

ÇİĞ SÜT, PASTÖRİZE SÜT VE BEYAZ PEYNİR ÖRNEKLERİNDE BULUNAN BETA-LAKTAMAZ POZİTİF STAPHYLOCOCCUS'LAR ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

INVESTIGATION ABOUT BETA-LACTAMASE POSITIVE STAPHYLOCOCCUS FOUND IN SAMPLES OF RAW MILK, PASTEURIZED MILK AND WHITE CHEESE

Güven URAZ¹, Seza ARSLAN²

¹Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, ANKARA

²Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, ANKARA

ÖZET: Çeşitli süt işletmelerinden sağlanan çiğ süt, pastörize süt ve beyaz peynir örneklerinden 73 *Staphylococcus* izole edilmiştir. Bu bakterilerin 59'u (%80.82) *S. aureus*, 7'si (%9.59) *S. epidermidis* ve 7'si (%9.59) de *S.saprophyticus*'dur. Bu bakterilerin İodometrik Test ve Kromojenik Sefalosporin Test yöntemleriyle beta-laktamaz enzim aktiviteleri tespit edilmiştir. Bu yöntemlere ilave olarak kontrol amacıyla penisilin-G antibiyotigi ile test edilmişlerdir.

73 *Staphylococcus*'un 48'i (%65,75) beta-laktamaz pozitif, 25'i (%34,25) beta-laktamaz negatiftir. 48 beta-laktamaz pozitif *Staphylococcus*'ların 46'sı *S.aureus* 2'si de *S. epidermidis*'tir. 46 beta-laktamaz pozitif *S. aureus*'un 8'i (%17.39) çiğ süttten, 7'si (%15.22) pastörize süttten ve 31'i (%67,39) beyaz peynir örneklerinden izole edilmiştir. 2 beta-laktamaz pozitif *S. epidermidis*'in 1'i (%50) çiğ süttten, 1'i (%50) beyaz peynirden izole edilmiştir. 48 beta-laktamaz pozitif *Staphylococcus* klavulanat-amoksisilin, amikasin, sefazolin, gentamisin, klindamisin ve ofloksasin antibiyotikleriyle test edilmişlerdir. 46 beta-laktamaz pozitif *S.aureus*'un 43'ü (%93) klindamisin'e en yüksek oranda dirençli bulunurken 23 (%50) *S. aureus* de klavulanat-amoksisilin'e dirençli tespit edilmiştir. Beta-laktamaz pozitif 2 (%100) *S. epidermidis* klindamisin'e, gentamisin'e ve sefazolin'e en yüksek oranda dirençli bulunmuştur. Ofloksasin ve klavulanat-amoksisilin'e %50 oranında dirençli bulunmuşlardır.

ABSTRACT: 73 *Staphylococcus* were isolated from raw milk, pasteurized milk and white cheese samples provided from several milk establishment. Of them; 59 were characterized as *S.aureus* (80.82%), 7 were *S.epidermidis* (9.59%) and 7 were *S.saprophyticus* (9.59 %). The beta-lactamase enzyme activity of these bacteria were also tested by iodometric test and chromogenic cephalosporin test methods. In addition to these methods; with the aim of control it was tested with penicillin G. ob.

Among 73 *Staphylococcus*; 48 were (65,75%) were beta-lactamase positive, 25 were (34,25%) found as betalactamase negative. Of 48 positive beta-lactamase *Staphylococcus*; only 2 were characterized as *S.epidermidis* while 46 were, *S. aureus*. The 8 (17,39%) of 46 beta-lactamase positive *S. aureus* were isolated from raw milk, while 7(15,22%) of 46 were isolated from pasteurized milk and 31(67,39%) were from white cheese samples. The one of 2 beta-lactamase was isolated from raw milk while the other one was isolated from white cheese. 48 beta-lactamase positive *Staphylococcus* were tested with the antibiotics of amoxicillin-clavulanic acid, amikacin, gentamicin, clindamycin and ofloxacin. While, 43 (93%) of 46 beta-lactamase positive *S.aureus* were found to show most resistance against clindamycin; 23(50%) *S.aureus* was also found to be resistant against amoxicillin-clavulanic acid. 2 (100%) *S. epidermidis* which were beta-lactamase positive were also found to be resistant with a ratio of 50% against ofloxacin and amoxicillin-clavulanic acid.

