



**ÇİĞ VE İŞLENMİŞ SU ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN  
ENTEROKOKLARIN GIDA GÜVENLİĞİ YÖNÜNDEN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Onur KARAALIOĞLU**



T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇİĞ VE İŞLENMİŞ SU ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN  
ENTEROKOKLARIN GIDA GÜVENLİĞİ YÖNÜNDEN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Onur KARAALIOĞLU**

Doç. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY  
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BURSA – 2019

## TEZ ONAY SAYFASI

Onur KARAALIOĞLU tarafından hazırlanan ‘‘ÇİĞ VE İŞLENMİŞ SU ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN ENTEROKOKLARIN GIDA GÜVENLİĞİ YÖNÜNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ’’ adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Doç. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY

İmza  

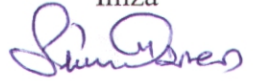

**Başkan:** Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU  
Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

İmza



**Üye:** Doç. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY  
Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

İmza



**Üye:** Doç. Dr. Mine ÇARDAK  
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi,  
Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu,  
Balıkçılık Teknolojisi Anabilim Dalı

İmza



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Hüseyin Aksel EREN

Enstitü Müdürü

--/--/----

08/07/2019

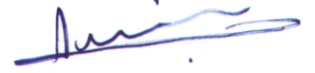
## BEYAN

**U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;**

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

**beyan ederim.**

05/07/2019



**Onur KARAALIOĞLU**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### ÇİĞ VE İŞLENMİŞ SU ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN ENTEROKOKLARIN GIDA GÜVENLİĞİ YÖNÜNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ

**Onur KARAALIOĞLU**

Bursa Uludağ Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

**Danışman:** Doç. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY

Bu çalışmanın amacı çiğ ve işlenmiş su ürünlerinden izole edilen enterokokların patojenite etmenleri olan antibiyotik dirençlilik potansiyelleri ve virülens genlerini taşıma durumları yönünden değerlendirilmesidir. Bu çalışma kapsamında Marmara bölgesinden günlük olarak avlanan çiğ balık örnekleri Bursa, İstanbul ve Çanakkale balık pazarlarından, işlenmiş deniz ürünleri örnekleri ise süpermarket ve şarküterilerden temin edilmiştir. Çiğ ve işlenmiş su ürünlerinden izolasyonu gerçekleştirilen enterokoklara cins düzeyinde doğrulama amaçlı Gram boyama, katalaz ve hemoliz testi gerçekleştirilmiştir. API-20 Strep biyokimyasal test kitleri sonucu tanımlanmaları gerçekleştirilen enterokok suşları disk difüzyon yönteminde yararlanılarak streptomisin (10 µg), tetrasiklin (30 µg), gentamisin (10 µg), vankomisin (30 µg), eritromisin (15 µg), kloramfenikol (30 µg) antibiyotiklerine karşı dirençlilikleri açısından Mueller Hinton Agar besiyerinde değerlendirilmiştir. Virülens (*agg*, *gelE*, *cylA*, *cylB*, *cylM*) ve vankomisine direnç genleri *vanA* ve *vanB*'nin varlığının araştırılması amacıyla polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi kullanılmıştır. Disk difüzyon yöntemi sonucunda toplam 50 adet enterokok izolatının %98'inin (49/50) streptomisin, %80'inin (40/50) gentamisin, %30'unun (15/50) tetrasiklin ve vankomisin antibiyotiklerine karşı yüksek seviyede direnç gösterdiği tespit edilmiştir. İzolatların %72'sinin (36/50) eritromisin, %30'unun (15/50) vankomisin'e karşı orta düzeyde dirençlilik, kloramfenikol'e karşı ise izolatların %24'lük (12/50) bölümünün dirençlilik gösterdiği belirlenmiştir. İzolatların %88'inde (44/50) test edilen en az iki farklı antibiyotiğe karşı yüksek seviye direnç görülmüştür. İzolatlarda vankomisine direnç genleri olan *vanA* ve *vanB* varlığı tespit edilememiştir. Virülens genler açısından ise izolatların %72'sinde *gelE* geninin, %24'ünde ise *agg2* geninin varlığı belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Su ürünleri, *Enterococcus* spp., antibiyotik direnç, virülens faktör  
2019, viii + 80 sayfa

## ABSTRACT

MSc. Thesis

### FOOD SAFETY ASPECT OF ENTEROCOCCI ISOLATED FROM RAW AND PROCESSED SEAFOOD PRODUCTS

Onur KARAALIOĞLU

Bursa Uludağ University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

**Supervisor:** Assoc. Prof. Dr. Sine OZMEN TOGAY

The aim of this study was to evaluate antibiotic resistance potential and virulence characteristics of *Enterococcus* strains isolated from raw and processed seafood products. In this study, raw fish samples obtained from Bursa, İstanbul and Çanakkale fish markets which hunted daily from Marmara region. Processed seafood products obtained from supermarkets and charcuteries. For the characterization at genus level, Gram staining, catalase test and hemolysis test in sheep blood agar were performed. All isolates identified at species level by using API 20 Strep biochemical test kits and performed antibiotic resistancy tests against streptomycin (10µg), tetracycline (30µg), gentamycin (10µg), vancomycin (30µg), eritromycin (15µg) and chloramphenicol (30µg) on Mueller Hinton Agar media. Polymerase chain reaction (PCR) analyzes were performed to evaluate virulence (*agg*, *gelE*, *cylA*, *cylB*, *cylM*) and vancomycin resistance genes (*vanA*, *vanB*). As a result of disc diffusion method, most of the isolates (49/50) were found high resistant against streptomycin, 80% (40/50) of isolates to gentamycin, 30% (15/50) of isolates to tetracycline and vancomycin antibiotics. 72 % (36/50) of the isolates to eritromycin and 30% (15/50) of isolates to vancomycin were found intermediate level resistant. 24% (12/50) of isolates showed resistancy against chloramphenicol. It was determined that 88% (44/50) of the isolates showed multiple resistance at least two different antibiotics. Vancomycin resistance genes; *vanA* and *vanB*, were not detected in the isolates. In 72% of the isolates *gelE* gene and in 24% of isolates *agg2* gene was determined.

**Key words:** Seafood, *Enterococcus* spp., antibiotic resistance, virulence factor  
**2019, viii + 80 pages**

## TEŞEKKÜR

Başta bu konuda bana çalışma imkanı sunan ve çalışmanın her aşamasında bilgi birikimi ve deneyimleriyle desteğini esirgemeyen, değerli öneri ve fikirleriyle akademik gelişimimde büyük emeği olan, bu süre zarfında içtenliği ve güler yüzünü hiç kaybetmeyen kıymetli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY'a,

Moleküler çalışmalar sırasında, laboratuvar olanaklarını kullanmama izin vererek, katkılarını esirgemeyen değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mustafa AY'a ve laboratuvar çalışmalarım süresince desteklerini hissettiğim değerli hocam Sayın Doç. Dr. Mine ÇARDAK'a,

Bu çalışmayı, '2150374' numaralı 'Çiğ ve işlenmiş su ürünlerinden izole edilen enterokokların gıda güvenliği ve bakteriyosin üretim potansiyeli yönüyle değerlendirilmesi' başlıklı proje kapsamında destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'na,

Son olarak, hayatımın her döneminde desteklerini esirgemeyip beni bu günlere getiren sevgili ailem; babam Diyar KARAALIOĞLU'na, annem Sevgi KARAALIOĞLU'na, ablalarım Bilgin KARAALIOĞLU ve Burcu PEKER'e, abim olarak gördüğüm Ali PEKER'e ve bu zorlu süreçte sevgisi ve desteğini derinden hissettiğim çok değerli Martyna Czekala'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Onur KARAALIOĞLU  
05/07/2019

## İÇİNDEKİLER

Sayfa

|   |      |
|---|------|
| ÖZET.....   | I    |
| ABSTRACT.....   | II   |
| TEŞEKKÜR.....   | III  |
| KISALTMALAR DİZİNİ.....   | VI   |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....  | VII  |
| ÇİZELGELER DİZİNİ.....  | VIII |
| 1. GİRİŞ.....   | 1    |
| 2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI.....   | 3    |
| 2.1. <i>Enterococcus</i> Cinsinin Genel Karakteristik Özellikleri.....  | 3    |
| 2.1.1. <i>Enterococcus</i> cinsi bakteriler.....  | 3    |
| 2.1.2. Tarihçesi ve taksonomik özellikleri.....   | 3    |
| 2.1.3. Enterokokların ekolojisi ve kaynakları.....  | 4    |
| 2.1.4. Enterokokların fonksiyonel özellikleri.....  | 5    |
| 2.1.4.1. Laktik asit üretimi.....   | 5    |
| 2.1.4.2. Starter kültür olarak kullanımı.....   | 5    |
| 2.1.4.3. Bakteriyosin üretim potansiyeli.....   | 7    |
| 2.1.4.4. Probiyotik olarak kullanımı.....   | 7    |
| 2.1.5. Enterokokların patojenite etmenleri.....   | 8    |
| 2.1.5.1. Antibiyotik dirençlilik potansiyeli.....   | 8    |
| 2.1.5.2. Virülens özellikler.....   | 11   |
| 2.1.5.3. Biyojen amin üretim potansiyeli.....   | 13   |
| 2.1.6. Su ve su ürünlerinde enterokokların varlığı, antibiyotik dirençlilik ve virülens gen taşıma durumları..... | 14   |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM.....  | 19   |
| 3.1. Materyal.....  | 19   |
| 3.1.1. Su ürünleri örnekleri.....   | 19   |
| 3.1.2. Mikroorganizmalar.....   | 19   |
| 3.1.3. Referans suşlar.....   | 19   |
| 3.1.4. Çalışmada kullanılan besiyerleri, seyreltme sıvıları ve çözeltilerin hazırlanması.....                     | 19   |
| 3.1.4.1. Kanamisin azide aesculin agar.....   | 20   |
| 3.1.4.2. Brain heart infusion broth.....  | 20   |
| 3.1.4.3. Brain heart infusion agar.....   | 20   |
| 3.1.4.4. Mueller hinton agar.....   | 21   |
| 3.1.4.5. Serum fizyolojik.....  | 21   |
| 3.1.4.6. Gliserol.....  | 21   |
| 3.1.5. Agaroz jel elektroforezinde kullanılan jelin hazırlanması ve yürütme tamponunun içeriği.....               | 23   |
| 3.2. Yöntem.....  | 24   |
| 3.2.1. <i>Enterococcus</i> suşlarının izolasyonu.....   | 24   |
| 3.2.2. Enterokok izolatlarının cins düzeyinde tanımlanması.....   | 25   |
| 3.2.2.1. Morfolojik ve biyokimyasal testler.....  | 25   |
| 3.2.2.1.1. Gram boyama.....   | 25   |
| 3.2.2.1.2. Katalaz testi.....   | 26   |
| 3.2.2.1.3. Hemolitik aktivite.....  | 27   |



|  |    |
|--|----|
| 3.2.2.1.4. Enterokok izolatlarının tür düzeyinde doğrulanması .....  | 27 |
| 3.2.3. Kültürlerin muhafazası .....  | 28 |
| 3.2.4. Enterokok izolatlarının antibiyotik direnç özelliklerinin belirlenmesi.....   | 28 |
| 3.2.5. Enterokok izolatlarının vankomisin direnç genlerini ( <i>vanA</i> ve <i>vanB</i> ) taşıma potansiyellerinin değerlendirilmesi ..... | 30 |
| 3.2.5.1. Enterokok izolatlarından toplam DNA izolasyonu .....  | 30 |
| 3.2.5.2. Enterokok izolatlarında <i>vanA</i> ve <i>vanB</i> genlerinin araştırılması.....  | 30 |
| 3.2.6. Enterokok izolatlarının virülens gen taşıma potansiyellerinin değerlendirilmesi .....   | 33 |
| 3.2.7. DNA izolatlarının agaroz jel elektroforezi .....  | 36 |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....  | 37 |
| 4.1. Su Ürünlerinden Elde Edilen Enterokok İzolatlarının Tür Düzeyinde Dağılımları .....   | 37 |
| 4.2. Su Ürünlerinden Elde Edilen Enterokok İzolatlarının Antibiyotik Direnç Profilleri.....  | 44 |
| 4.3. Su Ürünlerinden Elde Edilen Enterokok İzolatlarının Virülens Gen Taşıma Durumları .....   | 60 |
| 5. SONUÇ .....   | 69 |
| KAYNAKLAR .....  | 73 |
| ÖZGEÇMİŞ .....   | 79 |

## KISALTMALAR DİZİNİ

| <b>Kısaltmalar</b>        | <b>Açıklama</b>               |
|---------------------------|-------------------------------|
| <i>agg2</i> , <i>asa1</i> | Agregasyon maddesi            |
| BHIA                      | Brain heart infusion agar     |
| BHIB                      | Brain heart infusion broth    |
| <i>ace</i>                | Enterokokal yüzey adhezyon    |
| <i>esp</i>                | Enterokokal yüzey proteini    |
| E*                        | Eritromisin                   |
| G*                        | Gentamisin                    |
| <i>efa</i>                | Hücre duvarı adhezini         |
| <i>gelE</i>               | Jelatinaz                     |
| KAA                       | Kanamisin Azide Aesculin Agar |
| <i>cyLS</i>               | Kısa Alt Birim                |
| C*                        | Kloramfenikol                 |
| MHA                       | Mueller Hinton Agar           |
| PZR                       | Polimeraz zincir reaksiyonu   |
| <i>spr</i>                | Serin Proteaz                 |
| SF                        | Serum Fizyolojik              |
| <i>cyl</i>                | Sitolizin                     |
| S*                        | Streptomisin                  |
| Te*                       | Tetrasiklin                   |
| Va*                       | Vankomisin                    |
| VRE                       | Vankomisin dirençli enterokok |
| MAR                       | Çoklu antibiyotik dirençlilik |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|  | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan bazı su ürünü örnekleri.....   | 24           |
| Şekil 3.2. KAA besiyerinde şüpheli enterokok kolonileri.....   | 25           |
| Şekil 3.3. Mikroskopik morfoloji.....  | 26           |
| Şekil 3.4. API-20 Strep biyokimyasal test kiti.....  | 27           |
| Şekil 3.5. MHA besiyerinde antibiyotik disk çevresinde oluşan zon görüntüsü.....   | 30           |
| Şekil 4.1. MAR değerlerine göre çoklu antibiyotik dirençlilik özelliği gösteren izolatların tüm izolatlar göz önüne alındığında oluşan yüzdeler dağılımları..... | 53           |
| Şekil 4.2. Bazı enterokok izolatlarında <i>agg2</i> genine ait PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüleri.....  | 65           |
| Şekil 4.3. Bazı enterokok izolatlarında <i>gelE</i> genine ait PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüleri.....  | 65           |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

|   |    |
|---|----|
| Çizelge 2.1. Bazı enterokokal virülens genlerin patojenitedeki fonksiyonları .....  | 13 |
| Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan besiyerleri, seyreltme sıvıları ve çözeltiler .....   | 22 |
| Çizelge 3.2. Agaroz jel elektroforezi yürütme tamponunun içeriği.....   | 23 |
| Çizelge 3.3. Enterokoklar için referans alınan zon çapları .....  | 29 |
| Çizelge 3.4. Polimeraz zincir reaksiyonlarında (PZR) <i>vanA</i> ve <i>vanB</i> için kullanılan primerler.....  | 31 |
| Çizelge 3.5. <i>vanA</i> ve <i>vanB</i> genlerini çoğaltmak amacıyla uygulanan PZR bileşenleri. .   | 32 |
| Çizelge 3.6. <i>vanA</i> ve <i>vanB</i> genlerinin çoğaltılmasında uygulanan PZR programı. ....   | 33 |
| Çizelge 3.7. İzolatlara uygulanan PZR reaksiyonlarında kullanılan primerler.....  | 34 |
| Çizelge 3.8. Virülens genlerini ( <i>agg2</i> , <i>gelE</i> , <i>cylA</i> , <i>cylB</i> , <i>cylM</i> ) çoğaltmak amacı ile uygulanan PZR bileşenleri. .... | 34 |
| Çizelge 3.9 <i>agg2</i> , <i>cylA</i> , <i>cylB</i> , <i>cylM</i> genlerinin çoğaltılmasında uygulanan PZR programı. ....                                   | 35 |
| Çizelge 3.10. <i>gelE</i> geninin çoğaltılmasında uygulanan PZR programı. ....  | 35 |
| Çizelge 3.11. Optimizasyonu yapılan bölgeler için PZR koşulları.....  | 36 |
| Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan enterokok izolatlarının elde edildiği örnekler ve tanımlama sonuçları .....   | 38 |
| Çizelge 4.2. İzolatların örneklere göre dağılımları. ....   | 41 |
| Çizelge 4.3. Tür düzeyinde tanımlama sonuçlarına göre enterokokların dağılımları. ....  | 42 |
| Çizelge 4.4. İzolatların antibiyotik dirençlilik profilleri. ....   | 45 |
| Çizelge 4.5. İzolatların test edilen antibiyotiklere karşı yüzdesel dirençlilik profilleri. .   | 49 |
| Çizelge 4.6. Tür bazında izolatların test edilen antibiyotiklere karşı dirençlilik dağılım profilleri.....  | 50 |
| Çizelge 4.7. Her izolat için direnç gözlenen antibiyotikler ve MAR oranları.....  | 51 |
| Çizelge 4.8. İzolatların çoklu antibiyotik dirençlilik (MAR) indeksi sonuçları.....   | 53 |
| Çizelge 4.9. Enterokok izolatlarının virülens direnç genlerini taşıma durumları.....  | 62 |

## 1. GİRİŞ

Enterokoklar laktik asit bakteri grubuna dahil olup, insanların ve hayvanların gastrointestinal sistemlerinde doğal olarak bulunmakta, düşük ve yüksek sıcaklık, pH ve farklı tuz konsantrasyonları gibi olumsuz çevresel koşullar altında yaşamlarını devam ettirebilme özelliklerinden dolayı da özellikle hayvansal kaynaklı et, süt, peynir gibi gıdalarda bulunabilmekte, fermente gıda ürünlerinin organoleptik özelliklerine katkıda bulunarak gıdanın olgunlaşma süreçlerinde yararlı bir rol üstlenebilmektedir. Yüksek tuz konsantrasyonlarına tolerans gösterebilme kapasitelerinden dolayı enterokoklar atık su ve deniz ortamları gibi farklı su habitatlarından da izole edilebilmektedir. Yapılan bazı araştırmalarda su ve su ürünlerinden izole edilen bazı enterokok türleri; *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *E. durans*, *E. raffinosus*, *E. avium*, *E. malladoratus*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. phoeniculicola*, *E. saccharolyticus* ve *E. gilvus* olarak rapor edilmiştir (Foulquié Moreno ve ark. 2006, Psoni ve ark. 2006, Tansuphasiri ve ark. 2006, Valenzuela ve ark. 2010a, Klibi ve ark. 2013, Hammad ve ark. 2014a).

