T., Yavuz, C., Çiftci, A. (2018). Methicillin resistance coagulase positive staphylococci and *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and cheese, Samsun province-Turkey. *Gıda Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi*, 20: 55-63.
- Swenson, J.M. (2002). News tests for the detection of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Newslett*, 24(21): 159-163.
- Takayama, Y., Tanaka, T., Oikawa, K., Fukano, N., Goto, M., Takahashi, T. (2015). Prevalence of *blaZ* gene and performance of phenotypic tests to detect penicillinase in *Staphylococcus aureus* isolates from Japan. *Ann Lab Med*, 38: 155-159.
- Temiz, A. (1994). *Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri*. Şafak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, Türkiye, 266 s. ISBN:975-95834-0-2
- Tomasz, A., Drugeon H.B., Lencastre, H.M., Jabes, D., McDougal, L., Bille, J. (1989). New mechanism for methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: clinical isolates that lack the PBP 2a gene and contain modified penicillin-binding proteins with modified penicillin-binding capacity. *Antimicrob Agents Chemother*, 33: 1869-1874.
- Ullah, F., Malik, S.A., Ahmed, J., Ullah, F., Shah, S.M., Ayaz, M., Hussain, S., Khatoon, L. (2012). Investigation of the genetic basis of tetracycline resistance in *Staphylococcus aureus* from Pakistan. *Trop J Pharm Res*, 11(6): 925-931.
- Vandenesch, F., Lebeau, C., Bes, M., Mcdevitt, D., Greenland, T., Novickj, R.P., Etienne, J. (1994). Coagulase deficiency in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* involves both transcriptional

- and post-transcriptional defects. *J Med Microbiol*, 40: 344-349.
- Vakulenko, S.B., Donabedian, S.M., Voskresenskiy, A.M., Zervos, M.J., Lerner, A., Chow, J.W. (2003). Multiplex PCR for detection of aminoglycoside resistance genes in enterococci. *Antimicrob Agents Chemother*, 47(4): 1423-1426.
- Wang, W., Baloch, Z., Jiang, T., Zhang, C., Peng, Z., Li, F., Fanning, S., Ma, A., Xu J. (2017). Enterotoxigenicity and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from retail food in China. *Front Microbiol*, 8: 1-11.
- Woegerbauer, M., Zeinzinger, J., Springer, B., Hufnagl, P., Indra, A., Korschineck, I., Hofrichter, J., Kopacka, I., Fuchs, R., Steinwider, J., Fuchs, K., Nielsen, K.M., Allerberg, F. (2014). Prevalence of the aminoglycoside phosphotransferase genes *aph(3')-IIIa* and *aph(3')-IIa* in *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* and *Staphylococcus aureus* isolates in Austria. *J Med Microbiol*, 63: 210-217.
- Wu, S., Huang, J., Wu, Q., Zhang, J., Zhang, F., Yang, X., Wu, H., Zeng, H., Chen, M., Ding, Y., Wang, J., Lei, T., Zhang, S., Xue L. (2018). *Staphylococcus aureus* isolated from retail meat and meat products in China: incidence, antibiotic resistance and genetic diversity. *Front Microbiol*, 9: 1-14.
- Wu, S., Zhang, F., Huang, J., Wu, Q., Zhang, Y., Xue, L., Wang, J., Ding, Y. (2019). Phenotypic and genotypic characterization of PVL-positive *Staphylococcus aureus* isolated from retail foods in China. *Int J Food Microbiol*, 304: 119-126.
- Yang, F., Wang, O., Wang, X., Wang, L., Xiao, M., Li, X., Luo, J., Zhang, S., Li, H. (2015). Prevalence of *blaZ* gene and other virulence genes in penicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis cases in Gansu, China. *Turk J Vet Anim Sci*, 39: 634-636.
- Yogurtcu, N.N., Tuncer, Y. (2013). Antibiotic susceptibility patterns of *Enterococcus* strains isolated from Turkish tulum cheese. *Int J Dairy Technol*, 66: 236-242.
- Zhang, K., Sparling, J., Chow, B.L., Elsayed, S., Hussain, Z., Church, D.L., Gregson, D.B., Louie, T., Conly, J.M. (2004). New quadriplex PCR assay for detection of methicillin and mupirocin resistance, and simultaneous discrimination of *Staphylococcus aureus* from coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol*, 42: 4947-4955.