GİRİŞ

Son yıllarda araştırmacılar tarafından sütlerde beta-laktamaz enzim aktivitesiyle ilgili olarak yapılan çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Burada özellikle mastitisli hayvanların sütlerindeki beta-laktamaz araştırılmıştır.

Staphylococcus'lar beta-laktamaz enzim aktivitesi yoğun olan başlıca bakterilerden birisidir. Mastitisli hayvanların sütlerinden de patojen olarak sıklıkla izole edilmektedir. Bu nedenle araştırmamızda çiğ süt, pastörize süt ve beyaz peynir örneklerinden izole edilen *Staphylococcus*'ların enzim aktiviteleri çalışılmıştır. Beta-laktamaz enzim aktivitesinin belirlenmesi için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlardan İodometrik Test yöntemi beta-laktamaz enziminin belirlenmesinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Ve İodometrik Testte substrat olarak penisilin-G antibiyotigi kullanılmaktadır (WASHINGTON, 1985).

Kromojenik Sefalosporin Test (Nitrosefin) de son yıllarda çok kullanılan araştırmacıların hızlı aktif ve güvenilir olarak tanımladıkları bir yöntemdir. Kromojenik Sefalosporin Test'te substrat olarak nitrosefin antibiyotigi kullanılmaktadır (WASHINGTON, 1985).

JONES ve HEATH (1985) İngiltere'de mastitisli ineklerin sütlerinden izole ettikleri 211 *S.aureus* bakterisinin 145 (%66)'inde beta-laktamaz enzim aktivitesini pozitif bulmuşlardır. Bu çalışmada beta-laktamaz enziminin belirlenmesinde Nitrofenin Test yöntemini kullanmışlardır.

OWENS ve WATTS (1988) Amerika'da çeşitli mandıralardan izole edilen *Staphylococcus*'ların beta-laktamaz testleri ve antibiyotik hassasiyetleri üzerine araştırma yapmışlardır. Bu çalışmada araştırmacılar beta-laktamaz enzim aktivitesinin belirlenmesinde Kromojenik Sefalosporin Test yöntemini kullanmışlardır.

Literatürde beta-laktamaz enzim araştırmasıyla ilgili çalışmalarda antibiyotik hassasiyet testlerine sıklıkla rastlanmaktadır. Bazı penisilin gibi antibiyotikler beta-laktamaz enzim kontrolünü yapmak amacıyla kullanılırlar. Ayrıca beta-laktamaz pozitif *Staphylococcus*lar antibiyotiklere çoğunlukla dirençlidirler ve pek çok antibiyotiğe de bir arada direnç gösterebilirler.

MAZURA (1990) Kuzey Doğu Bohemia'daki mastitisli süt örneklerinden yaptığı çalışmasında 179 *S.aureus* izole etmiştir. Bu izolatların 93'ünü disk difüzyon testiyle benzilpenisiline karşı dirençli bulmuştur. Ama İodometrik kağıt şerit testiyle yapılan beta-laktamaz tayininde 93 bakterinin sadece 86'sında betalaktamaz enzim sentezi görülmüştür. Benzilpenisiline hassas olarak tespit edilen 86 suşun ise 35'i İodometrik Test'le beta-laktamaz pozitif bulunmuştur.

MATSUNAGA ve arkadaşları (1990) Japonya'da Kasım 1988 ve Mayıs 1989 tarihleri arasında 66 mandıradan aldıkları mastitisli sığır sütlerinden *Staphylococcus* türlerini izole etmişlerdir. 38 (%71,7) *S.xylopus*, 21 (%45,7) *S.aureus* ve 5 (%71,4) *S.epidermidis*'in beta-laktamaz enziminden metisilin, kloksasilin, sefazolin ve sefaperazon'a göre daha kuvvetli bir şekilde etkilenmiştir.

HERNANDEZ-ANDRADE ve arkadaşları (1991) mastitisli sığırlardan izole edilen *S. aureus* ve koagülaz negatif *Staphylococcus*'ların beta-laktamaz sentezi ve antibiyotik hassasiyetlerini çalışmışlardır. İki eyaletin çeşitli mandıralarından 24'ü koagülaz negatif *Staphylococcus*, 25'i *S. aureus* olmak üzere toplam 49 *Staphylococcus* türü izole etmişlerdir. Bu çalışmada *Staphylococcus*'ları streptomisin, ampisilin ve penisilin'e karşı yüksek oranda dirençli bulurken, sefotaksim ve sefalosporin'e fazla duyarlı bulmuşlardır.