Enterokoklar proteolitik ve lipolitik aktiviteleri ile önemli uçucu bileşikleri üretebilme gibi fonksiyonel özelliklerinden dolayı dünya genelinde birçok gıda fermentasyonu işlemlerinde lezzet ve aroma gelişimi açısından önemli bir role sahiptir. Bunun yanında enterokoklar insanlar ve hayvanlarda bağırsakların mikrobiyal dengesini geliştirmek ve gastroenterit tedavisi amacıyla probiyotik yardımcıları olarak da kullanılabilir. Enterokokların gıdalarda bulunabilen bozulma etmeni mikroorganizmalar ile buzdolabı sıcaklığı, düşük pH, yüksek tuz konsantrasyonu gibi zorlu fizikokimyasal koşullar altında dahi canlılığını sürdürebilen *Listeria monocytogenes* gibi patojenik bakterileri inaktive edebilen enterosinler üretebildiği de bilinmektedir (Franz ve ark. 1999, Foulquié Moreno ve ark. 2006, Rehaïem ve ark. 2016).

Enterokoklar bazı suşlarının iyi bilinen yararlı etkilerinin yanı sıra bakteriyemi, endokardit, idrar yolu ve diğer enfeksiyonlara neden olabilen hastane kaynaklı patojenler olarak kabul edilmektedir. Son yıllarda enfeksiyonları tedavi etmek amacıyla sıklıkla kullanılan pek çok antibiyotiğe karşı direnç gösterip hayatta kalabilmekte ve bu

direnç genlerini kolaylıkla transfer edebilme mekanizmaları ile dikkat çekmektedirler. Enterokokların patojenitesinin değerlendirilmesinde çeşitli antibiyotiklere karşı gösterdiği direncin yanı sıra virülens faktörlerinin de dikkate alınması gerekmektedir. Antibiyotik direnç genlerinin varlığı tek başına bir suşun patojenitesini göstermezken, virülens faktörler ile etkileşerek suşun tehlikeli bir hale gelmesine neden olabilmektedir. Enterokoklar virülensliğe doğrudan veya dolaylı olarak katkıda bulunabilen çeşitli genleri taşıyabilmektedir. Adhezin, hemolisin, agregasyon maddeleri, jelatinaz, enterokokal yüzey proteini gibi virülens faktörlerini kodlayan genler, gıda maddelerinden izole edilen enterokoklarda da tanımlanmıştır. Çeşitli antibiyotiklere karşı yüksek seviyede direnç ile virülens faktörlerin varlığı hastane kaynaklı enfeksiyonlarda enterokokların fırsatçı patojen rolünü desteklemektedir. Gıdalarda antibiyotik dirençlilik ve virülens genlerin varlığı bakterilerin bu genlerin ve direnç belirleyicilerinin gıda zinciri yoluyla iletiminde rol oynayabileceğinden dolayı bir endişe konusudur (Franz ve ark. 1999, Trivedi ve ark. 2011, Wierzchowska ve ark. 2017).

Bu tez çalışması kapsamında, Marmara Bölgesi'nden günlük olarak avlanmış ekonomik öneme sahip taze balık (hamsi, istavrit, izmarit, barbun, sardalya) ve hazır gıda olarak satışa sunulan (karides, midye, kalamar, lakerda) su ürünü örneklerinin florasında bulunan enterokokların; izolasyonu, tanımlanması ve gıda güvenliği yönüyle (antibiyotik dirençlilik ve virülens genleri taşıma potansiyellerinin araştırılması) değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## 2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. *Enterococcus* Cinsinin Genel Karakteristik Özellikleri

#### 2.1.1. *Enterococcus* cinsi bakteriler

*Enterococcus* cinsinin üyeleri; Gram pozitif , katalaz negatif, oksidaz negatif, ikili ya da kısa zincirler halinde bulunabilen, fakültatif anaerobik, spor oluşturmeyen, *E. casseliflavus* ve *E.gallinarum* gibi bazı türleri dışında hareketsiz, laktik asit bakterilerinin genel tanımına uyan koklardır. 10-45°C sıcaklık, 9,6 pH , %6,5 tuz konsantrasyonunda gelişebilme ve 30 dakika 60°C'lik ısı işlem uygulamasına maruz kaldıklarında dahi yaşamsal faaliyetlerini devam ettirebilme özelliklerine sahiptir. Enterokok suşlarının çoğu %40 safra tuzu varlığında eskulini hidrolize edebilmektedir. Hemoliz testi sonucunda kanlı agar da enterokok kolonileri alfa ya da non-hemolitik sonuç verebilmektedir (Franz ve ark. 1999, Giraffa 2002, İşleroğlu ve ark. 2008, Fisher ve Phillips 2009, Toğay ve Temiz 2011).

#### 2.1.2. Tarihçesi ve taksonomik özellikleri

*Enterococcus* cinsi içinde yer alan mikroorganizmalar esasen dışkı kaynaklı streptokoklar ile ilişkilidir. Enterokok terimi 1899 yılında Thiercelin'in enfeksiyonlara neden olabilen bağırsak kökenli saprofitik bir kok tarifi ile ortaya çıkmıştır. Aynı yıl içerisinde MacCallum ve Hastings günümüzde '*Enterococcus faecalis*' olarak bilinen organizmanın, ölümcül bir endokardit vakasından ayırımını gerçekleştirmiş ve bu sayede patojenik özelliklerinin ilk ayrıntılı açıklamasını sağlamışlardır (Franz ve ark. 1999, Gilmore ve ark. 2014).

1933 yılında Lancefield D grup antijene sahip, fekal kökenli streptokoklar için serolojik bir yazım sistemi geliştirmiştir. *Streptococcus* cinsi için 1937 yılında yeni bir sınıflandırma şekli öneren Sherman streptokokları; piyojenik, viridans, laktik ve enterokoklar olmak üzere dört ayrı gruba ayırmıştır. *Streptococcus* cinsi daha sonra modern sınıflandırma tekniklerinin uygulanması ve yapılan serolojik çalışmalar dikkate

alınarak *Streptococcus*, *Lactococcus* ve *Enterococcus* olmak üzere 3 ayrı cins başlığı altında anılmaya başlanmıştır (Franz ve ark. 1999, Fisher ve Phillips 2009, Toğay ve Temiz 2011).

*Streptococcus* cinsinin 16S rRNA dizilimi kullanılarak toplanan moleküler verileri, *Streptococcus*, *Lactococcus* ve *Enterococcus* türleri arasındaki ilişkiyi gösteren bir 16S rRNA dendrogramının oluşturulmasını sağlamıştır. Bu yöntem aynı zamanda *Enterococcus* türlerinin gruplandırılmasına da olanak vermiştir (Fisher ve Phillips 2009).

### **2.1.3. Enterokokların ekolojisi ve kaynakları**

İnsan bağırsağı pek çok farklı bakteri türünden oluşan kendine has bir mikrobiyal flora sahiptir. Enterokoklar doğada yaygın olarak bulunabilen bakteriler olmakla birlikte, insan ve hayvanların gastrointestinal sistemlerinde baskın bir yaşam alanına sahiptir. İnsan bağırsağında, *E. faecalis* türü genellikle baskın olmakla beraber, bazı bireyler ve ülkelerde *E. faecium* türü sayıca daha üstün gelebilmektedir. Enterokoklar sadece sıcak kanlı hayvanlarda değil, toprak, bitkiler, sebzeler ve böceklerde de bulunabilmekte, yüksek tuz konsantrasyonlarına tolerans gösterebilme kapasitelerinden dolayı atık sular, denizler gibi farklı su habitatlarından da izole edilebilmektedir ( Franz ve ark. 1999, Foulquié Moreno ve ark. 2006, Valenzuela ve ark. 2010, John ve Carvalho 2011).

Hayvanların bağırsak kanallarında yaygın olarak rastlanabilmelerine bağlı olarak, enterokoklar, özellikle hayvansal kaynaklı olmak üzere birçok gıdada bulunabilmektedir. Bu nedenle *E. faecalis* ve *E. faecium*'un izolasyonu sıklıkla gıdalardaki fekal bulaşmayı göstermek amacıyla kullanılmıştır. Bununla birlikte enterokoklar artık sadece kötü hijyen koşullarının göstergesi olarak değil, gıda mikroflorasının doğal parçaları olarak da kabul edilmektedir (Klein 2003).



Enterokok türleri, özellikle *E. faecalis* ve *E. faecium*, çeşitli ülkelerin geleneksel ya da endüstriyel olarak işlenmiş su ürünlerinden (balık, midye, vb.) de izole edilmiştir (Pinto ve ark. 2009, Valenzuela ve ark. 2010, Françoise 2010, Hammad ve ark. 2014).

#### **2.1.4. Enterokokların fonksiyonel özellikleri**

Enterokoklar; gıda, klinik mikrobiyoloji ve çevresel alanda oldukça önemli yeri olan laktik asit bakterileridir. Son yıllarda gastrointestinal sistemde canlı kalabilme ve rekabet yetenekleri nedeniyle enterokokların starter kültür, yardımcı kültür ve probiyotik olarak kullanımına olan ilgi gittikçe artmaktadır. Enterokoklar gıdalarda lezzet geliştirme ve peynir kalitesinin iyileştirilmesinde büyük rol oynamakta ve mikrobiyal dengenin geliştirilmesine katkıda bulunmaktadır. Bu özelliklerinin yanında, antilisterial aktivitesi olan bakteriosinlerin (enterosin) üretimi gibi bazı biyoteknolojik özellikleri de barındırmaktadır (Franz ve ark. 2003, Aspri ve ark. 2017).

Enterokokların proteolitik ve lipolitik aktiviteleri ile birlikte uçucu bileşenleri üretebilme potansiyelleri gibi fonksiyonel özellikleri gıda fermentasyonlarında starter veya probiyotik kültür olarak kullanımlarına olanak sağlamakta ve pek çok fermente gıdanın duyuşsal özelliklerinin geliştirilmesinde rol oynamaktadır (Santos 2011).

##### **2.1.4.1. Laktik asit üretimi**

Enterokoklar laktik asit fermentasyonu ile heksozlardan L-laktik asit oluşturan kemoorganotrofik bakterilerdir. Ana ürün laktik asit olmasına karşın, büyüme koşullarına bağlı olarak önemli miktarlarda asetat ve etanol üretebildikleri de bildirilmektedir. Bahsedilen bileşiklerin tümü, birçok fermente ürünün tadının belirlenmesinde önemli bir rol almaktadır (Franz ve ark. 2003, Gimenez-Pereira 2005).

##### **2.1.4.2. Starter kültür olarak kullanımı**

Fermente gıdaların üretimi, ham maddenin hızlı asidifikasyonunu başlatan laktik asit bakterilerinin starter kültür olarak kullanımına dayanmaktadır. Fermentasyon işleminin

temel amacı ürünün raf ömrünü uzatarak, son ürüne orjinal gıdadan farklı bir tat kazandırmaktır. Bu amaçla kullanılan mikroorganizmalar şekerlerin, yağların ve proteinlerin katabolizması yoluyla çeşitli aromaların geliştirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Leroy ve De Vuyst 2004, Kam ve ark. 2011).

Starter kültür, bir fermentasyon sürecini başlatan, sürecin kontrolünü kolaylaştıran ve fermentasyonu hızlandırmak amacıyla ilave edilen tek tür ya da çok sayıda değişik mikroorganizma içeren bir preparat olarak tanımlanmaktadır. Starter kültür olarak kullanılan preparatlar, mikrobiyal kaliteye katkıda bulunarak, ürün üzerinde organoleptik, teknolojik ve besin değeri açısından çeşitli avantajlar sunabilmektedir (Leroy ve De Vuyst 2004).

Enterokoklar süt, et gibi hayvansal kaynaklı ürünlerde kolonize olarak bu ürünlerde yaşamsal faaliyetlerini devam ettirebilmekte ve çoğalabilmektedir. Süt ürünlerinde enterokokların varlığı uzun yıllar boyuca sütün üretimi ve işlenmesi sırasında hijyenik olmayan koşulların bir sonucu olarak düşünülmüştür. Bununla birlikte gıdalardaki enterokoklar süte doğrudan insan veya hayvan dışkılarından ya da dolaylı olarak kontamine su kaynakları, sağım ekipmanları ve depolama tanklarından bulaşabilmektedir. Psikrotrofik doğası, ısı direnci ve farklı substrat ve büyüme koşullarına uyum sağlamaları nedeniyle, soğutma sırasında gelişebilmekte ve pastörizasyon işlemi sonrası hayatta kalabilmektedir. Bu nedenle, enterokoklar hem çiğ hem de pastörize süt mikroflorasının bir parçası olmaktadır (Hugas ve ark. 2003, Giraffa 2003, Bhardway ve ark. 2008).

Peynir aroma gelişimine olumlu etkilerinden dolayı bazı enterokok suşları starter kültür olarak kullanılmaya başlanmıştır. Enterokokların çeşitli peynir türlerindeki varlığı ve fermente gıda ürünlerinin organoleptik özelliklerine potansiyel katkısı gıda işletmecileri tarafından gıdaya doğrudan uygulanmaları açısından dikkate alınması gereken önemli özellikleridir (Sarantinopoulos ve ark. 2001, Foulquié Moreno ve ark. 2006).

Enterokokların fermente et ürünlerinde ve peynirlerde olgunlaşma ve aroma oluşumu gibi yararlı etkilerinin yanı sıra, zeytinlerde oleuropeinin parçalanması gibi olumlu

teknolojik özellikleri bu bakterilerin bu tür gıdaların üretiminde starter ya da yardımcı kültürler olarak kullanımını ilgi çekici hale getirmiştir (Foulquié Moreno ve ark. 2006).

#### **2.1.4.3. Bakteriyosin üretim potansiyeli**

Bazı laktik asit bakteri suşları bakteriyosin ya da bakteriyosin benzeri moleküllerin yanı sıra gıdanın korunması ve güvenliğine katkıda bulunabilen diğer antimikrobiyal peptidleri sentezleyebilmektedir. Laktik asit bakterilerinin bakteriyosinleri; gıda kaynaklı önemli patojenlere ve mikroflorada bozulmaya neden olabilecek etmenlere karşı antimikrobiyal aktivite gösteren protein yapıları bileşiklerdir. Bu özelliklerinden dolayı, bakteriyosin üreten suşlar gıdaların korunması amacıyla büyük bir kullanım potansiyeline sahiptir. Gram pozitif ve Gram negatif çok sayıda bakteri antimikrobiyal bileşikler üretmelerine rağmen, laktik asit bakterileri gıda fermentasyonları ile direkt olarak ilişkili olmasından dolayı gıda biyokontrolünde kullanım için çok uygundur (De Martinis ve ark. 2002, Luc De Vuyst ve Leroy 2007).

Enterokoklar enterosin olarak adlandırılan ve *Listeria*, *Clostridium*, *Staphylococcus* gibi patojenik bakteriler de dahil olmak üzere yakın tür Gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal etkili bakteriyosinler üretebilmektedir. Enterokokların çoğunun ısıya dayanıklı, katyonik, hidrofobik antibakteriyel peptitler ürettiği bilinmektedir (L.De Vuyst ve ark. 2003, Foulquié Moreno ve ark. 2006).

#### **2.1.4.4. Probiyotik olarak kullanımı**

Probiyotikler belirli miktarlarda tüketildiklerinde sağlık üzerinde olumlu etkiler gösteren yararlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır. Çoğu probiyotik mikroorganizma *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Enterococcus* spp. gibi laktik asit bakterileri grubunda yer almaktadır. Gıdalarda probiyotik kültürler çoğunlukla süt ürünlerinde kullanılmakla beraber, son zamanlarda müsli barlar, çikolatalar, meyve suları ve et ürünlerinde de kullanım alanı bulmuştur (Ljungh ve Wadström 2006, Franz ve ark. 2011).

Enterokokların probiyotik olarak kullanımının, mikrobiyal dengenin geliştirilmesine ve insanlar ile hayvanlarda gastroenterit tedavisine katkıda bulunabileceği belirtilmektedir. Bununla birlikte enterokokların probiyotik olarak kullanımı bazı ülkelerde antibiyotik direnç genlerinin transfer mekanizması ile ilgili güvenlik kaygılarından ötürü tartışma konusudur (Hugas ve ark. 2003, Ljung ve Wadström 2006, Foulquié Moreno ve ark. 2006).

### **2.1.5. Enterokokların patojenite etmenleri**

#### **2.1.5.1. Antibiyotik dirençlilik potansiyeli**

Enterokoklar bilinen yararlı etkilerinin yanı sıra bakteriyemi, endokardit, üriner sistem ve hastane kaynaklı (nozokomiyal) enfeksiyonlara neden olabilen fırsatçı patojenler olarak kabul edilmekte ve genellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda enfeksiyonlara neden olabilmektedir (Franz ve ark. 2003).

Enterokoklar çok çeşitli antibiyotiklere karşı direnç gösterebilme özelliklerinden dolayı antibiyotik kullanılan hastane ortamında hayatta kalabilmekte ve dirençli organizmaların yayılmaları açısından fırsat sağlamaktadır. Bakteriler bazı antibiyotiklere karşı kendiliğinden dirençli olabilmekle beraber kromozomal genlerdeki mutasyonlar ve yatay gen transferi ile antibiyotiklere direnç kazanabilmektedir (Blair ve ark. 2015).

Enterokokların antibiyotik direnci doğal ve kazanılmış direnç olmak üzere iki çeşittir. Bir bakteri türünün belirli bir antibiyotiğe karşı doğal direnci, yapısal ve fonksiyonel özelliklerin bir sonucu olarak bu antibiyotiğin etkisine direnme kabiliyetidir. Sefalosporinler, sülfonamidler, birçok  $\beta$ -laktam (karbapenemler, sefalosporinler, penisilinler, monobaktamlar, klavamlar, vb.) ve düşük seviyedeki aminoglikozitlere (streptomisin, gentamisin, kanamisin, vb.) karşı olan direnç doğal dirençlilik olarak kabul edilmektedir. Kazanılmış dirençlilik ise kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin, rifampisin, ampisilin ve glikopeptitler (vankomisin, teikoplanin, vb.) dahil olmak üzere

antimikrobiyallerin tüm sınıflarına karşı dirençliliği kapsamaktadır(Barbosa ve ark. 2009, Blair ve ark. 2015).

$\beta$ -laktamlar, bir  $\beta$ -laktam halkası içeren ve aktif bölgede penisilin bağlayıcı proteinlere kovalent bağlanarak peptidoglikan sentezini inhibe eden önemli bir antibiyotik sınıfıdır.  $\beta$ -laktam sınıfı antibiyotiklere karşı bakteriyel direncin ana mekanizması, sitoplazmik membranda bulunan penisilin bağlayıcı proteinlere ulaşmadan önce bu antibiyotikleri inaktive etme yeteneğine sahip hidrolitik enzimler olan  $\beta$  -laktamazların üretimini içermektedir. Bakterilerde  $\beta$ -laktam grubu antibiyotiklere karşı oluşan direnç; penisiline bağlanan proteinlerde (PBP) oluşan değişiklikler ile  $\beta$ -laktamaz enzimleri ve geçirgenliğe bağlı olarak gelişebilmektedir. PBP'de oluşan değişikliklere bağlı oluşan dirençlilik kromozomal mutasyonlar sonucunda ortaya çıkarken,  $\beta$ -laktamaz enzimlerine bağlı dirençlilik  $\beta$ -laktamazların, penisilin, sefalosporin ve benzeri  $\beta$ -laktam grubu antibiyotikleri hidrolize etmesi sonucunda bu antibiyotiklere direnç geliştirmesiyle meydana gelmektedir (Birdal 1999, Falagas ve Karageorgopoulos 2009, Blair ve ark. 2015).

Hastane kaynaklı ciddi enfeksiyonların tedavisi amacıyla kullanılan aminoglikozitler, biyolojik olarak aktif sekonder bakteriyel metabolitlerin büyük bir grubunu oluşturmaktadır. Aminoglikozidlere karşı yüksek düzeyde direnç, sıklıkla, fosfotransferazlar (APH'ler), asetiltransferazlar (AAC'ler) ve nükleotidiltransferazlar (ANT'ler) gibi aminoglikosit modifiye edici enzimler aracılığıyla meydana gelmektedir (Garrido ve ark. 2014).

Glikopeptitler, peptidoglikan biyosentezine müdahale ederek bakteriyel büyümeyi inhibe etmektedir. Antibiyotikler, hücre duvarı biyosentetik enzimlerinin transglikosilasyon ve transpeptidasyon reaksiyonları için substrat olarak kullanılmasını engelleyerek hücrenin dış yüzeyi üzerindeki peptidoglikan öncüllerinin D-Ala-D-Ala (D-Alanil-D-Alanin) peptit terminalleri ile kompleksler oluşturmasını sağlayarak hücre duvarı bütünlüğünün bozulmasına neden olmaktadır. Enterokoklarda glikopeptitlere karşı oluşan direnç, ilk kez 1986 yılından bildirilmiştir ve klinik ortamlarda giderek

artan bir sorun haline gelmiştir. Enterokoklarda glikopeptid direnci fenotipik ve genotipik olarak heterojendir ve dirençlilik doğal veya kazanılmış olabilmektedir.

Enterokoklarda glikopeptid direncinin aktarımı mutasyonlar ya da yabancı DNA kazanımı ile gerçekleşmektedir. Enterokokların direnç genlerini diğer bakterilere yayabilmek amacıyla kullandıkları genetik aktarım sistemleri mevcuttur. Transdüksiyon, transformasyon, konjugasyon ve transpozisyon gibi mekanizmalarla direnç genlerini taşıyan unsurların bakteriler arası aktarımı gerçekleşmektedir. Bu sistemler içerisinde birçok Gram pozitif türde replike olabilen plazmidler ile transpozonlar mevcuttur. Enterokoklarda en yaygın aktarım mekanizmasının konjugasyon yoluyla olduğu bilinmektedir. Konjugasyon, iki bakteri hücrelerinin teması sonucunda genetik materyalin aktarımıdır (Arthur ve ark. 1996, Gholizadeh ve Courvalin 2000, Yüce 2001, Çöleri ve Çökmüş 2008, Gilmore ve ark. 2014).

Enterokokların değerlendirilmesindeki en önemli faktör vankomisin veya teikoplanin gibi glikopeptidlere karşı gösterdikleri dirençtir. Glikopeptidler penisilinin etki göstermediği durumlarda dirençli Gram pozitif bakterilere bağlı ciddi enfeksiyonları tedavi etmek amacıyla kullanılmaktadır. Vankomisine dirençli enterokok (VRE) türleri, özellikle *E. faecalis* ve *E. faecium* idrar yolu enfeksiyonları, yumuşak doku enfeksiyonları, bakteriyemi ve endokardit dahil olmak üzere birçok insan enfeksiyonu ile ilişkili en yaygın enterokokal patojenlerdir. Vankomisinin yaygın olarak kullanımı sonucu VRE suşlarının sayısında ve dolayısıyla da yüksek vankomisin direncine sahip hastane kaynaklı enterokokların yayılma oranında artış görülmüştür. Gıdalarda antibiyotiklere dirençli enterokoklar yaygın olarak bulunabilmekte ve direnç genleri plazmidler vasıtasıyla bakteriler arasında aktarılabilir. Gerçekleştirilen bazı çalışmalar patojenik enterokokların gıdalar aracılığıyla taşınıp taşınmadığı ve özellikle vankomisin dirençli enterokokların hastane ortamında hastalık yapma potansiyelleri üzerinde yoğunlaşmıştır (Franz ve ark. 1999, Eaton ve Gasson 2001, Klein 2003, Foulque Moreno ve ark. 2006, Gilmore ve ark. 2014, Akpaka ve ark. 2017).

### 2.1.5.2. Virülens özellikler

Uzun yıllar boyunca enterokoklar *S. aureus*, *L. monocytogenes* gibi diğer Gram pozitif patojenlerle karşılaştırıldıklarında güçlü virülens faktörlerinin olmaması ve düşük patojenite potansiyelleri nedeniyle zararsız olarak kabul edilmişlerdir. Bu görüş zaman içerisinde hastane kaynaklı enfeksiyonlarda enterokokların artan etkisinden dolayı değişiklik göstermiştir. Gıdalarda virülens genler ile antibiyotik direncinin varlığı, bakterilerin bu genleri ve direnç belirleyicilerini besin zinciri yoluyla insanlara aktarılmasına neden olabileceğinden dolayı endişe konusudur (Franz ve ark. 1999, Trivedi ve ark. 2011)

Virülens faktör bir mikroorganizmanın hastalığa neden olabileceği özelliğini arttıran bir molekül olarak tanımlanmaktadır. Eaton ve Gasson (2001), enterokokal virülens faktörlerin, en sık klinik izolatlarda olmak üzere gıda ve starter kültür olarak kullanılan suşlarda da bulunduğunu belirtmişlerdir. Enterokokların enfeksiyon oluşturabilmesi için konakçı dokuda kolonize olması, konakçıya spesifik olarak dirençli olması ve patolojik değişiklikler meydana getirmesi gerekmektedir. Enterokokların enfeksiyonlara neden olan faktörlerinin daha iyi anlaşılmasının, bu bakterilerin neden olduğu hastane kaynaklı enfeksiyonların önlenmesiyle birlikte, yeni tedavi edici ve koruyucu yaklaşımların geliştirilmesine katkıda bulunabileceği belirtilmektedir. Agregasyon maddesi, jelatinaz ve sitolizin enterokokların virülenslik ile ilgili bazı moleküllerdir (Franz ve ark. 1999, Eaton ve Gasson 2001, Franz ve ark. 2003, Foulquie Moreno 2006, Sava ve ark. 2010).

Agregasyon maddesi feromona duyarlı plazmidler tarafından kodlanan, bakteriler arasında toplanmaya aracılık eden ve böylece plazmid transferini kolaylaştıran bir yüzey aktif glikoproteindir (Submuth ve ark. 2000). Konakçı dokuya bağlanma, kontaminasyon sürecinin ilk adımınıdır. Agregasyon maddesi bağlanma aşamasında rol oynamakta ve bakteriyel agregasyonu yönlendirerek konjugasyonu teşvik etmektedir (Submuth ve ark. 2000, Kayser 2003, Sava ve ark. 2010).

Agregasyon maddesi *E. faecalis* suşlarında yaygın olarak karakterize edilmiş bir yüzey proteindir. Bu proteinler, sıklıkla antibiyotik direnç genlerini de içeren feromona duyarlı plazmidler tarafından kodlanırlar ve *E. faecalis* suşlarının kümelenmesini sağlayarak plazmid DNA transferine neden olmaktadır. Bu nedenle *E. faecalis*'in

nozokomiyal suşları genetik değişim için uygun olabilmekte ve plazmidler üzerinde antibiyotik direnç belirleyicilerini taşıyabilmektedirler (Mundy ve ark. 2000, Arias ve Murray 2012).

Jelatinaz; jelatin, kollajen, hemoglobin ve diğer biyoaktif peptidleri hidrolize eden ve *Enterococcus* türlerinin patojenitesinde rol oynadığı düşünülen bir proteazdır. Jelatinaz genellikle, fekal ve klinik enterokok izolatlarının bir virülens faktörü olup, gıdalarda *E. faecalis* suşları arasında üretiminin yüksek olduğu belirtilmektedir. Jelatinaz proteinini kodlayan *gelE* geni, konakçı dokuların bozulması ve konakçı bağışıklık cevabının modülasyonu gibi etkilerle virülense aracılık etmektedir. Hücre dışı DNA salınımına ve biyofilm oluşumuna yol açan otolizinin aktivasyonuna katılmaktadır (Franz ve ark. 1999, Foulquie Moreno ve ark. 2006, İşleroğlu ve ark. 2008, Arias ve Murray 2012).

Sitolizin üretimi ve aktivasyonu bir dizi aşamayı içermektedir. Litik faktör öncül maddeleri (prekürsörleri) olan CylLL (uzun alt birim) ve CylLS (kısa alt birim) ribozomal olarak sentezlenmekte ve CylM tarafından translasyon sonrası modifiye edilmektedir. Modifiye edilmiş peptitler daha sonra bir taşıyıcı olan CylB tarafından hücreden proteolitik olarak salgılanmaktadır. Salgılanan peptit bir serin proteaz olan CylA tarafından aktive edilmektedir (Kayaoğlu 2011).

Bazı enterokokal virülens genlerin patojenitedeki fonksiyonları Çizelge 2.1.'de gösterilmiştir.



Çizelge 2.1. Bazı enterokokal virülens genlerin patojenitedeki fonksiyonları (Eaton ve Gasson 2001).

| Virülens gen | Genin virülenslikteki rolü   |
|--------------|--|
| <i>agg</i>   | Hücre agregasyonu ve konjugasyon, ökaryotik hücelere tutunmada görevli agregasyon proteininin sentezi                                  |
| <i>gelE</i>  | Jelatin, kollajen, hemoglobin ve diğer biyoaktif bileşikleri hidrolize eden toksik ekstraselüler metalloendopeptidaz enziminin sentezi |
| <i>cylM</i>  | Gram pozitif bakteriler ile ökaryotik hüceleri lize eden sitolizinin (hemolizin/bakteriyosin) translasyon sonrası modifikasyonu.       |
| <i>cylB</i>  | Sitolizinin transportu   |
| <i>cylA</i>  | Sitolizinin aktivasyonu  |

### 2.1.5.3. Biyojen amin üretim potansiyeli

Biyojen aminler dekarboksilaz aktivitesine sahip mikroorganizmalar tarafından protein içeriği bakımından zengin gıdalarda ve fermente ürünlerde aminoasitlerin dekarboksilasyonu sonucu oluşan, alifatik, aromatik ve heterosiklik yapıda bulunabilen azotlu organik bileşiklerdir (Akan ve Demirağ 2018).

Biyojen aminler; su ürünleri, et, süt ürünleri, meyveler, sebzeler, kuruyemişler, çikolatalar ve fermente ürünler dahil olmak üzere pek çok gıda ürününde bulunabilmektedir. Su ürünlerinde uygun olmayan şartlarda depolama veya mikrobiyal kontaminasyon sonucu yüksek miktarlarda biyojen amin üretimi gerçekleşebilmektedir. Su ürünlerindeki yüksek biyojen amin varlığı, gıda kaynaklı hastalıklara neden olabilen bir etken madde olarak görülmekte olup, yüksek biyojen amin içerikli ürünlerin tüketilmesi sonucu zehirlenmeler meydana gelmektedir. Histamin, tiramin, triptamin, putresin ve kadaverin su ürünlerinde rastlanan önemli biyojenik aminlerdir (Biji ve ark. 2016).

Başta *E. faecium* ve *E. faecalis* olmak üzere *Enterococcus* türleri fermente ürünler, et ve süt ürünleri gibi çeşitli gıda maddelerinin duyuşal özelliklerinin gelişmesinde önemli bir rol oynasa da çeşitli çalışmalarda belirli suşlarının biyojen amin üretebildiği bildirilmiştir. Biyojen amin üretimi genel olarak suşa spesifik bir özellikken, tiramin oluşumu *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans*'ta tür düzeyinde bir özellik olarak tanımlanmaktadır (Ladero ve ark. 2012, Inoğlu ve Tuncer 2013, Yüceer ve Tuncer 2015, Akpınar Kankaya ve ark. 2017).

#### **2.1.6. Su ve su ürünlerinde enterokokların varlığı, antibiyotik dirençlilik ve virülens gen taşıma durumları**

Enterokoklar yaygın bir şekilde doğada bulunabilmekte ve gıda, toprak, su gibi çok çeşitli ortamlardan izole edilebilmektedir. Bazı enterokok suşları, çeşitli fermente gıdaların olgunlaşma ve aroma kazanımı gibi işlemlerine katkıda bulunabilmekte, ayrıca anti-*Listeria* aktivitesi gösterebilen bakteriyosinler üretebilmektedir. Enterokoklar insanlar ve hayvanlar da probiyotik olarak da kullanım potansiyeli bulmaktadır. Bilinen bu yararlı özelliklerinin yanı sıra enterokokların bazı suşları, çeşitli enfeksiyonlara neden olabilen hastane kaynaklı önemli patojenler arasında yer almaktadır. Yüksek tuz konsantrasyonlarına tolerans gösterebilme kapasitelerinden dolayı enterokoklar atık su ve deniz ortamları gibi farklı su habitatlarından da izole edilebilmektedir. Yapılan bazı araştırmalarda su ve su ürünlerinden izole edilen bazı enterokok türleri; *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *E. durans*, *E. raffinosus*, *E. avium*, *E. malladoratus*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. phoeniculicola*, *E. saccharolyticus* ve *E. gilvus* olarak rapor edilmiştir (Franz ve ark. 1999, Kayser 2003, Psoni ve ark. 2006, Foulquié Moreno ve ark. 2006, Tansuphasiri ve ark. 2006, Valenzuela ve ark. 2010, Klibi ve ark.2013, Hammad ve ark. 2014).

Son yıllarda deniz suları, atık sular, içme suları gibi çeşitli akuatik ortamlardan ve bu ortamlarda bulunabilen su ürünlerinden elde edilen enterokokların izolasyonunun yanı sıra dünya genelinde ciddi bir artış gösteren ve büyük bir halk sağlığı sorunu olarak görülmekte olan antibiyotik direnç ve virülens gen taşıma durumlarına ilişkin olarak çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Ferguson ve ark. 2013, Hammad ve ark. 2014,

Cameiro ve ark. 2015, Carey ve ark. 2016, Chajicka-Wierzchowska ve ark. 2016, Molale ve Bezuidenhout 2016, Muş ve Çetinkaya 2017, Ben Said ve ark. 2017, Igbınosa ve Beshiru 2019).

Muş ve Çetinkaya (2017) tarafından farklı su kaynaklarının mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen bir çalışmada 119'u şebeke suyu, 81'i ise artezyen suyu olmak üzere toplam 200 adet su örneği analize alınmıştır. Çalışma sonucunda, şebeke suyu örneklerinin %2.5'inin, artezyen suyu örneklerinin ise %40.7'sinin enterokokları içermekte olduğu belirlenmiştir.

Ferguson ve ark. (2013) tarafından atık sularda bulunan enterokokların izolasyonunun gerçekleştirildiği bir çalışmada, *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinin baskın olarak izole edildiği ve bunun nedeninin insan kaynaklı fekal bulaşı ile ilişkilendirilebileceği belirtilmiştir.

Igbınosa ve ark. (2019), Ben Said ve ark. (2017), Wierzchowska ve ark. (2016) ve Hammad ve ark. (2014) tarafından su ürünü örneklerinden elde edilen enterokok izolatlarında *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinin en yaygın olarak tespit edildiği, bunun yanında *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. hirae*, *E. gallinarum* ve *E. mundtii*, *E. phoeniculicola*, *E. raffinosus*, *E. saccharolyticus* ve *E. gilvus* gibi farklı türlerinde tanımlandığı bildirilmiştir.

Enterokokların belirli suşları hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olabilen fırsatçı patojenler olarak kabul edilmektedir. Enterokokların kendilerine özgü direnç özelliklerine ve farklı antibiyotiklere karşı kazanılmış direnç mekanizmalarına sahip olduğu bilinmektedir. Bu direnç mekanizmaları mutasyonun yanı sıra, herhangi bir ortamdaki diğer bakterilerle gen aktarımı yoluyla da kazanılabilmektedir. Antibiyotiklere karşı olan dirençlilik, dirençli bakterilerin ve direnç genlerinin çevreye yayılmaları sonucu dünya genelinde büyük bir halk sağlığı problemi haline hızla gelmektedir. Sucul ekosistem, antibiyotiklere dirençli bakteriler ve direnç genleri için önemli bir kaynaktır. Bu yüzden enterokokların çevresel su kaynaklarında ve su ürünlerinde ki varlığı toplumda meydana gelen enfeksiyonlardaki muhtemel bağlantıları

nedeniyle önem teşkil etmektedir (Bergeron ve ark. 2015, ChajECKA-Wierzchowska ve ark. 2016, Molale ve Bezuidenhout ve ark. 2016).

Enterokokların antibiyotik direnç mekanizmalarının yanı sıra, patojenite de önemli çeşitli virülens faktörleri de barındırdığı bilinmektedir. Bu bağlamda enterokokların patojenitesinin değerlendirilmesi amacıyla antibiyotik direnç ve virülens gen taşıma durumlarına ilişkin farklı su kaynakları ve su ürünlerinde gerçekleştirilmiş çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Franz ve ark. 1999, Valenzuela ve ark. 2010, Hammad ve ark. 2014, Carneiro ve ark. 2015, Carey ve ark. 2016, ChajECKA-Wierzchowska ve ark. 2016, Molale ve Bezuidenhout 2016, Ben Said ve ark. 2017, Igbinosa ve ark. 2019).

Carey ve ark. (2016) sulama amacıyla kullanılan geri kazanılmış sudan elde ettikleri enterokok izolatlarının çeşitli antibiyotiklere (quinopristin, vankomisin, tetrasiklin, penisilin, siprofloksasin) karşı dirençlilik durumlarını araştırdığı bir çalışmada vankomisine dirençli enterokokların geri kazanılmış suda az miktarda bulunduğunu ancak test edilen diğer antibiyotiklere karşı özellikle *E. faecalis* dışındaki türlerde daha yaygın olarak dirençlilik gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Carneiro ve ark. (2015) su ve yumuşakçalardan izole ettikleri enterokokları antimikrobiyal duyarlılık ve virülens belirleyicileri yönünden test ettikleri bir çalışmada tüm izolatların ampisilin ve nitrofurantoin duyarlı olduğunu, izolatların %47'lik bölümünün test edilen antibiyotiklerden (gentamisin, ampisilin, imipenem, vankomisin, nitrofurantoin, siprofloksasin, tetrasiklin) en az birine karşı yüksek seviyede direnç gösterdiğini belirlemişlerdir. Bunun yanı sıra *E. faecalis* izolatlarının %97'lik bölümünde jelatinaz enziminin üretiminden sorumlu *gelE* virülens geninin varlığını bildirmişlerdir.