OGAMA ve ENDO (1991) izole ettikleri 124 *S.aureus*'un beta-laktamaz enzim sentezini ve sekiz antibiyotiğe karşı hassasiyetlerini çalışmışlardır. 47 *S. aureus*'un beta-laktamaz sentezlediğini bulmuşlardır. Sonuç olarak beta-laktamaz sentezleyen bakterileri eritromisin, kanamisin, streptomisin, kloksasilin ve benzilpenisilin'e karşı dirençli izolatları metisilin'e karşı duyarlı bulmuşlardır.

URAZ ve GÜNDOĞAN (1991) 250 *Staphylococcus* suşunda beta-laktamaz enzim araştırması yapmışlardır. Daha sonra bu bakterilerin penisilin-G ampisilin, amoksisilin, sefalotin, amikasin, sulbaktamampisilin ve vankomisin'e duyarlılık durumlarını çalışmışlardır. Penisilin-G, amoksisilin, ampisilin'e *Staphylococcus* türleri yüksek oranda dirençli bulunurken, vankomisin (%80,26), sefalotin (%73,68), sulbaktam ampisilin (%64,47) *S.aureus*'lara en etkili antibiyotikler olarak bulmuşlardır.

Beta-laktamaz enzimi salgılayan *Staphylococcus*'lar beta-laktamaz halkası bulunduran antibiyotiklere çoğunlukla dirençlidirler. Bu nedenle penisilin-G çalışmamızda kullanmıştır. Ayrıca çalışmamızda sefalosporinlerden sefazolin, beta-laktamaz inhibitörü olarak bilinen klavulanat-amoksisilin kullanılmıştır. Bu antibiyotiklerin beraberinde klindamisin, gentamisin, amikasin ve oflaksasin antibiyotikleride test edilmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırmada Ekim 1993-Mart 1994 tarihleri arasında toplam 197 örnek (çiğ süt, pastörize süt ve beyaz peynir) çeşitleri süt işletmelerinden sağlanarak çalışılmıştır. Araştırmada Türk Standartları Enstitüsü tarafından (TSE-1018) belirtilen esaslara göre çiğ ve pastörize süt örnekleri steril 200 ml'lik şişelerde alınmıştır (ANONYMOUS, 1981). Pastörize süt örnekleri, çiğ süt örneklerinin alındığı aynı günde imal edilen pastörize sütlerden alınmıştır. Örnekler en kısa sürede laboratuvara getirilerek analize başlanmıştır. Çiğ süt örneklerinden fizyolojik tuzlu su kullanılarak 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} 'lük dilüsyonlar hazırlanmıştır (CLARK, 1978; GILLIAND, 1984).

Alınan pastörize süt daha önceden steril edilen iki erlene eşit olarak paylaştırılmıştır. Pastörize sütlerden birincisi çevre sıcaklığı olarak 22°C 'de 24 saat bekletilmiştir. Pastörize sütün ikincisi ise $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat değerinin iki katı sürede buzdolabı, ısısında tutulmuştur.

Beyaz peynir örnekleri steril cam kavanozlarla laboratuvara getirilmiştir. Steril bıçakla kesilen 10 gr. beyaz peynir örneği, steril porselen havanda sıcaklığı 45°C olan 90 ml. trisodyum sitrat ile iyice ezilmiştir. Ve bundan 10^{-1} dilüsyonlu beyaz peynir örneği hazırlanmıştır. Yukarıda bahsedildiği gibi hazırlanan 10^{-3} dilüsyon tüpünden alınan 0,1 ml.'lik çiğ süt örnekleri PCA (Plate Count Agar) besiyerine ve Baird-parker besiyerine ekilmişler ve inkübasyona bırakılmışlardır.

Pastörize sütlerden birincisi +22°C'de 24 saat bekletildikten sonra 0,1 ml. PCA besiyerine ekim yapılmıştır. Pastörize sütün ikincisi +4°C'de 48 saat bekletilmiş ve 0,1 ml. PCA ve Baird-parker besiyerine ekim yapılmıştır. Tüm pastörize süt plakları inkübasyona bırakılmıştır.