Molale ve ark. (2016) yüzey sularından elde ettikleri enterokok izolatlarının antibiyotiklere direnç ve virülens genlerini test ettikleri bir çalışmada, izolatların yüksek oranda  $\beta$ -laktamlara ve vankomisin'e karşı direnç gösterdiğini, bunun yanında pek çoğunun test edilen diğer antibiyotiklere (amfisilin, amoksisilin, penisilin, neomisin, streptomisin, kloramfenikol, siprofloksasin, eritromisin, tetrasiklin) karşı da dirençlilik

profili ortaya koyduğunu tespit etmişlerdir. Bunun dışında bazı izolatlarda çeşitli virülens faktörlerin (*cylA*, *hyl*, *gelE*, *asa1*) varlığını bildirmişlerdir.

Igbinosa ve ark. (2019) tüketime hazır su ürünü örneklerinden elde ettikleri enterokok izolatlarının %49,2'sinde eritromisin, %37,3'ünde vankomisin, %45,8'inde ise tetrasikline karşı yüksek seviyede direnç belirlemişlerdir. İzolatların hiç birinin test edilen virülens faktörlerin (*gelE*, *sprE*, *cylL*, *agg*, *efaA*, *esp*, *ace*, *hyl*, *cob*, *ccf*) tümüne karşı pozitif bir sonuç vermediği ancak *gelE* ve *agg* genlerinin sırasıyla %30,5 ve %62,7 oranlarında tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Ben Said ve ark. (2017) Tunus'taki su ürünü örneklerinden elde ettikleri enterokoklarda streptomisin, tetrasiklin ve eritromisin antibiyotiklerine karşı yüksek seviyede dirençlilik tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Aynı çalışma kapsamında, *gelE*, *hyl*, *esp*, *cylA* ve *cylB* olmak üzere beş adet virülens faktörün varlığı polimeraz zincir reaksiyonu yoluyla araştırılmış ve izolatların %38,6'sının jelatinaz üreticisi olduğu ve tüm *E. faecalis* ve *E. durans* suşlarının *gelE* genini içerdiği belirlenmiştir.

Wierzchowska ve ark. (2016) tarafından gerçekleştirilen ve karideslerden izole edilen enterokokların %65,7'sinin test ettikleri antibiyotiklerin (amfisilin, penisilin, gentamisin, streptomisin, vankomisin, teikoplanin, norfloksasin, levofloksasin, siprofloksasin, tetrasiklin, tigesiklin, rifampisin, eritromisin, nitrofurantoin, linezolid, fosfomisin, kloramfenikol, quinupristin) en az birine karşı yüksek seviyede % 45,7'sinin ise yüksek seviye çoklu dirençlilik özelliği gösterdiğini belirtmişlerdir. Çalışma kapsamında elde edilen *E. faecalis* suşlarının diğer suşlara göre daha fazla virülens faktörleri içerdiği ve üç adet suşun test edilen tüm virülens faktörlere (*gelE*, *esp*, *ace*, *agg*, *cylA*, *efaA*) karşı pozitif sonuç verdiği bildirilmiştir. Hücre dışı metaloendopeptidazı kodlayan *gelE* geni izolatların %85,7'sinde tespit edilmiştir.

Hammad ve ark. (2014) tüketime hazır balıklardan elde ettikleri *E. faecalis* suşlarının %42 oranında, test ettikleri antibiyotiklerden (kanamisin, gentamisin, streptomisin, sefotaksim, sefoperazon, siprofloksasin, teikoplanin, vankomisin, klindamisin, azithromisin, eritromisin, penisilin, amoksilin, tetrasiklin, kloramfenikol) en az iki

tanesine karşı çoklu yüksek dirençlilik gösterdiğini bildirmişlerdir. Bunun yanı sıra, elde edilen tüm *E. faecalis* suşlarının *gelE* virülens geni taşıdığı tespit edilmiştir.

Valenzuela ve ark. (2010) tarafından yumuşakça, balık ve balık filetosundan oluşan çiğ su ürünlerinden izole edilen enterokokların, eritromisin antibiyotiğine direnç gösterdiği, bunun yanında hiçbir izolatta  $\beta$ -laktam ve vankomisin direnci tespit edilmediği bildirilmiştir.



### **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Su ürünleri örnekleri**

Bu çalışma kapsamında enterokok suşlarının izolasyonu amacıyla İstanbul, Çanakkale ve Bursa perakende balık satıcılarından temin edilen ekonomik öneme sahip çığ (Sardalye, İstavrit, Barbun, Hamsi) ve süpermarket ve şarküterilerden temin edilen işlenmiş su ürünü örnekleri (Ançuez, Lakerda, Midye içi) buzdolabı muhafaza koşullarında Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü ve Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deniz Bilimleri Fakültesi mikrobiyoloji laboratuvarına getirilmiştir. Aynı gün içerisinde, herhangi bir depolama işlemine maruz bırakılmaksızın izolasyon amaçlı çalışmalara başlanmıştır.

##### **3.1.2. Mikroorganizmalar**

Bu tez çalışması kapsamında belirtilen su ürünü örneklerinden izole edilen toplamda 50 adet *Enterococcus* izolatu gıda güvenliği yönünden değerlendirilmiştir. İzolatlar gerektiğinde kullanılmak üzere %30'luk steril gliserol çözeltisi içeren Brain Heart Infusion Broth (Merck) besiyerinde stok yapılarak -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

##### **3.1.3. Referans suşlar**

Çalışmada test edilen virulens genlerin hepsini taşıyan *E. faecalis* NCIMB 700584 referans suşu pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

##### **3.1.4. Çalışmada kullanılan besiyerleri, seyreltme sıvıları ve çözeltilerin hazırlanması**

İleri dilüsyonların oluşturulması amacıyla serum fizyolojik (SF) çözeltisi hazırlanmış ve kullanılmıştır. Enterokokların izolasyonunda seçici besiyeri olarak Kanamisin Azid

Eskulin agar (KAA), izolatların saflaştırılması amacıyla Brain Heart Infusion agar (BHIA), aktiveştirilmesi amaçlı Brain Heart Infusion broth (BHIB), izolatların hemoliz aktivitesinin tespiti amacıyla ise % 5 koyun kanlı agar besiyeri kullanılmıştır. Katalaz testi için hidrojen peroksit ve kültürlerin stoklanması amacıyla gliserol çözeltilerinden yararlanılmıştır. Çalışmada kullanılan besiyeleri, seyreltme sıvıları ve çözeltiler Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.

#### **3.1.4.1. Kanamisin azide aesculin agar**

500 gramlık kutuda hazır olarak temin edilen toz halindeki besiyerinden, belirtilen hazırlama prosedürüne bağlı olarak 47,5 gram/L miktarlarda tartılarak sulandırılmış ve homojenize edilmiştir. Otoklavda 121°C'de 15 dakikalık sterilizasyon işlemi sonrası soğutularak petrilere dökümü gerçekleştirilmiştir. *Enterococcus* cinsi için selektif olan bu besiyeri izolasyon amacıyla kullanılmıştır (Devriese ve ark. 1992).

#### **3.1.4.2. Brain heart infusion broth**

500 gramlık kutuda hazır olarak temin edilen toz halindeki besiyeri, belirtilen hazırlama prosedürüne bağlı olarak 37 gram/L miktarlarda tartılarak sulandırılmış, 5 mL'lik tüplere dağıtılarak otoklavda 121°C'de 15 dakikalık sterilizasyon işlemi gerçekleştirilmiş ve gerektiğinde izolatların aktivasyonu amacıyla bu besiyerinden yararlanılmıştır (Nicos ve ark. 1989).

#### **3.1.4.3. Brain heart infusion agar**

Brain Heart Infusion Broth besiyeri için belirtilen hazırlama prosedürlerine uygun olarak hazırlanan besiyerine, %1.,5'lik agar ilavesi sonucu Brain Heart Infusion Agar besiyeri elde edilmiştir. Hazırlanan besiyerinin otoklavda 121°C'de 15 dakikalık sterilizasyon işlemi sonrası soğutularak petrilere dökümü gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem ile hazırlanan besiyeri, *Enterococcus* izolatlarının saflaştırılması amacıyla kullanılmıştır (Çaylan ve ark. 2004).



#### **3.1.4.4. Mueller hinton agar**

500 gramlık kutuda hazır olarak temin edilen toz halindeki besiyeri, belirtilen hazırlama prosedürüne bağılı olarak 34 gram/L miktarlarda hazırlanmış ve otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Hazırlanan besiyeri antibiyogram testi amacıyla kullanılmıştır (Landman ve ark. 1995).

#### **3.1.4.5. Serum fizyolojik**

500 gramlık kutuda hazır olarak temin edilen toz halindeki NaCl, 1 litre saf su içerisinde 8,5 gram miktarda tartılıp tüplere dağıtılarak hazırlanmış ve otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilizasyon sonrası seyreltme amacıyla kullanılmıştır.

#### **3.1.4.6. Gliserol**

Kültürlerin stoklanması amacıyla hazırlanan %30'luk gliserol çözeltisi otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan besiyerleri, seyreltme sıvıları ve çözeltiler

| <b>Besiyeri Adı</b>                  | <b>Kullanım Amacı</b>                | <b>İnkübasyon Koşulları</b> | <b>Marka</b>          |
|--------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|-----------------------|
| <b>Kanamisin Azide Aesculin Agar</b> | <i>Enterococcus</i> izolasyonu       | 37 °C<br>24-48 saat         | Merck<br>1.05222.0500 |
| <b>Brain Heart Infusion Agar</b>     | İzolatların saflaştırılması          | 37 °C<br>18-24 saat         | Merck<br>1.13285.0500 |
| <b>Brain Heart Infusion Broth</b>    | İzolatların Aktifleştirilmesi        | 37 °C<br>18-24 saat         | Merck<br>1.10493.5000 |
| <b>Agar</b>                          | Sıvı besiyerlerinin Katılaştırılması | --                          | Merck<br>1.01613.1000 |
| <b>%5 Koyun Kanlı Agar</b>           | Hemolitik aktivite                   | 37 °C<br>18-24 saat         | Spesera               |
| <b>Mueller Hinton Agar</b>           | Antibiyogram Testi                   | 37 °C<br>18-24 saat         | Merck<br>1.05437.0500 |
| <b>Serum Fizyolojik</b>              | Seyreltme sıvısı                     | --                          | Merck<br>1.06404.1000 |
| <b>Hidrojen Peroksit</b>             | Katalaz testi                        | --                          | Merck<br>1.08597.1000 |
| <b>Gliserol</b>                      | Stok kültür                          | --                          | Merck<br>1.04091.2500 |

### 3.1.5. Agaroz jel elektroforezinde kullanılan jelin hazırlanması ve yürütme tamponunun içeriği

Virülens ve vankomisin direnç genlerinin araştırılmasında kullanılan agaroz, 1,6 gram miktarında tartılıp, 80 mL 1xTAE tamponunda eritilmiş ve karışım 50-55°C sıcaklığa geldikten sonra, içine 3 µL EtBr (3 mg/mL) eklenip elektroforez kasetine dökülerek soğutulmuştur. 20-30 dakika sonra polimerleşen jel, içinde 1xTAE tampon bulunan elektroforez tankına alınmış, elektroforez yükleme tamponu eklenerek polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ürünleri 5 µL miktarda agaroz jele uygulanmıştır. Agaroz jel elektroforezi yürütme tamponunun içeriği Çizelge 3.2.'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.2. Agaroz jel elektroforezi yürütme tamponunun içeriği

| <b>Yürütme Tamponu</b><br><b>(5 x/1 L, TAE tamponu, pH 8.0)</b> | <b>Miktar</b> | <b>Marka, Kod No.</b> |
|---|---------------|-----------------------|
| Tris- Base  | 242g          | Sigma, T8524          |
| Glasiyel Asetik Asit  | 57.1 ml       | Sigma, A9967          |
| 0.5 M EDTA pH 8.0   | 100 ml        | Sigma, E5134          |

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. *Enterococcus* suşlarının izolasyonu

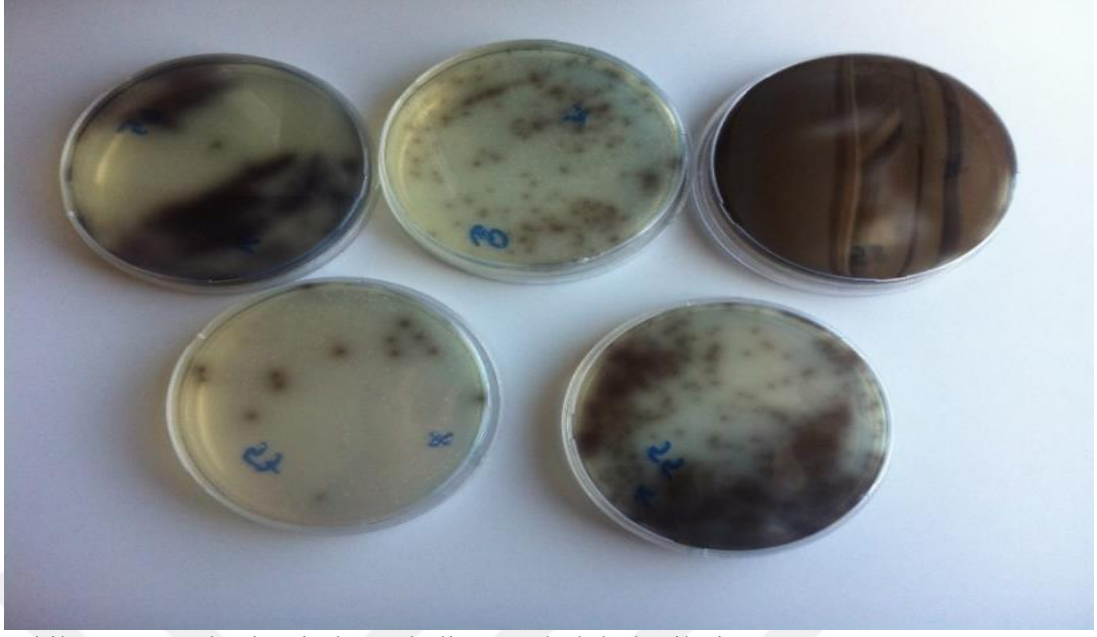
Çiğ (Hamsi, Sardalye, Barbun, İstavrit) ve işlenmiş (Ançuez, Lakerda, Midye içi) su ürünü örneklerinden enterokok izolasyonu amacıyla aseptik koşullarda her bir örnekten 10'ar gram tartılıp 90 mL steril seyreltme sıvısı eklenerek steril stomacher poşetlerinde homojen bir dilüsyon oluşturulmuştur. Çalışmada kullanılan bazı su ürünü örnekleri Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan bazı su ürünü örnekleri

Oluşturulan ileri dilüsyonlardan enterokoklar için selektif olan KAA besiyeri yüzeyine 100 µL aktarılarak Drigalski spatülü yardımıyla yayma ekimler yapılmış ve 37 °C'de 24-48 saat aralığında inkübasyona bırakılmıştır (Devriese ve ark. 1992).

İnkübasyon sonrası besiyerindeki eskulinin hidrolizi ve oluşan eskuletinin Fe<sup>+3</sup> ile oluşturduğu bileşik sonucu zeytin yeşili-siyah arası renklerde ve etrafı siyah zonlu koloniler enterokok şüpheli olarak değerlendirilmiş ve seçilen koloniler Brain Heart Infusion Agar besiyerinde saflaştırılmıştır (Baixas-Nogueras ve ark. 2003). İnkübasyon sonrası Kanamisin azide aesculin agar besiyerinde şüpheli enterokok kolonileri Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. KAA besiyerinde şüpheli enterokok kolonileri.

### **3.2.2. Enterokok izolatlarının cins düzeyinde tanımlanması**

#### **3.2.2.1. Morfolojik ve biyokimyasal testler**

##### **3.2.2.1.1. Gram boyama**

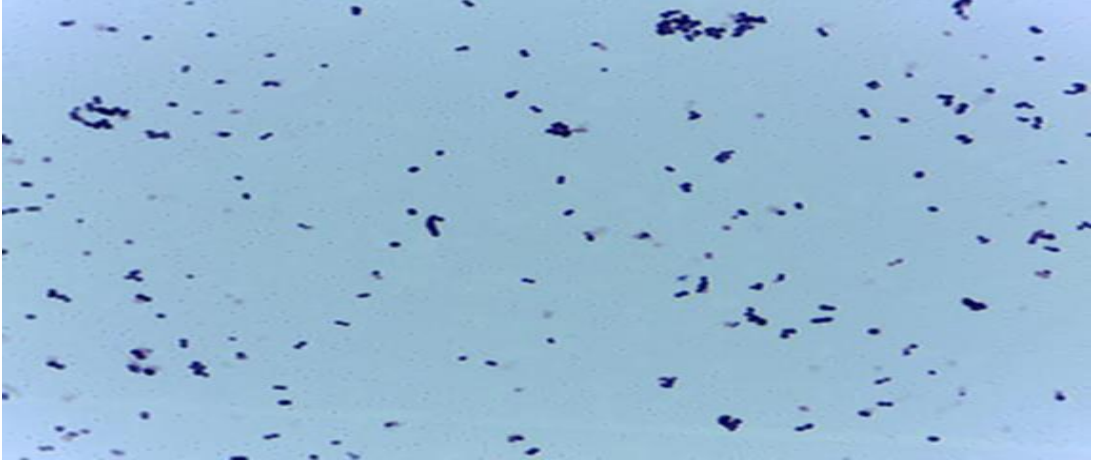
Gram boyama işlemi için, steril bir pastör pipeti yardımıyla sıvı kültürlerden bir damla lam üzerine aktarılmış ve ince bir tabaka elde edilecek şekilde yayılmıştır. Lam üzerinde preparatların tespit işlemi, bek alevi üzerine 2-3 kez geçirilerek gerçekleştirilmiş ve boyama işlemine başlamadan önce lamın soğuması beklenmiştir (Temiz 2014) .

Boyama işlemi prosedürü şu şekilde yürütülmüştür;

- Boyanmaya hazır sabitlenmiş lamlar bir boya standına yerleştirilmiştir.
- Kristal viyole solüsyonu lam üzerine konarak 30 saniye bekletilmiştir.
- Kristal viyole akıtılarak, lam hafif akan saf su altında yıkanmıştır.
- İyodin solüsyonu ile lam kaplanmış ve 30 saniye bekleme sonrasında hafif akan saf su altında yıkanmıştır.

- e. Renk giderme amacı ile alkol çözeltisi lam açılı bir şekilde tutularak hafifçe üzerine akıtılmış ve renk açılmaya başladığı an uygulama durdurulmuştur.
- f. Safranin lam üzerine kaplanmış ve 30 saniye bekletildikten sonra saf su ile yıkanmıştır.
- g. Lam üzerindeki su iyice süzülerek mikroskop altında incelenmeye hazır hale getirilmiştir. Seçilen kolonilerin morfolojileri boyanmış preparatlara bir damla immersiyon yağı damlatılarak 100X büyütme ile ışık mikroskobu altında incelenmiştir.

Enterokoklar mikroskop altında genellikle diplokok ya da kısa zincirler halinde görüntü verebilen Gram pozitif laktik asit bakterileridir. Şekil 3.3.' de boyaması gerçekleştirilmiş bir preparatın 100X büyütme ile ışık mikroskobu altında görünümü verilmiştir.



Şekil 3.3. Mikroskobik morfoloji.

#### **3.2.2.1.2. Katalaz testi**

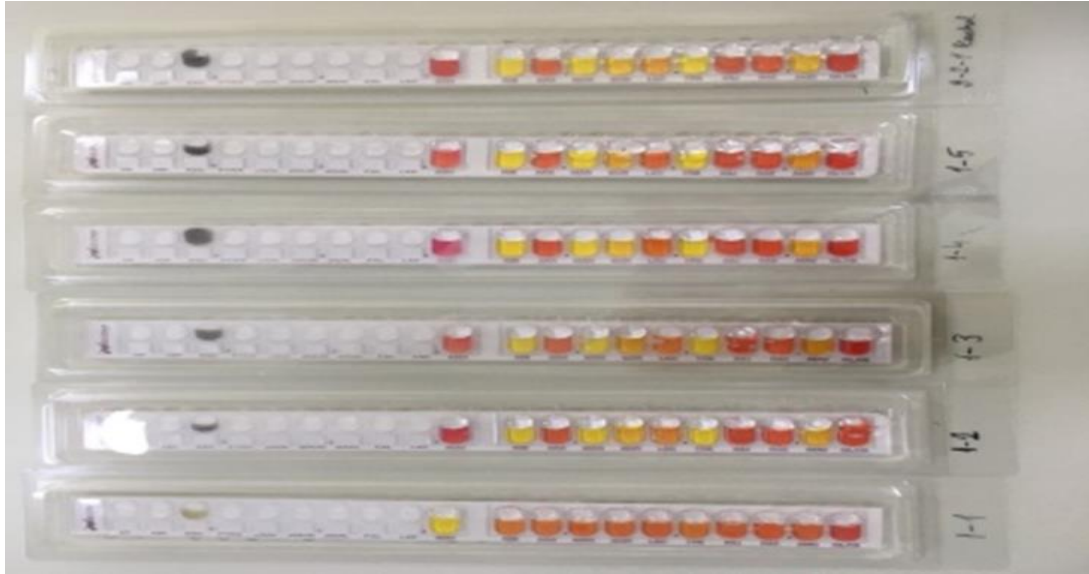
Katalaz testi için Brain Heart Infusion Agar besiyerinde 37°C'de 24 saat inkübasyon sonucu geliştirilen kolonilerin üzerine %30'luk hidrojen peroksit çözeltisi damlatılarak gaz oluşumu gözlemlenmiştir (Sinton ve ark. 1993, Harwood ve ark. 2004).

### 3.2.2.1.3. Hemolitik aktivite

İzolatların hemolitik aktivitelerinin tespiti amacıyla %5 koyun kanlı agar besiyerinde hemoliz testi gerçekleştirilmiştir. Bunun için ticari olarak (Spesera) elde edilen %5 koyun kanlı agar besiyerine 24 saatlik aktif kültürden koloniler ekilerek 37°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda petride meydana gelen değişimler incelenerek hemoliz oluşturma durumlarına göre  $\alpha$ ,  $\beta$ , ya da  $\gamma$  değerlendirilmiştir.

### 3.2.2.1.4. Enterokok izolatlarının tür düzeyinde doğrulanması

Gram pozitif, katalaz negatif, ve mikroskopik morfolojide diplokok ve/veya tetrad dizilimi görülen kok izolatları enterokok şüpheli olarak değerlendirilmiş ve tür düzeyinde tanımlama amacıyla API 20 Strep (Bio-Merieux, Fransa) biyokimyasal test kitleri kullanılmıştır. API sistemindeki biyokimyasal testler 4. ve 24. saatlerdeki renk değişimleri göz önüne alınarak pozitif veya negatif olarak belirlenmiştir. Sonuçlar API 20 Strep Software Database (V8.0) üzerinden değerlendirilmiş ve yüksek tanımlama yüzdelere (%90 ve üzeri) sahip olan toplamda 50 adet *Enterococcus* izolatı çalışmanın geri kalanında kullanılmak üzere seçilmiştir. Şekil 3.4.'te API 20 strep biyokimyasal test kitleri gösterilmiştir.



Şekil 3.4. API 20 Strep Biyokimyasal Test Kiti

### **3.2.3. Kùltürlerin muhafazası**

Elde edilen saf kùltürler gerektiğinde kullanılmak üzere %30'luk steril gliserol çözeltisi içinde -20 °C' de muhafaza edilmiştir.

### **3.2.4. Enterokok izolatlarının antibiyotik direnç özelliklerinin belirlenmesi**

Çiğ ve işlenmiş su ürünlerinden izole edilen enterokok suşları kazanılmış direnç geliştirebildikleri streptomisin (10 µg), tetrasiklin (30 µg), gentamisin (10 µg), vankomisin (30 µg), eritromisin (15 µg), kloramfenikol (30 µg) antibiyotiklerine karşı dirençliliklerinin belirlenmesi amacıyla Müller Hinton Agar (MHA) besiyerinde disk difüzyon yönteminden yararlanılarak değerlendirilmiştir.

Antibiyotiklere direnç özellikleri belirlenecek izolatlar Brain Hearth Infusion broth (BHIB) besiyerinde 24 saat süresince inkübe edilerek aktifleştirilmiştir. Aktif kùltürler 0.5 McFarland standart bulanıklığında süspansiyon haline getirilmiştir. 0,5 McFarland standart bulanıklığındaki süspansiyon steril eküvyon yardımıyla Mueller Hinton Agar (MHA) besiyeri üzerine yayma ekim yöntemi kullanılarak yayılmış ve ardından dispenser yardımıyla antibiyotik diskler yerleştirilmiştir. 24 saatlik inkübasyon sonrası inhibisyon zonları ölçülerek sonuçlar izolatlara ait zon çapları Charteris ve ark. (1998), Anonim (2006) ve Savaşan ve ark (2008)'da yer alan sınır değerleri temel alınarak dirençlilik ya da duyarlılık yönüyle değerlendirilmiştir. Enterokoklar için referans alınan zon çapları Çizelge 3.3' te belirtilmiştir. MHA besiyerinde inkübasyon sonrası antibiyotik disk çevresinde oluşan zon görünümü Şekil 3.5.'te gösterilmiştir. (Charteris ve ark. 1998, Aslım ve Beyatlı 2004, Martin ve ark. 2005, Reviriego ve ark. 2005, Anonim, 2006, Savaşan ve ark. 2008).

Ayrıca bu çalışma kapsamında izolatların çoklu antibiyotik dirençliliği (MAR/ Multiple Antibiotic Resistance) indeksi belirlenmiştir. İzolatların çoklu antibiyotik dirençlilik indeksi, her izolatın dirençli olduğu antibiyotik sayısının, test edilen toplam antibiyotik sayısına bölünmesi sonucu hesaplanmıştır (El Shafay ve ark. 2016).



Çizelge 3.3. Enterokoklar için referans alınan zon çapları (Charteris ve ark. 1998, Anonim 2006, Savaşan ve ark. 2008).

| <b>Zon Çapı(mm)</b>  |   |                      |                      |                      |
|--|---|----------------------|----------------------|----------------------|
| <b>Antibiyotik</b>   | <b>Antibiyotik<br/>Konsantrasyonu<br/>(µg)</b>                  | <b>R<sup>a</sup></b> | <b>I<sup>b</sup></b> | <b>S<sup>c</sup></b> |
| <b>Kloramfenikol</b>   | 30  | ≤12                  | 13-17                | ≥18                  |
| <b>Vankomisin</b>  | 30  | ≤14                  | 15-16                | ≥17                  |
| <b>Eritromisin</b>   | 15  | ≤13                  | 14-22                | ≥23                  |
| <b>Tetrasiklin</b>   | 30  | ≤14                  | 15-18                | ≥19                  |
| <b>Gentamisin</b>  | 10  | ≤12                  | -                    | ≥13                  |
| <b>Streptomisin</b>  | 10  | ≤11                  | 12-14                | ≥15                  |
| <b>a,b,c**</b>   | <b>R:Dirençli I: Orta duyarlı (Ara seviye direnç) S=Duyarlı</b> |                      |                      |                      |
| <b>Not:</b> Gentamisin için Charteris ve ark. 1998, Streptomisin, tetrasiklin, eritromisin için Savaşan ve ark. 2008, test edilen diğer antibiyotikler için Anonim (CLSI) 2006 referans olarak alınmıştır. |   |                      |                      |                      |



Şekil 3.5. MHA besiyerinde antibiyotik disk çevresinde oluşan zon görünümü.

### 3.2.5. Enterokok izolatlarının vankomisin direnç genlerini (*vanA* ve *vanB*) taşıma potansiyellerinin değerlendirilmesi

#### 3.2.5.1. Enterokok izolatlarından toplam DNA izolasyonu

Enterokok izolatlarından vankomisin direnç genleri (*vanA* ve *vanB*) ve virülens genlerini taşıma potansiyellerinin araştırılması amacıyla toplam DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, izolatlara uygulanan tüm moleküler biyolojik çalışmalar için gerekli olan bakteriyel genomik DNA, DNA izolasyon kiti GeneJET Genomic DNA Purification Kit (K0721, Thermo Scientific) kullanılarak elde edilmiştir.

#### 3.2.5.2. Enterokok izolatlarında *vanA* ve *vanB* genlerinin araştırılması

Vankomisine direnç genleri olan *vanA* ve *vanB*'nin varlığının araştırılması amacıyla polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) gerçekleştirilmiştir. *vanA* primerleri için 732-bp ürün boyutuna sahip VanA1 [5'-GGG AAA ACG ACA ATT GC-3'] ve VanA2 [5'-GTA CAA TGC GGC CGT TA-3'] primerleri kullanılmıştır. *vanB* primerleri için 1145-bp'lik ürün boyutuna sahip VanB [5'-GTG CTG CGA GAT ACC ACA GA-3'] ve VanBrev [5'-CGA ACA CCA TGC AAC ATT TC-3'] primerleri kullanılmıştır.

(Reviriego ve ark 2005). *vanA* ve *vanB* için kullanılan primerler, PZR bileşenleri ve PZR programı Çizelge 3.4-3.6. ' da gösterilmiştir.

Çizelge 3.4. Polimeraz zincir reaksiyonlarında (PZR) *vanA* ve *vanB* için kullanılan primerler.

| <b>Gen adı</b> | <b>Primer Dizisi</b>   | <b>PZR ürün boyutu (bp)</b> |
|----------------|--|-----------------------------|
| <i>VanA</i>    | F-5' GTA CAA TGC GGC CGT TA<br>R-5' GGG ACA GTT ACA ATT GC         | 732                         |
| <i>VanB</i>    | F-5' GTG CTG CGA GAT ACC ACA GA<br>R-5' CGA ACA CCA TGC AAC ATT TC | 1145                        |

Çizelge 3.5. *vanA* ve *vanB* genlerini çoğaltmak amacıyla uygulanan PZR bileşenleri.

| PCR Bileşenleri                        | µL/ Tüp     |             | Son konsantrasyon |
|--|-------------|-------------|-------------------|
|  | <i>vanA</i> | <i>vanB</i> |                   |
| <b>Steril bidistile H<sub>2</sub>O</b> | 19          | 18,5        | --                |
| <b>10X Buffer</b>                      | 2,5         | 2,5         | 1X                |
| <b>MgCl<sub>2</sub> (25mM)</b>         | 1           | 1.5         | 1-1.5 mM          |
| <b>dNTP (25mM)</b>                     | 0,3         | 0,3         | 0.3 mM            |
| <b>Primer1 (10 pmol / µL)</b>          | 0,5         | 0,5         | 10mM / 25 µL      |
| <b>Primer2 (10pmol / µL)</b>           | 0,5         | 0,5         | 10mM / 25 µL      |
| <b>Taq Polimeraz (5U / µL)</b>         | 0,2         | 0,2         | 1U / 25 µL        |
| <b>DNA (150 ng / µL)</b>               | 1,0         | 1.,0        | 150 ng / 25 µL    |
| <b>Toplam Hacim</b>                    | 25.0        |             |                   |

Çizelge 3.6. *vanA* ve *vanB* genlerinin çoğaltılmasında uygulanan PZR programı.

| Program Türü     | Derece (°C) | Zaman (sn) | Döngü Sayısı |
|------------------|-------------|------------|--------------|
| İlk Denatürasyon | 95          | 120        | -            |
| Denatürasyon     | 94          | 30         | 35           |
| Bağlanma         | 54          | 30         |              |
| Uzatma           | 72          | 45         |              |
| Son Uzatma       | 72          | 300        | --           |
| Bekleme          | 10          | 600        | --           |

### 3.2.6. Enterokok izolatlarının virülens gen taşıma potansiyellerinin değerlendirilmesi

Enterokok izolatlarında virülens genlerinin araştırılması amacıyla tez çalışmasının 3.2.5.1. numaralı yöntem kısmında belirtildiği şekilde elde edilen toplam DNA materyali kullanılmıştır. İzolatların virülens genleri (*agg*, *gelE*, *cylA*, *cyLB*, *cyIM*) taşıma potansiyelleri Reviriego ve ark. (2005) tarafından uygulanan polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) protokolü kullanılarak belirlenmiştir (Eaton ve Gasson 2001, Reviriego ve ark. 2005) *E. faecalis* NCIMB 700584 ( National Collection of Industrial, Marine, and Food Bacteria, UK) virülens genler için pozitif kontrol suşu olarak kullanılmıştır. Kullanılan primerler ve uygulanan PZR protokolleri aşağıda verilen çizelgelerde (Çizelge 3.7- Çizelge 3.11) belirtilmiştir.

Çizelge 3.7. İzolatlara uygulanan PZR reaksiyonlarında kullanılan primerler.

| Gen adı     | Primer Dizisi  | PZR ürün boyutu (bp) |
|-------------|--|----------------------|
| <i>agg2</i> | F-5' GTT GTT TTA GCA ATG GGG TAT<br>R-5' TCC TGT CAC TCC TCT TCT CAG   | 1210                 |
| <i>gelE</i> | F-5' ACC CCG TAT CAT TGG TTT<br>R-5' ACG CAT TGC TTT TCC ATC           | 419                  |
| <i>cylA</i> | F-5' AAT CCT ATC GGT TAC TGC TTA<br>R-5' AGC ATC ACA ACC ATC CTA AC    | 517                  |
| <i>cylB</i> | F-5' TGG AAG CAT TAC TTC CAG CT<br>R-5' AAC TGC AAC CTC AAG ATT GG     | 843                  |
| <i>cylM</i> | F-5' TGC TTC TCC ACT GTG ACC T<br>R-5' ATC TAG TAA ATG TTA AGA AAT ACA | 742                  |

Çizelge 3.8. Virülens genlerini (*agg2*, *gelE*, *cylA*, *cylB*, *cylM*) çoğaltmak amacı ile uygulanan PZR bileşenleri.

| PCR Bileşenleri                   | µL/ Tüp     | Son konsantrasyon |
|-----------------------------------|-------------|-------------------|
| Steril bidistile H <sub>2</sub> O | 18          | --                |
| 10X Buffer                        | 2,5         | 1X                |
| MgCl <sub>2</sub> (25mM)          | 2           | 2 mM              |
| dNTP (25mM)                       | 0,3         | 0,3 mM            |
| Primer1 (10 pmol/µL)              | 0,5         | 10mM/25 µL        |
| Primer2 (10pmol/µL)               | 0,5         | 10mM/25 µL        |
| Taq Polimeraz (5U/µL)             | 0.2         | 1U / 25 µL        |
| DNA (150 ng / µL)                 | 1,0         | 150 ng / 25 µL    |
| <b>Toplam Hacim</b>               | <b>25,0</b> |                   |

Çizelge 3.9. *agg2*, *cylA*, *cylB*, *cylM* genlerinin çoğaltılmasında uygulanan PZR programı.

| Program Türü     | Derece (°C) | Zaman (sn) | Döngü Sayısı |
|------------------|-------------|------------|--------------|
| İlk Denatürasyon | 95          | 120        | -            |
| Denatürasyon     | 94          | 30         | 35           |
| Bağlanma         | 54          | 30         |              |
| Uzatma           | 72          | 45         |              |
| Son Uzatma       | 72          | 300        | --           |
| Bekleme          | 10          | 600        | --           |

Çizelge 3.10. *gelE* geninin çoğaltılmasında uygulanan PZR programı.

| Program Türü     | Derece (°C) | Zaman (sn) | Döngü Sayısı |
|------------------|-------------|------------|--------------|
| İlk Denatürasyon | 95          | 120        | -            |
| Denatürasyon     | 94          | 30         | 35           |
| Bağlanma         | 53          | 30         |              |
| Uzatma           | 72          | 45         |              |
| Son Uzatma       | 72          | 300        | --           |
| Bekleme          | 10          | 600        | --           |

Çizelge 3.11. Optimizasyonu yapılan bölgeler için PZR koşulları.

| Gen Adı     | Bağlanma Sıcaklığı (°C) | [MgCl <sub>2</sub> ] |
|-------------|-------------------------|----------------------|
| <i>agg2</i> | 54                      | 2 mM                 |
| <i>GelE</i> | 53                      | 2 mM                 |
| <i>CylA</i> | 54                      | 2 mM                 |
| <i>CylB</i> | 54                      | 2 mM                 |
| <i>CylM</i> | 54                      | 2 mM                 |
| <i>VanA</i> | 54                      | 1 mM                 |
| <i>VanB</i> | 54                      | 1.5 mM               |

### 3.2.7. DNA izolatlarının agaroz jel elektroforezi

Enterokok izolatlarında vankomisin direnç genleri ve virülens genlerinin aranması amacıyla izole edilen DNA'ların ve PZR ürünlerinin varlığı, % 2'lik agaroz jel elektroforezi kullanılarak kontrol edilmiştir. Örnekler 120 V'da 25-30 dakika yürütülmüş ve oluşan bantlar UV ışık altında kontrol edilmiştir.