Daha önceden 10⁻¹ dilüsyonu hazırlanan beyaz peynir örneklerinden de 0,1 ml. alınarak PCA besiyerine ekilmiş ve inkübasyona bırakılmıştır. Beraberlerinde *Staphylococcus*'lar için özel Baird-parker besiyerine ekim yapılmıştır.

PCA ve Baird-parker agar besiyerinde üreyen *Staphylococcus*'ların adlandırılmaları için lamba koagülaz, novobiosin ve mannitol fermantasyonu testleri yapılmıştır (KLOSS, 1991). Buradan *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus saprophyticus* türleri adlandırılmıştır. Adlandırılması yapılan *Staphylococcus*'lar saf kültür olarak %0,2 çözünebilir nişasta içeren Nutrient agar ve PCA besiyerinde yeniden üretilmişlerdir. Bu besiyerlerinde üreyen bakterilerin beta-laktamaz enzim varlığı çalışılarak test edilmiştir.

Beta-laktamaz enzim varlığının saptanması için %0,2 çözünebilir nişasta içeren Nutrient agarda üreyen koloniler üzerine iyodometrik test çözeltisi damlatılmıştır. Çözeltinin damlatılmasından hemen sonra iyot, nişastaya bağlandığı için kolonilerin çevresinde mavi renk oluşmuştur. Beta-laktamaz üreten kolonilerin çevresinde kısa bir süre içinde renk koloniden çevreye doğru genişleyen halkalar halinde kaybolmuştur (WASHINGTON, 1985). Bu suşlar arasında enzim varlığı saptananlar tekrar Kromojenik Sefalosporin Test (Nitrosefin) yöntemine göre yeniden test edilmiştir.

Kromojenik Sefalosporin Test (Nitrosefin) yöntemiyle bakterilerin beta-laktamaz enzimleri araştırılırken Oxoid firmasının "Beta-Lactamase Identification Sticks BR 66 nolu" ürünüyle çalışılmıştır. Bu amaçla PCA besiyerinde üretilen saf kültürlere çubuklar halinde bulunan stiklerin sarı kısımları dokundurulmuştur. Stik uçları dokundurulan bakteriler beta-laktamaz pozitif ise 5-15 dakika içinde sarıdan kırmızıya veya pembeye doğru renk değiştirmişlerdir. Renk değişikliği veren bu bakteriler beta-laktamaz pozitif olarak adlandırılmışlardır (WASHINGTON, 1985).

Her iki test sonucunda pozitif çıkan bakterilerin penisilin-G ile antibiyogramı yapılmış ve penisilin G'ye olan dirençleri kontrol edilmiştir. Ayrıca beta-laktamaz aktivitesi pozitif bakterilerin daha sonra penisilin-G, sefazolin, klavulanat-amoksisilin, amikasin, gentamisin, kiliñdamisin, ofloksasin antibiyotiklerine karşı duyarlılıkları da araştırılmıştır.

ARAŞTIRMA BULGULARI

Araştırmada, Ekim 1993-Mart 1994 tarihleri arasında Ankara'da çeşitli süt işletmelerinden alınan çiğ süt, pastörize süt ve beyaz peynir örneklerinden 73 *Staphylococcus* izole edilmiştir. Bu 73 *Staphylococcus*'un İodometrik Test ve Kromojenik Sefalosporin Test (Nitrosefin) yöntemleriyle betalaktamaz aktiviteleri tespit edilmiştir. Kontrol amacıyla daha sonra penisilin-G antibiyotiğiyle test edilmişlerdir. Yapılan test sonucunda saptanan *S. aureus*'un 46'sı (%80,82), *S. epidermidis*'inde 2'si (%9,59) beta-laktamaz pozitif bulunmuştur. *S.aureus*'un 13'ü (%22,03), *S.epidermidis*'in 5'i (%71,43) ve 7 *S.saprophyticus* beta-laktamaz negatif olarak belirlenmiştir.

Çizelge 2'de görüldüğü gibi araştırmada çiğ süt, pastörize süt ve beyaz peynir örneklerinden 73 *Staphylococcus* izole edilmiştir. Bu bakterilerin 59'u (%80,82) *S.aureus*, 7'si (%9,59) *S.epidermidis* ve 7'si de (%9,59) *S.saprophyticus*'dur. 73 *Staphylococcus*'un 48'i (%65,75) beta-laktamaz pozitif, 25'i ise (%34,25) beta-laktamaz negatiftir.