#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışma kapsamında İstanbul, Çanakkale ve Bursa balık halinden temin edilen çiğ (Sardalye, İstavrit, Barbun, Hamsi) ve süpermarket ile şarküterilerden temin edilen işlenmiş (Ançuez, Lakerda, Midye içi) su ürünü örneklerinden enterokok izolasyonu gerçekleştirilmiş ve toplamda 50 adet izolat gıda güvenliği yönüyle değerlendirilmesi amacıyla seçilmiştir.

##### 4.1. Su Ürünlerinden Elde Edilen Enterokok İzolatlarının Tür Düzeyinde Dağılımları

Çalışma kapsamında enterokok şüpheli olarak değerlendirilen 66 adet izolata cins düzeyinde doğrulama ve API 20 Strep biyokimyasal test kiti uygulanmış ve *Enterococcus* cinsine ait olduğu belirlenen %90 ve üzerinde tanımlama yüzdesine sahip 50 adet izolat gıda güvenliği yönüyle değerlendirilmek amacıyla seçilmiştir.

Su ürünlerinden elde edilen ve tanımlanması gerçekleştirilen izolatlarda en fazla *E. faecalis* türünün izole edildiği, bunu sırasıyla *E. faecium*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* ve *E. durans* türlerinin takip ettiği belirlenmiştir. Enterokok izolatlarının elde edildiği örnekler ve API-20 strep biyokimyasal test kitleri sonucu tür düzeyinde tanımlama sonuçları Çizelge 4.1.' de belirtilmiştir.

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan enterokok izolatlarının elde edildiği örnekler ve tanımlama sonuçları

| Sıra No | İzolat No | Örnek    | Tanımlanan Tür     |
|---------|-----------|----------|--------------------|
| 1       | 1-2       | Sardalye | <i>E. faecalis</i> |
| 2       | 1-3       | Sardalye | <i>E. faecalis</i> |
| 3       | 1-4       | Sardalye | <i>E. faecalis</i> |
| 4       | 1-5       | Sardalye | <i>E. faecalis</i> |
| 5       | 2-1       | İstavrit | <i>E. faecalis</i> |
| 6       | 2-2       | İstavrit | <i>E. faecalis</i> |
| 7       | 2-3       | İstavrit | <i>E. faecalis</i> |
| 8       | 2-4       | İstavrit | <i>E. faecalis</i> |
| 9       | 2-5       | İstavrit | <i>E. faecalis</i> |
| 10      | 3-1       | Barbun   | <i>E. faecalis</i> |
| 11      | 3-2       | Barbun   | <i>E. faecalis</i> |
| 12      | 3-3       | Barbun   | <i>E. faecalis</i> |
| 13      | 3-4       | Barbun   | <i>E. faecium</i>  |
| 14      | 3-5       | Barbun   | <i>E. faecalis</i> |
| 15      | 4-1       | Hamsi    | <i>E. faecalis</i> |
| 16      | 4-2       | Hamsi    | <i>E. faecalis</i> |
| 17      | 5-2       | Sardalye | <i>E. faecalis</i> |
| 18      | 5-3       | Sardalye | <i>E. faecalis</i> |
| 19      | 5-4       | Sardalye | <i>E. faecium</i>  |

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan enterokok izolatlarının elde edildiği örnekler ve tanımlama sonuçları (devam)

|           |      |          |                         |
|-----------|------|----------|-------------------------|
| <b>20</b> | 6-1  | İstavrit | <i>E. faecium</i>       |
| <b>21</b> | 6-4  | İstavrit | <i>E. faecium</i>       |
| <b>22</b> | 6-5  | İstavrit | <i>E. faecium</i>       |
| <b>23</b> | 6-6  | İstavrit | <i>E. faecalis</i>      |
| <b>24</b> | 7-1  | Barbun   | <i>E. faecalis</i>      |
| <b>25</b> | 7-2  | Barbun   | <i>E. faecalis</i>      |
| <b>26</b> | 7-3  | Barbun   | <i>E. faecalis</i>      |
| <b>27</b> | 7-4  | Barbun   | <i>E. faecalis</i>      |
| <b>28</b> | 8-1  | Hamsi    | <i>E. faecalis</i>      |
| <b>29</b> | 8-2  | Hamsi    | <i>E. faecalis</i>      |
| <b>30</b> | 8-3  | Hamsi    | <i>E. faecalis</i>      |
| <b>31</b> | 8-4  | Hamsi    | <i>E. faecium</i>       |
| <b>32</b> | 8-5  | Hamsi    | <i>E. faecalis</i>      |
| <b>33</b> | 8-6  | Hamsi    | <i>E. faecalis</i>      |
| <b>34</b> | 77-1 | Ançuez   | <i>E. casseliflavus</i> |
| <b>35</b> | 77-2 | Ançuez   | <i>E. casseliflavus</i> |
| <b>36</b> | 77-3 | Ançuez   | <i>E. casseliflavus</i> |
| <b>37</b> | 77-4 | Ançuez   | <i>E. casseliflavus</i> |
| <b>38</b> | 78-1 | Lakerda  | <i>E. gallinarum</i>    |
| <b>39</b> | 78-2 | Lakerda  | <i>E. gallinarum</i>    |
| <b>40</b> | 80-1 | Lakerda  | <i>E. gallinarum</i>    |

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan enterokok izolatlarının elde edildiği örnekler ve tanımlama sonuçları (devam)

|    |         |           |                         |
|----|---------|-----------|-------------------------|
| 41 | 80-3    | Lakerda   | <i>E. durans</i>        |
| 42 | 80-4    | Lakerda   | <i>E. durans</i>        |
| 43 | 4-2-3   | Lakerda   | <i>E. durans</i>        |
| 44 | 1-0-2-2 | Lakerda   | <i>E. faecium</i>       |
| 45 | TSM-59  | Midye içi | <i>E. gallinarum</i>    |
| 46 | 174-1   | Midye içi | <i>E. gallinarum</i>    |
| 47 | 174-2   | Midye içi | <i>E. gallinarum</i>    |
| 48 | 174-3   | Midye içi | <i>E. gallinarum</i>    |
| 49 | 174-4   | Midye içi | <i>E. casseliflavus</i> |
| 50 | 175-1   | Midye içi | <i>E. casseliflavus</i> |

Çiğ ve işlenmiş su ürünü örneklerinden elde edilen toplam 50 adet izolatın %18'i (9/50) istavrit ve barbun, %16'sı (8/50) hamsi, %14'ü (7/50) sardalya ve lakerda, %12'si (6/50) midye içi, %8'i (4/50) ise ançuez örneklerinden elde edilmiştir. İzolatların analiz edilen örneklere göre dağılımları Çizelge 4.2 'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. İzolatların örneklere göre dağılımları.

| Örnek     | İzolat Sayısı | %  |
|-----------|---------------|----|
| İstavrit  | 9             | 18 |
| Barbun    | 9             | 18 |
| Hamsi     | 8             | 16 |
| Lakerda   | 7             | 14 |
| Sardalya  | 7             | 14 |
| Midye içi | 6             | 12 |
| Ançuez    | 4             | 8  |

Bu tez çalışması kapsamında su ürünü örneklerinden elde edilen izolatların tür düzeyinde tanımlama sonuçlarına göre çiğ su ürünlerinde *E. faecalis* baskın mikroflorayı oluştururken bunu *E. faecium* takip etmektedir. İşlenmiş su ürünlerinde benzer sayılarda *E. casseliflavus*, *E. gallinarum* ve *E. durans* varlığı saptanmıştır. Enterokok izolatlarının tür düzeyinde tanımlama sonuçlarına göre olan dağılımları Çizelge 4.3.' te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Tür düzeyinde tanımlama sonuçlarına göre enterokokların dağılımları.

| <b>Tür</b>              | <b>İzolasyon Sayısı</b> | <b>% Oran</b> | <b>Toplam İzolat</b> |
|-------------------------|-------------------------|---------------|----------------------|
| <i>E. faecalis</i>      | 27                      | %54           | 50                   |
| <i>E. faecium</i>       | 7                       | %14           |                      |
| <i>E. gallinarum</i>    | 7                       | %14           |                      |
| <i>E. casseliflavus</i> | 6                       | %12           |                      |
| <i>E. durans</i>        | 3                       | %6            |                      |

Enterokokların çevre, klinik ve çeşitli gıda örneklerinden (peynir, et, vb.) izolasyonu ve karakterizasyonu ile ilgili pek çok çalışma bulunmasına karşın, su ürünlerinde enterokok florasının araştırıldığı sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Hammad ve ark. 2014,2015, Chajeka-Wierzchowska ve ark. 2016, Rehaïem ve ark. 2016, Kürekçi ve ark. 2016, Ben Said ve ark. 2017).

Ben Said ve ark. (2017) tarafından su ürünü örneklerinden izole edilen *Enterococcus* suşlarının izolasyonunun gerçekleştirildiği bir çalışmada *E. faecalis* suşunun en yaygın olarak izole edildiği ve sırasıyla *E. faecium*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. hirae*, *E.*

*gallinarum* ve *E. mundtii*'nin izole edilen diğer suşlar olduğu bildirilmiştir. Wierzchowska ve ark. (2016) tarafından gerçekleştirilen farklı bir çalışmada ise karideslerden izole edilen enterokok izolatlarında da *E. faecalis*'in en baskın tür olduğu, bunu *E. faecium*' un takip ettiği belirtilmiştir. Hammad ve ark. (2014) tüketime hazır balıklardan elde ettikleri enterokoklarda *E. faecalis* suşunun en yaygın olarak izole edildiğini bunu sırasıyla *E. faecium*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum* , *E. phoeniculicola*, *E. raffinosus*, *E. saccharolyticus* ve *E. gilvus* olduğunu bildirmişlerdir Son yıllarda su ürünlerinden izole edilen enterokokların yaygınlığının incelendiği bu çalışmalar göz önüne alındığında *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinin en yaygın olarak tespit edildiği belirtilmiştir. Bunun yanı sıra; *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. durans* gibi farklı enterokok türlerinin de su ürünlerinden izole edildiği bildirilmiştir. Ben Said ve ark. (2017) su ürünlerinde enterokokların yaygınlık ve tür farklılıklarının çevresel koşullar ve balık çiftliklerinin mikrobiyal kalitesi ile açıklanabileceğini bildirmişlerdir.

Son dönemlerde gerçekleştirilen su ürünü kaynaklı olmayan çeşitli çalışmalarda da *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinin en yaygın olarak izole edilen türler olduğu belirtilmiştir. Bu bağlamda *E. faecalis* ve *E. faecium*'un gıdalardan izole edilen enterokoklarda genel olarak baskın mikroflorayı oluşturabileceği düşünülmüştür. Rehaïem ve ark. (2016) tarafından Tunus'taki fermente gıdalardan (süt, peynir, yeşil zeytin ve sebzeler) enterokokların izolasyonunun gerçekleştirildiği bir çalışmada *E. faecium*'un en yaygın olan tür olarak belirlendiğini bunu *E. faecalis*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. mundtii*'nin takip ettiği bildirilmiştir. Hammad ve ark. (2015) Mısır'daki peynirlerden en çok *E. faecium* suşunu izole ettiklerini bunu ise *E. faecalis* suşunun takip ettiğini belirtmişlerdir. Kürekçi ve ark. (2016) Türkiye'deki peynirlerden izole ettikleri enterokoklarda ise en fazla *E. faecalis* suşlarına rastladıklarını bunu *E. faecium*, *E. gallinarum*, *E. durans*, *E. casseliflavus* ve *E. avium*'un takip ettiğini bildirmişlerdir

#### **4.2. Su Ürünlerinden Elde Edilen Enterokok İzolatlarının Antibiyotik Direnç Profilleri**

Bu çalışma kapsamında izolasyonu gerçekleştirilen enterokoklar gıda güvenliği açısından önem teşkil eden antibiyotik dirençlilik durumlarına göre değerlendirilmiştir.

Antibiyotik dirençlilik durumları değerlendirilirken kazanılmış direnç geliştirebildikleri streptomisin (10 µg), tetrasiklin (30 µg), gentamisin (10 µg), vankomisin (30 µg), eritromisin (15 µg), kloramfenikol (30 µg) antibiyotiklerine karşı dirençlilik profilleri Çizelge 4.4.' te belirtilmiştir.





Çizelge 4.4. İzolatların antibiyotik dirençlilik profilleri.

| İzolat No | Kaynak   | Tür                | S*<br>(10<br>µg) | Te*<br>(30<br>µg) | Ge*<br>(10<br>µg) | Va*<br>(30<br>µg) | E*<br>(15<br>µg) | C*<br>(30<br>µg) |
|-----------|----------|--------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|
| 1-2       | Sardalye | <i>E. faecalis</i> | R                | S                 | R                 | I                 | I                | S                |
| 1-3       | Sardalye | <i>E. faecalis</i> | R                | I                 | R                 | R                 | R                | S                |
| 1-4       | Sardalye | <i>E. faecalis</i> | R                | S                 | R                 | R                 | I                | S                |
| 1-5       | Sardalye | <i>E. faecalis</i> | R                | S                 | R                 | I                 | I                | S                |
| 2-1       | İstavrit | <i>E. faecalis</i> | R                | I                 | R                 | R                 | I                | R                |
| 2-2       | İstavrit | <i>E. faecalis</i> | R                | S                 | R                 | I                 | I                | I                |
| 2-3       | İstavrit | <i>E. faecalis</i> | R                | S                 | R                 | R                 | I                | S                |
| 2-4       | İstavrit | <i>E. faecalis</i> | R                | S                 | R                 | R                 | I                | S                |
| 2-5       | İstavrit | <i>E. faecalis</i> | R                | S                 | R                 | R                 | I                | S                |
| 3-1       | Barbun   | <i>E. faecalis</i> | R                | S                 | R                 | I                 | I                | S                |
| 3-2       | Barbun   | <i>E. faecalis</i> | R                | S                 | S                 | S                 | I                | S                |
| 3-3       | Barbun   | <i>E. faecalis</i> | R                | S                 | R                 | I                 | I                | S                |
| 3-4       | Barbun   | <i>E. faecium</i>  | R                | I                 | R                 | R                 | I                | I                |
| 3-5       | Barbun   | <i>E. faecalis</i> | R                | S                 | R                 | R                 | I                | S                |
| 4-1       | Hamsi    | <i>E. faecalis</i> | R                | S                 | R                 | R                 | I                | S                |
| 4-2       | Hamsi    | <i>E. faecalis</i> | R                | S                 | R                 | R                 | I                | S                |
| 5-2       | Sardalye | <i>E. faecalis</i> | R                | I                 | R                 | I                 | I                | S                |
| 5-3       | Sardalye | <i>E. faecalis</i> | R                | S                 | R                 | I                 | I                | S                |

Çizelge 4.4. İzolatların antibiyotik dirençlilik profilleri (devam)

|      |          |                         |   |   |   |   |   |   |
|------|----------|-------------------------|---|---|---|---|---|---|
| 5-4  | Sardalye | <i>E. faecium</i>       | R | S | R | S | I | S |
| 6-1  | İstavrit | <i>E. faecium</i>       | R | S | R | I | I | S |
| 6-4  | İstavrit | <i>E. faecium</i>       | R | I | R | R | I | S |
| 6-5  | İstavrit | <i>E. faecium</i>       | R | S | R | R | I | S |
| 6-6  | İstavrit | <i>E. faecalis</i>      | R | S | R | I | I | S |
| 7-1  | Barbun   | <i>E. faecalis</i>      | R | S | S | S | I | S |
| 7-2  | Barbun   | <i>E. faecalis</i>      | R | S | S | S | I | S |
| 7-3  | Barbun   | <i>E. faecalis</i>      | R | R | R | I | I | S |
| 7-4  | Barbun   | <i>E. faecalis</i>      | R | I | R | R | I | S |
| 8-1  | Hamsi    | <i>E. faecalis</i>      | R | S | R | I | I | S |
| 8-2  | Hamsi    | <i>E. faecalis</i>      | R | S | R | I | I | S |
| 8-3  | Hamsi    | <i>E. faecalis</i>      | R | S | R | R | I | S |
| 8-4  | Hamsi    | <i>E. faecium</i>       | R | S | R | I | I | S |
| 8-5  | Hamsi    | <i>E. faecalis</i>      | R | S | R | I | I | S |
| 8-6  | Hamsi    | <i>E. faecalis</i>      | R | S | R | I | I | S |
| 77-1 | Ançuez   | <i>E. casseliflavus</i> | R | R | R | S | I | R |
| 77-2 | Ançuez   | <i>E. casseliflavus</i> | R | R | R | S | I | S |
| 77-3 | Ançuez   | <i>E. casseliflavus</i> | R | R | R | S | R | S |

Çizelge 4.4. İzolatların antibiyotik dirençlilik profilleri (devam)

|         |           |                         |   |   |   |   |   |   |
|---------|-----------|-------------------------|---|---|---|---|---|---|
| 77-4    | Ançuez    | <i>E. casseliflavus</i> | R | R | R | S | R | R |
| 78-1    | Lakerda   | <i>E. gallinarum</i>    | R | S | S | S | S | S |
| 78-2    | Lakerda   | <i>E. gallinarum</i>    | R | R | R | R | R | R |
| 80-1    | Lakerda   | <i>E. gallinarum</i>    | R | R | R | S | R | R |
| 80-3    | Lakerda   | <i>E. durans</i>        | R | R | S | S | R | R |
| 80-4    | Lakerda   | <i>E. durans</i>        | R | R | S | S | I | S |
| 4-2-3   | Lakerda   | <i>E. durans</i>        | R | I | S | S | I | S |
| 1-0-2-2 | Lakerda   | <i>E. faecium</i>       | R | R | S | S | R | R |
| TSM-59  | Midye içi | <i>E. gallinarum</i>    | I | S | S | S | S | S |
| 174-1   | Midye içi | <i>E. gallinarum</i>    | R | R | S | S | R | R |
| 174-2   | Midye içi | <i>E. gallinarum</i>    | R | R | R | S | R | R |
| 174-3   | Midye içi | <i>E. gallinarum</i>    | R | R | R | S | R | R |
| 174-4   | Midye içi | <i>E. casseliflavus</i> | R | R | R | S | R | R |
| 175-1   | Midye içi | <i>E. casseliflavus</i> | R | R | R | S | R | R |

R: Dirençli I: Orta duyarlı (Ara seviye direnç) S: Duyarlı S\*: Streptomisin Te\*: Tetrasiklin Ge\*: Gentamisin Va\*: Vankomisin E\*: Eritromisin C\*: Kloramfenikol

Antibiyotik dirençlilik profilleri incelendiğinde izolatların %98'lik (49/50) bölümünün streptomisine karşı dirençli olduğu saptanmıştır. İzolatların %80'inin (40/50) gentamisin, %30'unun (15/50) tetrasiklin ve vankomisin, %24'ünün (12/50) ise eritromisin ve kloramfenikol antibiyotiklerine karşı yüksek seviyede direnç gösterdiği tespit edilmiştir. İzolatların %72'sinin (36/50) eritromisin, %30'unun (15/50) ise vankomisin antibiyotiğine karşı ara seviyede dirençlilik gösterdiği belirlenmiştir. İzolatların %98'inin (49/50) test edilen antibiyotiklerin en az bir tanesine karşı yüksek seviye direnç gösterdiği belirlenmiştir. Çoklu antibiyotik dirençlilik özellikleri incelendiğinde, izolatların %88'inin (44/50) en az iki farklı antibiyotiğe karşı yüksek seviye direnç gösterdiği tespit edilmiştir. İzolatların test edilen antibiyotiklere karşı yüzdesel dirençlilik profilleri Çizelge 4.5.' te gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. İzolatların test edilen antibiyotiklere karşı yüzdesel dirençlilik profilleri.

| <b>Antibiyotikler</b> | <b>Dirençli<br/>Sayı // %Oran</b> | <b>Orta Duyarlı(Ara Seviye<br/>Direnç)<br/>Sayı // %Oran</b> | <b>Duyarlı<br/>Sayı // %Oran</b> |
|-----------------------|-----------------------------------|--|----------------------------------|
| <b>Streptomisin</b>   | 49// 98                           | 1 // 2   | 0 // --                          |
| <b>Tetrasiklin</b>    | 15 // 30                          | 7 // 14  | 28 // 56                         |
| <b>Gentamisin</b>     | 40 // 80                          | 10 // 20   | 0 // --                          |
| <b>Vankomisin</b>     | 15 // 30                          | 15 // 30   | 20 // 40                         |
| <b>Eritromisin</b>    | 12 // 24                          | 36// 72  | 2 // 4                           |
| <b>Kloramfenikol</b>  | 12 // 24                          | 2 // 4   | 36 // 72                         |

Çalışma kapsamında çiğ ve işlenmiş su ürünü örneklerinden en fazla izole edilen *E. faecalis* izolatlarının gentamisin ve vankomisin antibiyotiğine karşı yüksek seviye direnç gösterdiği, tetrasiklin, eritromisin ve kloramfenikol antibiyotiklerine karşı ise duyarlılık ya da ara seviye direnç gösterdiği belirlenmiştir. Lakerda'dan izole edilen 78-2 numaralı *E. casseliflavus* izolatının test edilen tüm antibiyotiklere karşı yüksek seviye dirençlilik gösterdiği tespit edilmiştir. Tür bazında izolatların test edilen antibiyotiklere karşı olan dirençlilik yüzde dağılımları Çizelge 4.6.'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. Tür bazında izolatların test edilen antibiyotiklere karşı dirençlilik dağılım profilleri.

| <b>Tür</b>   | <b>S*</b><br>(10 µg) | <b>Te*</b><br>(30 µg)         | <b>Ge*</b><br>(10 µg) | <b>Va*</b><br>(30 µg)         | <b>E*</b><br>(15 µg) | <b>C*</b><br>(30 µg)          |
|--|----------------------|-------------------------------|-----------------------|-------------------------------|----------------------|-------------------------------|
| <i>E. faecalis</i><br>(27 adet)                            | %100 R               | %3,7 R<br>%14,8 I<br>%81,5 S  | %88,9 R<br>%11,1 S    | %40,7 R<br>%48,1 I<br>%11,1 S | %3,7 R<br>%96,3 I    | %3,7 R<br>%3,7 I<br>%92,6 S   |
| <i>E. faecium</i><br>(7 adet)                              | %100 R               | %14,3 R<br>%28,6 I<br>%57,1 S | %85,7 R<br>%14,3 S    | %42,8 R<br>%28,7 I<br>%28,6 S | %14,3 R<br>%85,7 I   | %14,3 R<br>%14,3 I<br>%71,4 S |
| <i>E. casseliflavus</i><br>(6 adet)                        | %100 R               | %100R                         | %100 R                | %100 S                        | %66,7 R<br>%33,3 I   | %66,7 R<br>%33,3 S            |
| <i>E. gallinarum</i><br>(7 adet)                           | %85,7 R<br>%14,3 I   | %71,4 R<br>%28,6 S            | %57,1 R<br>%42,9 S    | %14,3 R<br>%85,7 S            | %71,4 R<br>%28,6 S   | %71,4 R<br>%28,6 S            |
| <i>E. durans</i><br>(3 adet)                               | %100 R               | %66,7 R<br>%33,3 I            | %100 S                | %100 S                        | %33,3 R<br>%66,7 I   | %33,3 R<br>%66,7 S            |
| R: Dirençli I: Orta duyarlı (Ara seviye direnç) S: Duyarlı |                      |                               |                       |                               |                      |                               |

Her bir izolat için direnç gözlenen antibiyotikler ve çoklu antibiyotik dirençlilik (MAR) değerleri Çizelge 4.7.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. Her izolat için direnç gözlenen antibiyotikler ve MAR oranları.

| Tüm Antibiyotikler        | İzolat No | Direnç Gözlenen Antibiyotikler | MAR* oranı |
|---------------------------|-----------|--------------------------------|------------|
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 1-2       | S*, Ge*                        | 0,33       |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 1-3       | S*, Ge*, Va*, E*               | 0,66       |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 1-4       | S*, Ge*, Va*                   | 0,5        |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 1-5       | S*, Ge*                        | 0,33       |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 2-1       | S*, Ge*, Va*, C*               | 0,66       |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 2-2       | S*, Ge*                        | 0,33       |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 2-3       | S*, Ge*, Va*                   | 0,5        |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 2-4       | S*, Ge*, Va*                   | 0,5        |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 2-5       | S*, Ge*, Va*                   | 0,5        |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 3-1       | S*, Ge*                        | 0,33       |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 3-2       | S*                             | 0,17       |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 3-3       | S*, Ge*                        | 0,33       |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 3-4       | S*, Ge*, Va*                   | 0,5        |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 3-5       | S*, Ge*, Va*                   | 0,5        |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 4-1       | S*, Ge*, Va*                   | 0,5        |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 4-2       | S*, Ge*, Va*                   | 0,5        |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 5-2       | S*, Ge*                        | 0,33       |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 5-3       | S*, Ge*                        | 0,33       |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 5-4       | S*, Ge*                        | 0,33       |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 6-1       | S*, Ge*                        | 0,33       |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 6-4       | S*, Ge*, Va*                   | 0,5        |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 6-5       | S*, Ge*, Va*                   | 0,5        |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 6-6       | S*, Ge*                        | 0,33       |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 7-1       | S*                             | 0,17       |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 7-2       | S*                             | 0,17       |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 7-3       | S*, Te*, Ge*                   | 0,5        |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 7-4       | S*, Ge*, Va*                   | 0,5        |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 8-1       | S*, Ge*                        | 0,33       |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 8-2       | S*, Ge*                        | 0,33       |

Çizelge 4.7 Her izolat için direnç gözlenen antibiyotikler ve MAR oranları(devam)

|   |         |                           |      |
|---|---------|---------------------------|------|
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 8-3     | S*, Ge*, Va*              | 0,5  |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 8-4     | S*, Ge*                   | 0,33 |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 8-5     | S*, Ge*                   | 0,33 |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 8-6     | S*, Ge*                   | 0,33 |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 77-1    | S*, Te*, Ge*, C*          | 0,66 |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 77-2    | S*, Te*, Ge*              | 0,5  |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 77-3    | S*, Te*, Ge*, E*          | 0,66 |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 77-4    | S*, Te*, Ge*, E*, C*      | 0,83 |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 78-1    | S*                        | 0,17 |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 78-2    | S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C* | 1    |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 80-1    | S*, Te*, Ge*, E*, C*      | 0,83 |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 80-3    | S*, Te*, E*, C            | 0,66 |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 80-4    | S*, Te*                   | 0,33 |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 4-2-3   | S*                        | 0,17 |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 1-0-2-2 | S*, Te*, E*, C*           | 0,66 |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | TSM-59  | -                         | 0    |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 174-1   | S*, Te*, E*, C*           | 0,66 |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 174-2   | S*, Te*, Ge*, E*, C*      | 0,83 |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 174-3   | S*, Te*, Ge*, E*, C*      | 0,83 |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 174-4   | S*, Te*, Ge*, E*, C*      | 0,83 |
| S*, Te*, Ge*, Va*, E*, C*   | 175-1   | S*, Te*, Ge*, E*, C*      | 0,83 |
| <b>S*: Streptomisin, Te*: Tetrasiklin, Ge*: Gentamisin, Va*: Vankomisin, E*: Eritromisin, C*: Kloramfenikol, MAR*: Çoklu Antibiyotik Direnç</b> |         |                           |      |

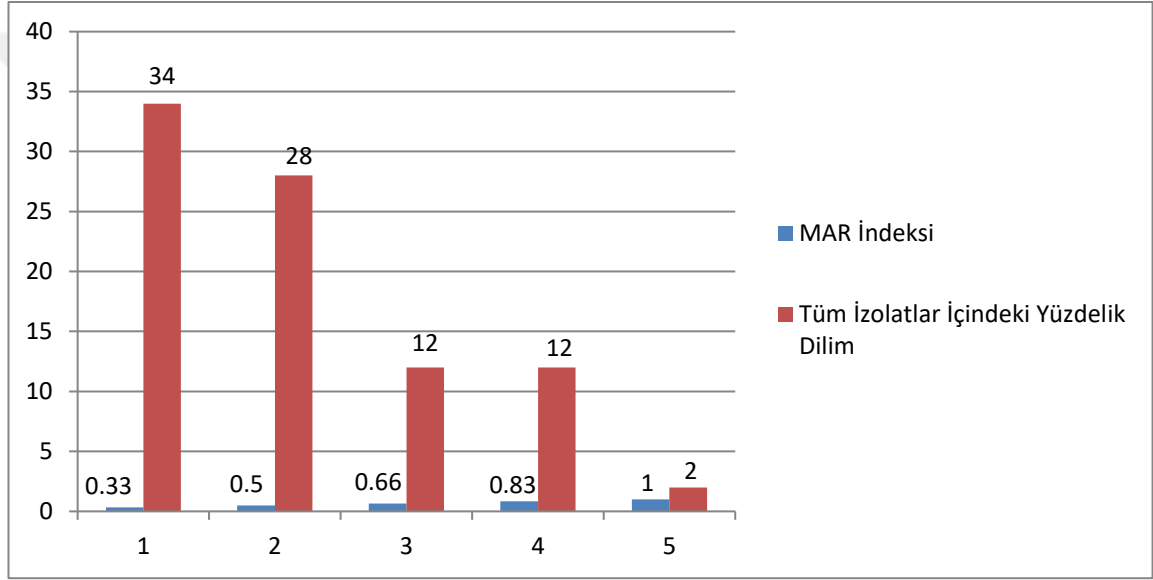
MAR verileri incelendiğinde, en az iki farklı antibiyotiğe karşı yüksek dirençlilik gösteren izolatlarda, MAR indeks değerlerinin 0,33-1.0 aralığında olduğu belirlenmiştir. MAR indeks değerlerininin 0.2' den yüksek olmasının, antibiyotiklerin sıklıkla kullanıldığı yerlerde yüksek kontaminasyon riski göstergesi olduğu belirtilmektedir (Osundiya ve ark. 2013). Tespit edilen MAR değerleri ve belirtilen değerlerde çoklu antibiyotik dirençliliği gösteren toplam izolat sayıları Çizelge 4.8. 'de gösterilmiştir. Çoklu direnç gösteren izolatların belirlenen MAR değerlerine göre tüm



izolatlar içerisindeki çoklu antibiyotik dirençlilik oranları yüzdesel olarak Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.8. İzolatların çoklu antibiyotik dirençlilik (MAR) indeksi sonuçları

| MAR İndeksi | Toplam İzolat Sayısı |
|-------------|----------------------|
| 0,33        | 17                   |
| 0,50        | 14                   |
| 0,66        | 6                    |
| 0,83        | 6                    |
| 1           | 1                    |



Şekil 4.1. MAR değerlerine göre çoklu antibiyotik dirençlilik özelliği gösteren izolatların tüm izolatlar göz önüne alındığında oluşan yüzdelik dağılımları

Ben Said ve ark. (2017) tarafından gerçekleştirilen ve Tunus'taki su ürünü örneklerinden izole edilen enterokokların antibiyotik dirençlilik potansiyellerinin araştırıldığı bir çalışmada streptomisin, tetrasiklin ve eritromisine karşı yüksek seviyede, kanamisin ve kloramfenikole karşı ise düşük seviyede dirençlilik tespit edilmiştir.  $\beta$ - laktam ve glikopeptidlere karşı tüm izolatların duyarlılık gösterdiğinin belirtildiği çalışmada, izolatların %31,8'lik kısmının en az 3 farklı antibiyotiğe karşı direnç gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışma kapsamında streptomisin, tetrasiklin ve eritromisin antibiyotiklerine karşı sırasıyla %98 (49/50), %30 (15/50) ve %24 (12/50) oranlarında yüksek seviye dirençlilik tespit edilmiştir. Eritromisin antibiyotiğine karşı

izolatların %72'sinin (36/50) ara seviye direnç gösterdiği ve sadece 2 adet izolatta duyarlılık olduğu belirlenmiştir. İzolatların %72'lik kısmının (36/50) kloramfenikol antibiyotiklerine duyarlı olduğu saptanmıştır. Çoklu antibiyotik dirençlilik profilleri incelendiğinde izolatların %56'lık (28/50) bölümünün en az üç farklı antibiyotik karşı direnç gösterdiği belirlenmiştir. Ben Said ve ark. (2017) su ürünlerinin potansiyel bir *Enterococcus* spp. kaynağı olabileceğini ve antibiyotik direnç ve virülens genleri taşıyabildiklerini bildirmişlerdir. Bu genlerin suda yaşayan diğer bakterilere yayılabileceğini ve küresel açıdan antibiyotik dirençlilik sorununu arttırabileceğini belirtmişlerdir. Belirtilen veriler kapsamında Ben Said ve ark. (2017)'nin gerçekleştirdikleri çalışma ile bu çalışmanın sonuçlarının benzerlikler içerdiği ve direnç genlerinin yayılmasının engellenmesi amacıyla önlemlerin alınması gerektiği düşünülmüştür. Wierzchowska ve ark. (2016) tarafından gerçekleştirilen ve karideslerden izole edilen *Enterococcus* türlerinin antibiyotik dirençlilik profillerinin ortaya konulduğu bir çalışmada, analiz edilen izolatların %65,7'lik kısmının test edilen antibiyotiklerden en azından birine karşı dirençli olduğu, %45,7'lik kısmın ise çoklu antibiyotik dirençliliği gösterdiği belirtilmiştir. Test edilen izolatların %48,6'lık bölümünün tetrasiklin antibiyotiklerine karşı dirençlilik gösterdiği ve test edilen antibiyotiklere karşı suş bazında *E. faecalis* suşunun diğerlerine göre daha fazla dirençlilik gösterdiği bildirilmiştir (Chajęcka-Wierzchowska ve ark. 2016). Bu çalışma kapsamında antibiyotik dirençlilikleri incelenen enterokokların %98 (49/50)'lik bölümünün test edilen antibiyotiklerin en azından birine karşı yüksek seviyede direnç gösterdiği, %88'lik (44/50) bölümünün ise en az iki antibiyotik olmak üzere çoklu yüksek antibiyotik dirençlilik profili ortaya koyduğu tespit edilmiştir. İzolatların %30'luk (15/50) kısmında yüksek seviye tetrasiklin dirençliliği saptanmıştır. Wierzchowska ve ark. (2016) karideslerden elde ettikleri enterokok izolatlarında bu çalışma kapsamında çeşitli su ürünlerinden elde edilen izolatlara paralel olarak çeşitli antibiyotik direnç ve virülens genlerin varlığını tespit etmişlerdir. Bu çalışma kapsamında izole edilen enterokokların test edilen antibiyotiklere karşı olan dirençlilik yüzdeleri Wierzchowska ve ark.(2016) tarafından gerçekleştirilen çalışmaya göre daha yüksek seviyelerde olsa da, sonuçlar çeşitli benzerlikler içermektedir. Bu bağlamda su ürünlerinden elde edilen enterokokların çeşitli direnç genlerini içerebileceği belirlenmiştir. Direnç genlerinin gıda zinciri yoluyla insanlara potansiyel iletimi

mümkün olabileceğinden bu durumun toplumsal sağlık açısından göz önüne alınması gereken önemli bir durum olduğu düşünülmüştür.

Hammad ve ark. (2014) gerçekleştirdiği ve tüketime hazır balıklardan elde edilen enterokok izolatlarında klindamisin, eritromisin, kanamisin, gentamisin, streptomisin ve tetrasiklin dirençliliği tespit edilmiştir. *E. faecalis* suşlarının %42 oranında en azından iki antibiyotiğe olmak üzere çoklu antibiyotik dirençliliği gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışma kapsamında denenen streptomisin ve gentamisin antibiyotiklerine karşı sırasıyla %98 (49/50) ve %80 (40/50) oranlarında dirençlilik belirlenmiştir. Eritromisin antibiyotiğine karşı Hammad ve ark (2014) yüksek seviye dirençlilik tespit etmiş olup, bu çalışmada %72 (36/50) oranında ara seviye dirençlilik belirlenmiştir. Çalışma kapsamında tetrasiklin antibiyotiğine karşı izolatların %56'sının (28/50) duyarlı olduğu bulunmasına karşın, %30'luk (15/30) kısmında yüksek seviye dirençlilik belirlenmiştir. Su ürünlerinden izole edilen *E. faecalis* suşlarının çoklu antibiyotik dirençliliği incelendiğinde, suşların en az iki farklı antibiyotiğe olmak üzere %92,6 (25/27) oranında yüksek seviye dirençlilik gösterdiği tespit edilmiştir. Her iki çalışmada da izolasyonu gerçekleştirilen enterokok suşlarının klinik açıdan önemli olan ve enfeksiyonların tedavisinde kullanım alanı bulan gentamisin ve streptomisin gibi antibiyotiklere karşı yüksek seviyede direnç gösterebildiği belirlenmiştir. Bunun yanı sıra test edilen antibiyotiklere karşı *E. faecalis* suşlarının yüksek seviye çoklu antibiyotik direnç özelliği göstermesinin, gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından dikkate alınması gereken özellikler olabileceği düşünülmüştür.