Çizelge 1. Çiğ Süt, Pastörize Süt ve Beyaz Peynir Örneklerinden İzole Edilen Toplam 73 *Staphylococcus*'un Tür Dağılımı

Çiğ süt, pastörize süt ve beyaz peynir örneklerinden izolen edilen <i>Staphylococcus</i> türleri	Toplam 73 <i>Staphylococcus</i> izolasyonunun türlere göre dağılımı	İzole edilen <i>Staphylococcus</i> 'ların adlandırılmalarında kullanılan biyojimik testler		
		Koagülaz	Novobiosin	Mannitol
<i>S.aureus</i>	59	+	-	+
<i>S.epidermidis</i>	7	-	-	-
<i>S.saprophyticus</i>	7	-	+	+/-

İodometrik Test yöntemiyle saptanan 59 *S. aureus*'ün 46'sı (%77,97) beta-laktamaz pozitif, 13'ü (%22,03) beta-laktamaz negatif olarak bulunmuştur. 46 beta-laktamaz pozitif *S.aureus*'ün 8'i (%17,39) çiğ süttten, 7'si (%15,22) pastörize süttten ve 31'i (%67,39) beyaz peynir örneklerinden izole edilmiştir. 13 betalaktamaz negatif *S.aureus*'ün 2'si (%15,38) çiğ süttten, 6'sı (%46,15) pastörize süttten ve 5'i (%38,46) beyaz peynir örneklerinden izole edilmiştir.

İodometrik Test yöntemiyle tespiti yapılan 7 *S. epidermidis*'in 2'si (%28,57) beta-laktamaz pozitif, 5'i de (%71,43) beta-laktamaz negatif olarak bulunmuştur. 2 beta-laktamaz pozitif *S.epidermidis*'in 1'i (%50) çiğ süttten, 1'i (%50) beyaz peynirden izole edilmiştir. 5 beta-laktamaz negatif *S.epidermidis*'in 4'ü (%80) beyaz peynir örneklerinden 1'i (%20) pastörize süttten izole edilmiştir.

Aynı yöntemle bulunan 7 *S.saprophyticus*'ün hepsi negatif çıkmıştır. 7 beta-laktamaz negatif *S.saprophyticus*'ün 4'ü (%67,14) çiğ süttten, 1'i (%14,29) pastörize süttten ve 2'si (%27,57) beyaz peynir örneklerinden izole edilmiştir.

Penisilin'e dirençli olan ve İodometrik Test Yöntemiyle Beta-laktamaz enzim varlığı pozitif olan 46 *Staphylococcus aureus*'ün yalnız 31'i Kromojenik Sefalosporin Test (Nitrosefin) yöntemiyle de yeniden test edilmiş ve beta-laktamaz pozitif olduğu bulunmuştur.

Çizelge 3'te beta-laktamaz pozitif 46 *S.aureus* ve 2 *S.epidermidis*'in antibiyotik hassasiyet sonuçları görülmektedir. Bütün beta-laktamaz pozitif *Staphylococcus*'lar penisilin-G'ye %100 dirençlidir. 43 (%93) *S.aureus* ve 2 (%100) *S.epidermidis* ise klindamisin'e en yüksek oranda dirençli bulunmuştur. 46 betalaktamaz pozitif *S.aureus*'ün 39'u (%85) amikasin'e dirençli bulunurken, *S.epidermidis* amikasin'e %50 oranında dirençli tespit edilmiştir. *S.aureus* gentamisin'e 38 (%83), sefazoline 34 (%74) dirençli bulunurken, *S.epidermidis*'in gentamisin ve sefazolin'e direnci %100'dür.

Burada beta-laktamaz pozitif 23 (%50) *S.aureus* klavulanat-amoksisilin'e dirençli tespit edilirken, 7'si (%15) duyarlı, 16'sı (%35) da orta derecede duyarlı çıkmıştır. *S.epidermidis*'in 1'i klavulanat amoksisilin'e dirençli bulunurken diğeri de duyarlı tespit edilmiştir. Ofloksasin'e, *S.epidermidis*'in 1'i duyarlı, diğeri de direnç göstermiştir. Ancak *S.aureus*'ün 29'u (%63) dirençli, 13'ü (%28) duyarlı, 4'ü (%9) de orta derecede hassas sonuçlar vermiştir.

TARTIŞMA

Araştırmamızda incelenen materyallerden görüldüğü üzere 73, *Staphylococcus* türü izole edilmiştir. 59 *S.aureus* izolasyonunun 46'sı (%77,97) beta-laktamaz pozitifdir. *S.aureus*'lar beta-laktamaz enzim aktiviteleri çok fazla olan patojen bakterilerdir. 7 *S.epidermidis*'in 2'si (%28,57) beta-laktamaz pozitif, 7 *S.saprophyticus*'ün hepsi beta-laktamaz negatif olarak bulunmuştur. Özellikle mastitisli hayvanların sütlerinde *S.aureus*'ün beta-laktamaz sentezleyip sentezlemediği önem taşımaktadır. Birçok araştırmacı bu konuyla ilgili çalışmalar yapmıştır.

MAZURA (1990) mastitisli hayvanların süt örneklerinden 179 *S.aureus* izole etmiştir. Bunların 86'sında (%48,04) beta-laktamaz enzimi pozitifdir.

Çizelge 2. Çiğ Süt, Pastörize Süt ve Beyaz Peynir Örneklerinde Beta-Laktamaz Enzim Varlığı Araştırılan 73 *Staphylococcus*'un Dağılımı

Çiğ süt, pastörize süt ve beyaz peynirde üreyen İodometrik Test yöntemiyle beta-laktamaz enzim varlığı araştırılan <i>Staphylococcus</i> 'lar	Çiğ sütle izole edilen betalaktamaz enzim varlığı araştırılan <i>Staphylococcus</i> 'lar		Pastörize sütle izole edilen betalaktamaz varlığı araştırılan <i>Staphylococcus</i> 'lar				Beyaz peynirden izole edilen beta-laktamaz varlığı araştırılan <i>Staphylococcus</i> 'lar		Top.
	Beta-laktamaz pozitif sayı	Beta-laktamaz negatif sayı	+22 °C'de 24 saat bekletilen pas.süt. üreten <i>Staphy.</i> 'lar		+4 °C'de 48 saat bekletime pas.süt. üreyen <i>Staphy.</i> 'lar		Beta-lakta- maz poz. sa.	Beta-lakta- maz neg. sa.	
			Beta-lakta- maz poz. sa.	Beta-lakta- maz neg. sa.	Beta-lakta- maz poz. sa.	Beta-lakta- maz neg. sa.			
<i>S. aureus</i>	8	2	2	1	5	5	31	5	59
<i>S. epidermidis</i>	1	-	-	-	-	1	1	4	7
<i>S. saprophyticus</i>	-	4	-	1	-	-	-	2	7
Toplam	9	6	2	2	5	6	32	11	73

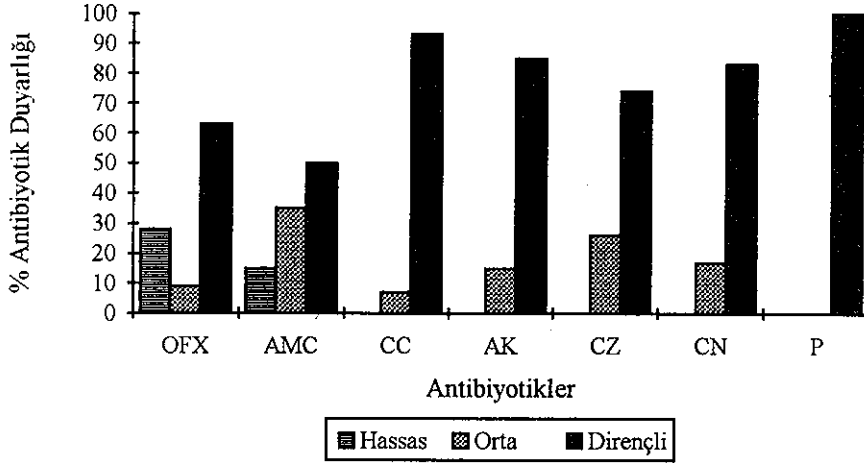
Çizelge 3. Beta-Laktamaz Enzimi Pozitif Olarak Değerlendirilen 48 *Staphylococcus*'un Antibiyogram Sonuçları (Ofloksasin, Klindamisin, Amikasin, Sefazolin, Gentamisin, Penisilin-G)

Çiğ süt, pastörize süt ve beyaz peynirde İodometrik Test yöntemiyle beta-laktamaz pozitif <i>Staphylococcus</i> 'lar	OFLOKSASİN			KLAVULANAT AMOKSİSİLİN			KLİNDAMİSİN			AMİKASİN			SEFAZOLİN			GENTAMİSİN			PENİSİLİN-G		
	H	O	D	H	O	D	H	O	D	H	O	D	H	O	D	H	O	D	H	O	D
<i>S. aureus</i>	13	4	29	7	16	23	-	3	43	-	7	29	-	12	34	-	8	38	-	8	46
<i>S. epidermidis</i>	-	1	1	-	1	1	-	-	2	-	1	1	-	-	2	-	-	2	-	-	2
Toplam	13	5	30	7	17	24	-	3	45	-	8	30	-	12	36	-	8	40	-	8	48

H: Hassas O: Orta D: Dirençli

Çizelge 3'te beta-laktamaz pozitif 46 *S. aureus* ve 2 *S.epidermidis*'in antibiyotik hassasiyet sonuçları görülmektedir. Bütün beta-laktamaz pozitif *Staphylococcus*'lar penisin-G'ye %100 dirençlidir. 43 (%93) *S.aureus* ve 2 (%100) *S.epidermidis* ise klindamisin'e en yüksek oranda dirençli bulunmuştur. 46 betalaktamaz pozitif *S.aureus*'un 39'u (%85) amikasin'e dirençli bulunurken, *S.epidermidis* amikasin'e %50 oranında dirençli tespit edilmiştir. *S.aureus* gentamisin'e 38 (%83), sefazoline 34(%74) dirençli bulunurken, *S.epidermidis*'in gentamisin ve sefazolin'e direnci %100'dür.

Burada beta-laktamaz pozitif 23 (%50) *S.aureus* klavulanat-amoksisilin'e dirençli tespit edilirken, 7'si (%15) duyarlı, 16'sı (%35) da orta derecede duyarlı çıkmıştır. *S.epidermidis*'in 1'i klavulanat-amoksisilin'e dirençli bulunurken diğeri de duyarlı tespit edilmiştir. Ofloksasin'e *S.epidermidis*'in 1'i duyarlı, diğeri de direnç göstermiştir. Ancak *S.aureus*'un 29'u (%63) dirençli, 13'ü (%28) duyarlı, 44ü (%9) da orta derecede hassas sonuç vermiştir.



Şekil 1. Çiğ Süt, Pastörize Süt ve Beyaz Peynir Örneklerinden İzole Edilen Betalaktamaz Pozitif 46 *Staphylococcus aureus*'un Antibiyogram Sonuçları

OFX : Ofloksasin

AM : Klavulanat Amoksisilin

CC : Klindamisin

AK : Amikasin

CZ : Sefazolin

CN: Gentamisin

P : Penisilin-G

Not: 46 *Staphylococcus aureus* dikkate alınarak yüzdeler hesaplanmıştır.

MATSUNGA ve arkadaşları (1990) mastitisli sığır sütlerinde yaptıkları çalışmada beta-laktamaz pozitif 21 (%45,70) *S.aureus* izole etmişlerdir. Ancak bizim çalışmamızda beta-laktamaz pozitif *S.aureus* izolasyon sıklığımız 46 (%77,97) olarak bu araştırmacıların sonuçlarından çok daha yüksek bulunmuştur.

Literatürlerde pek çok araştırmacı beta-laktamaz enzim tayininde birden fazla yöntemi kullanarak sonuçları karşılaştırmalı incelemişlerdir. Ve yukarıda anılan her iki testi aynı oranda güvenilir bulmuşlardır. Bazı araştırmacılar örneğin JONES ve HEATH (1985) ile OWENS ve WATTS (1988), beta-laktamaz enzim belirlenmesinde nitrosefin test yöntemini daha güvenilir bularak tercih etmişlerdir.

İlgili çizelgelerde de görüldüğü gibi çiğ süt, pastörize süt ve beyaz peynir örneklerinden izole edilen beta-laktamaz pozitif 32 *Staphylococcus* izolasyonu en fazla beyaz peynirden gerçekleştirilmiştir. Bu izolasyonun 31'i *S.aureus*, 1'i de *S.epidermidis*'tir. İkinci derecede çiğ süttten 9 beta-laktamaz pozitif *Staphylococcus* bakterileri izole edilmiş ve bunun 8'i *S.aureus*, 1'i de *S.epidermidis* çıkmıştır. Pastörize sütte ise yalnız 7 beta-laktamaz pozitif *S.aureus* bulunmuştur.

Literatürlerde beta-laktamaz enzim araştırmasıyla ilgili çalışmalarda antibiyotik hassasiyet testlerine sıklıkla rastlanmaktadır. Penisilin gibi bazı antibiyotikler beta-laktamaz enzim kontrolünü yapmak amacıyla kullanılırlar. Ayrıca beta-laktamaz pozitif bakteriler antibiyotiklere çoğunlukla dirençlidirler ve pek çok antibiyotiğe bir arada direnç gösterebilirler.

Beta-laktamaz pozitif 46 *S.aureus* ve 2*S.epidermidis*'in antibiyogram sonuçlarına göre, *S.aureus*'un %93'ü, *S.epidermidis*'in de %100'ü klindamisin'e en yüksek oranda dirençli bulunmuştur. *S.aureus* amikasin'e %85 direnç göstermişken *S.epidermidis* %50 oranında dirençli tespit edilmiştir. *S.aureus* gentamisin'e %83, sefazolin'e %74 dirençli bulunurken *S.epidermidis*'in direnci %50 oranında saptanmıştır. Ofloksasin'e karşı *S.aureus*'un direnci %63 iken *S.epidermidis*'in %50 bulunmuştur.

Sonuç olarak araştırmamızda çiğ süt, pastörize süt ve beyaz peynir örneklerinden izole ettiğimiz *Staphylococcus*'ların büyük bir kısmı *S. aureus* olarak adlandırılmıştır. Ve bu bakterilerin beta-laktamaz enzim sentezi de yoğun olarak tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- ANONYMOUS, 1981. Türk Standartları Enstitüsü, Çiğ Süt TS 1018.
- CLARK, W.S. BRAZIS, A.R., FOWLER, J.L. et. al., 1978. Standard Plate Count Method Standard Methods for the Examination of Dairy Products, Ed. Marth. E.H., 14 th. Edition, (A.P.H.A.) Washington, 7-107.
- GILLIAND, S.E., BUSTO, F.F., BRINDA, J.J., 1984. Compendium of Method for the Microbiological Examination of Foods, Ed. Speck, M.L., 2 nd ed., Am Publ. Health Assoc., Inc., Washington D.C.
- HERNANDEZ-ANDRADE, L., CHAVEZ-ALONSO, E.P., et. al., 1991. Antimicrobial sensitiviyt and beta-lactamase production of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococci* isolated from bovine mastitis Veterinaria Mexico, 22(3) 290-294.
- JONES, T.O., HEATH, P.J., 1985. Beta-lactamase production in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis milk Veterinaria Mexico, 22(3) 290-294.
- JONES, T.O., HEATH, P.J., 1985. Beta-lactamase production in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis milk Veterinary record., 117(13) 340.
- KLOSS, W.E., LAMBE, D.W., 1991. *Staphylococcus*. "in, Manual of Clinical Microbiology, 5th, Eds A. Balows ve W.J. Hausler", American Society for Microbiology, Massachusetts, Washington, 1364 sayfa.
- MATSUNAGA, T., YOSHIDA, T., et. al., 1990. Identification of *Staphylococci* from bovine mastitis and an examination of their susceptibility of antibiotics and beta-lactamase production Japanese Journal of Veterinary Science, 52/6 1219-1227.
- MAZURA, F., 1990. Determination of beta-lactamase production in *Staphylococcus aureus* strains isolated from the milk of cows. Veterinarni Medicina 35(5) 267-274.
- OGAMA, Y., ENDO, T., 1991. Antibiotic-sensitivity of *Staphylococcus aureus* isolated from cow's milk, Journal of the Japan Veterinary Medical Association, 44(3) 202-205.
- OWENS, W.E., WATTS, J.L., 1988. Antimicrobial susceptibility and beta-lactamase testing of *Staphylococci* isolated from dairy herds. Journal of Dairy Science, 71(7) 1934-1936.
- URAZ, G., GÜNDOĞAN, N., 1991. *Staphylococcus* türlerinin beta-laktamaz enzim aktiviteilerinin tayini, vankomisin ve çeşitli gruptan antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının karşılaştırılması. Türk. Hij. Den. Biyol. Derg., 48(2) 239-252.
- WASHINGTON, J.A. 1985. Laboratory Procedures in Clinical Microbiology, 2nd edition United States of America, 885 sayfa.