Valenzuela ve ark. (2010) tarafından yumuşakça, balık ve balık filetosundan oluşan su ürünlerinden izole edilen enterokokların, eritromisin antibiyotiğine direnç gösterdiği, bunun yanında hiç bir izolatta  $\beta$ -laktam ve vankomisin direnci tespit edilmediği bildirilmiştir. Bu tez çalışması kapsamında eritromisin antibiyotiğine karşı genelde ara seviye dirençlilik belirlenmiştir. Bunun yanı sıra vankomisin antibiyotiğine karşı toplamda 30 adet izolatta sırasıyla %30 (15/50) oranında yüksek ve aynı oranda ara seviye dirençlilik tespit edilmiştir. Valenzuela ve ark. (2010)' nın gerçekleştirdikleri çalışma ile karşılaştırıldığında bu çalışma sonucu elde edilen verilerin ciddi oranda farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Enterokokların antibiyotik dirençlilik profilleri incelenirken dikkat edilmesi gereken önemli noktalardan biri de vankomisin gibi

glikopeptitlere karşı gösterdikleri dirençtir. Vankomisin dirençli enterokokların, çeşitli sucul ortamlardan kontaminasyon yoluyla gıdalara bulaşabileceği bildirilmiştir. Çeşitli kaynaklarda enterokok izolatlarının antibiyotiklere karşı olan direnç özelliklerinin suşa özgü olabileceği belirtilmektedir. Bunun yanı sıra, son dönemlerde gerçekleştirilen çalışmalarda çevre faktörünün direnç genlerinin bakterilere aktarımında ve dirençli patojenlerin ortaya çıkmasında önemli bir rol aldığı belirtilmektedir. Tarımsal alanlarda ve hayvancılıkta gereksiz antibiyotik kullanımının yeraltı suları, toprak gibi çeşitli ortamlardaki çevresel mikrobiyomu etkilemesi sonucu bakterilerin yeni direnç mekanizmaları geliştirebileceği bildirilmiştir. Belirtilen direnç genlerinin plazmidler gibi genetik materyaller vasıtasıyla aktarılabilir olduğu çeşitli çalışmalarda belirtilmektedir. Antibiyotiklere direnç genlerinin, plazmidler vasıtasıyla bakteriler arasında olası aktarımının dikkat edilmesi gereken bir nokta olduğu düşünülmüştür (Franz ve ark. 1999, Eaton ve Gasson 2001, Foulquié Moreno ve ark. 2006, Ventola 2015, Azimi Mahalleh ve Göncüoğlu 2018, Bengtsson-Palme ve ark. 2018).

Su ürünlerinden izole edilen enterokokların antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiş sınırlı sayıda çalışma bulunmasına karşın çeşitli gıda örneklerinden izole edilen enterokoklar ile ilgili gerçekleştirilmiş pek çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Son yıllarda gıda ürünleri kaynaklı enterokokların antibiyotik dirençlilik potansiyellerinin incelendiği bazı çalışmalar aşağıda belirtilmiştir.

Balu ve ark. (2018), çeşitli gıda örneklerinden izole ettikleri *E. faecalis* suşlarının enfeksiyonları tedavi etmek amacıyla kullanılan vankomisin ve gentamisin gibi antibiyotiklere karşı yüksek seviyede direnç gösterdiğini ve bunun endişe verici bir durum olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışma kapsamında izole ettiğimiz *E. faecalis* suşlarının vankomisin ve gentamisin antibiyotiklerine karşı sırasıyla %40,7 (11/27) ve %88,9 (24/27) oranlarında direnç gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışmadaki *E. faecalis* suşlarının belirtilen antibiyotiklere olan dirençlilik durumları ile Balu ve ark. (2018) tarafından gerçekleştirilen çalışmanın sonuçları karşılaştırıldığında paralellik gösterdiği tespit edilmiştir. Farklı kaynaklardan elde edilen *E. faecalis* suşlarının aynı antibiyotiklere karşı benzer antibiyotik dirençlilik potansiyelleri ortaya koymasının, enterokok izolatlarında antibiyotiklere karşı olan direnç özelliklerinin suşa özgü olabileceği belirtilen çeşitli çalışmaları destekler nitelikte olduğu belirlenmiştir.

Rózańska ve ark. (2015) tarafından sığır, domuz ve kanatlı etlerinden izole edilen *E. faecalis* suşlarının antibiyotik dirençliliğinin araştırıldığı bir başka çalışmada, linkomisin, eritromisin ve tetrasiklin dirençliliği saptanırken, test edilen izolatların sadece bir kaç tanesinin gentamisin, penisilin ve vankomisin antibiyotiklerine karşı direnç gösterdiği belirlenmiştir.

Enterokok türleri son dönemlerde toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyon etmenleri arasında giderek artan bir öneme sahip olmaktadır. Tüm dünyada, insan ve hayvanların gastrointestinal sistemlerinde doğal olarak bulunabilme özellikleri nedeniyle çeşitli çevresel ortamlardan (su, toprak, vb.) ve hayvansal kaynaklı gıdalar (et, süt, vb.) başta olmak üzere farklı gıda ürünlerinden elde edilen izolatlarda da antibiyotik direnç genlerinin varlığı enterokokların daha iyi incelenmesi gerektiği gerçeğini ortaya koymaktadır.

Son yıllarda gıda, klinik ve çevresel ortamlardan elde edilen belirli enterokok suşlarının hastane ortamlarında enfeksiyonların tedavisi amacıyla kullanılan ve bu çalışma kapsamında da değerlendirilen streptomisin, tetrasiklin, gentamisin, vankomisin, eritromisin ve kloramfenikol antibiyotiklerine karşı direnç gösterebildiği belirtilmektedir. Bir antibiyotiğe karşı oluşan direnç, tedavi esnasında normal şartlar altında antibakteriyel etki göstermesi beklenen dozun herhangi bir etki göstermemesi ve enfeksiyonun ilerlemesinin durdurulamaması anlamına gelmektedir. Bunun yanı sıra enfeksiyonun tedavisi esnasında istenen etkinin sağlanamaması, bakterilerin direnç genlerini aktarım yoluyla farklı bakteri türlerine de geçirebilmesine olanak tanımaktadır. İnsan ve hayvanlarda antibiyotik direnç genleri taşıyan enterokoklar sonucu meydana gelen enfeksiyonların tedavisi amacıyla kullanılan antibiyotiklerin istenen etkiyi gösterememesinin ciddi sonuçlara neden olabileceği düşünülmüştür (Valenzuela ve ark. 2010, Hammad ve ark. 2014, Cameiro ve ark. 2015, Rózańska ve ark. 2015, Chajacka-Wierzchowska ve ark. 2016, Carey ve ark. 2016, Molale ve Bezuidenhout 2016, Ben Said ve ark. 2017, Balu ve ark. 2018 Igbiosa ve Beshiru 2019). Son yıllarda bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç genleri bulundurması artarak büyüyen bir toplum sağlığı problemi haline gelmiştir. Bu bağlamda önleyici tedbirler alınabilmesi

için bakterilerin belirli antibiyotiklere karşı neden direnç genleri geliştirdiğinin anlaşılması ve yaygınlaşmasının önüne geçilmesi toplumsal sağlık açısından oldukça önem teşkil etmektedir. Son dönemlerde gerçekleştirilen çalışmalarda çevre faktörünün direnç genlerinin bakterilere aktarımında ve dirençli patojenlerin ortaya çıkmasında önemli bir rol aldığı belirtilmektedir. Palme ve ark. (2018) çevresel faktörlerin direnç gelişimine etkisini araştırdıkları bir çalışmada, çevresel direnç gelişiminin azaltılması amacıyla insanlar ve hayvanlarda tedbirli antibiyotik kullanımını önermişlerdir. Aksi takdirde, farklı direnç genlerinin patojenlerle alınması sonucu bunların yeni direnç mekanizmaları geliştirerek tedavi seçeneklerini daha da azaltabileceğini bildirmişlerdir. Ventola (2015) antibiyotiklerin tarımsal alanlarda ve hayvancılıkta yaygın olarak kullanımının günümüzde antibiyotiklere karşı oluşan dirençlilikte etkili olduğunu bildirmişlerdir. Hayvancılıkta kullanılan antibiyotiklerin ürünlerin tüketimi sonucu insanlara geçebileceği ve çeşitli enfeksiyonlara neden olabileceği bilinmektedir. Hayvanlara verilen antibiyotiklerin büyük bir kısmı idrar ve dışkı ile atılarak toprak, yeraltı suyu gibi çeşitli alanlara yayılabilmekte ve böylece çevresel mikrobiyomu da etkilemektedir (Ventola 2015, Bengtsson-Palme ve ark. 2018).

Tüm dünya genelinde antibiyotiklere karşı artan dirençlilik gün geçtikçe küresel bir kriz haline gelmektedir. Son yüzyıl içerisinde antibiyotik dirençli bakteriler hızlı bir şekilde yaygınlaşarak antibiyotik direncin olumsuz etkilerini daha belirgin bir hale getirmiştir. Küresel olarak bir mikroorganizmadaki dirençliliğin insan sağlığı için uzun vadeli ve önemli etkileri olabilmektedir. Özellikle son dönemlerde bir veya birden fazla antibiyotiğe karşı direnç gösteren bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlara sahip hastaların tedavisinde ciddi zorluklarla karşı karşıya kalınabilmektedir. Belirli antibiyotiklere karşı gelişen bu dirençlilik ilaç firmalarının yeni antibiyotik maddeler geliştirmesini zorunlu hale getirmektedir. Geniş etki spektrumuna sahip yeni antibiyotik ajanların geliştirilmesi, endişe verici derecede yavaş bir şekilde olsa da antibiyotiklere karşı olan direncin bazı olumsuz etkilerini hafifletme potansiyeline sahip olduğu belirtilmektedir. Bakterilerin antibiyotiklere karşı dirençli genlerinin önerilen önlemler ile yayılımının önüne geçilmesinin hem toplumsal sağlık hem de ekonomik yönden yarar sağlayacağı düşünülmektedir (Ventola 2015, Friedman ve ark. 2016, Bengtsson-Palme ve ark. 2018).

Enterokokların antibiyotik dirençlilik profilleri incelenirken dikkat edilmesi gereken en önemli noktalardan biri de vankomisin gibi glikopeptitlere karşı gösterdikleri dirençtir. Mahalleh ve Gölcüoğlu (2017) vankomisin dirençli enterokokların, kontamine sular ile sulanma, atık sular ve dışkı gibi çeşitli çevresel kontaminasyon kaynakları yoluyla gıdalara bulaşabileceğini belirtmişlerdir. Gıda zinciri yoluyla vankomisine dirençli bakterilerin insana geçişi sonucu, çeşitli enfeksiyonların tedavisinde önemli bir seçenek olan vankomisinin kullanımında istenilen olumlu etkinin elde edilemeyecebileceği düşünülmüştür (Mahalleh ve Göncüoğlu 2018).

Enterokok suşlarında vankomisin direnci *vanA* 'dan *vanG*' ye kadar olmak üzere yedi farklı fenotipte gelişebilmektedir. *vanA* ve *vanB* fenotiplerinin klinik enterokoklarda en çok karşılaşılan direnç tiplerini oluşturdukları bildirilmektedir. *vanA*, vankomisine yüksek düzeyde direnç geliştiren fenotip olup minimum inhibisyon konsantrasyonu(MİK) düzeyleri 64-1024 µg/mL aralığında bulunmaktadır. *VanB* fenotipi direnç potansiyeli taşıyan suşlar vankomisine duyarlı kabul edilmektedir ve MİK düzeyleri 4-1024 µg/mL arasında değişmektedir (Çöleri ve Çökmüş 2008, Öncül 2010, Anonim 2017).

Bu çalışma kapsamında değerlendirilen *vanA* ve *vanB* vankomisine direnç genleri tespit edilememiş olup vankomisin antibiyotiğine karşı yüksek ve ara seviyede dirençlilik belirlenmiştir. Bu durum, vankomisine karşı dirençlilik belirlenirken, disk difüzyon test sonucunun yanı sıra, vankomisin direnç genlerini kodlayan tüm fenotiplerin minimum inhibisyon konsantrasyonu yönünden de doğrulanması gerektiğini düşündürmüştür.

Bu çalışma kapsamında, su ürünlerinden elde edilen enterokok izolatlarının belirli suşlarında, farklı antimikrobiyal gruplarda bulunan antibiyotiklere karşı yüksek seviyede dirençlilik profilleri gösterdiği belirlenmiştir. Bu durumun suyun mikrobiyolojik kalitesi ile yakından ilişkili olabileceği bunun yanında izolatların elde edildiği ürünlerin avlanma yeri ve suyun tuzluluğu gibi çevresel etmenlerin de ürünün mikrobiyal kalitesi üzerine etki etmiş olabileceği düşünülmüştür. Su ürünü kaynaklı çalışmalar da dahil olmak üzere çok çeşitli gıda örneklerinden izole edilen

enterokokların antibiyotik dirençlilik özelliklerinin incelendiği çalışmalar göz önüne alındığında enterokokların klinik alanda enfeksiyonların tedavisi amacıyla kullanılan pek çok antibiyotiğe karşı yüksek seviyelerde dirençlilik özelliği gösterebildiği belirlenmiştir. Bu bağlamda enterokokların antibiyotik dirençliliğinin, gıda güvenliği ve sağlık açısından değerlendirilmesi gereken önemli bir özelliği olduğu düşünülmüştür. Bunun yanı sıra, direnç genlerinin su ve su ürünlerinde yayılımının engellenmesi amacıyla çeşitli önlemler alınması gerektiği önerilmektedir. Suyun mikrobiyolojik kalitesini koruma ve iyileştirmenin, su ve su ürünlerinde antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin yayılımının kontrol altına alınabilmesi için önemli bir nokta olduğu düşünülmüştür. İnsan ve hayvanlarda gereksiz antibiyotik kullanımının önüne geçilmesi ile çevresel kaynaklı direnç gelişimi azaltılarak dirençli genlerin yayılımının kontrol altına alınabileceği ve bu yolla bakterilerde antibiyotiklere karşı olan dirençliliğin azaltılabileceği düşünülmüştür.

#### **4.3. Su Ürünlerinden Elde Edilen Enterokok İzolatlarının Virülens Gen Taşıma Durumları**

Gerçekleştirilen çeşitli çalışmalarda enterokokların patojenitesinin değerlendirilmesi amacıyla antibiyotiklere karşı olan direnç özelliklerinin yanı sıra virülens belirleyicilerinin de dikkate alınması gerektiği belirtilmektedir. Bu bağlamda, bu tez çalışması kapsamında çiğ ve işlenmiş su ürünlerinden izole edilen enterokoklar çeşitli virülens (*agg2*, *gelE*, *cyIA*, *cyIB*, *cyIM*) genleri taşıma durumlarına göre değerlendirilmiştir. Virülens genlerin değerlendirilmesi amacıyla polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) analizleri gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışma kapsamında test edilen enterokok izolatlarının %82'lik (41/50) bölümünün test edilen virülens genlerin bir ve ya daha fazlası için pozitif sonuç verdiği tespit edilmiştir.

İzolatların %72'sinde (36/50) biyoaktif bileşikleri hidrolize eden toksik ekstraselüler metalloendopeptidaz enziminin sentezinden sorumlu olan *gelE* geninin, %24'ünde



(12/50) ise hücrelere tutunmada görevli agregasyon proteininin sentezinden sorumlu *agg2* geninin varlığı belirlenmiştir.

Çiğ ve işlenmiş su ürünlerinden izole edilip tanımlanmaları gerçekleştirilen enterokokların araştırılan virülens genleri (*agg2*, *gelE*, *cylA*, *cylB*, *cylM*) taşıma durumları Çizelge 4.9.'da belirtilmiştir.



Çizelge 4.9. Enterokok izolatlarının virülens direnç genlerini taşıma durumları.

| İzolat No | Kaynak   | Tür                | <i>agg2</i> | <i>gelE</i> | <i>cylA</i> | <i>cylB</i> | <i>cylM</i> |
|-----------|----------|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 1-2       | Sardalye | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 1-3       | Sardalye | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 1-4       | Sardalye | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 1-5       | Sardalye | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 2-1       | İstavrit | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 2-2       | İstavrit | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 2-3       | İstavrit | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 2-4       | İstavrit | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 2-5       | İstavrit | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 3-1       | Barbun   | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 3-2       | Barbun   | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 3-3       | Barbun   | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 3-4       | Barbun   | <i>E. faecium</i>  | -           | +           | -           | -           | -           |
| 3-5       | Barbun   | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 4-1       | Hamsi    | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 4-2       | Hamsi    | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 5-2       | Sardalye | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 5-3       | Sardalye | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 5-4       | Sardalye | <i>E. faecium</i>  | -           | +           | -           | -           | -           |
| 6-1       | İstavrit | <i>E. faecium</i>  | -           | +           | -           | -           | -           |
| 6-4       | İstavrit | <i>E. faecium</i>  | -           | +           | -           | -           | -           |
| 6-5       | İstavrit | <i>E. faecium</i>  | -           | +           | -           | -           | -           |
| 6-6       | İstavrit | <i>E. faecalis</i> | +           | +           | -           | -           | -           |
| 7-1       | Barbun   | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 7-2       | Barbun   | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 7-3       | Barbun   | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |
| 7-4       | Barbun   | <i>E. faecalis</i> | -           | +           | -           | -           | -           |

Çizelge 4.9. Enterokok izolatlarının virülens direnç genlerini taşıma durumları(devam).

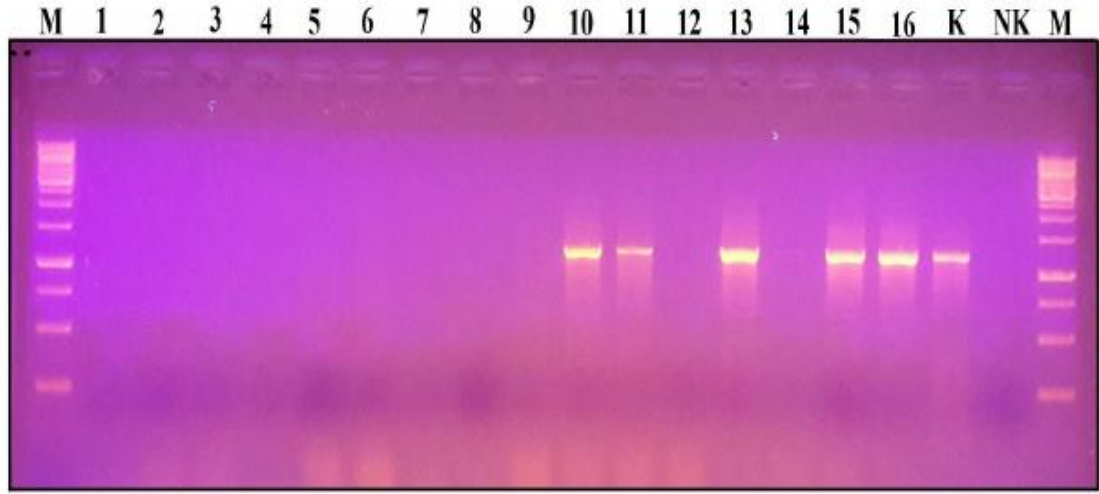
|         |         |                         |   |   |   |   |   |
|---------|---------|-------------------------|---|---|---|---|---|
| 8-1     | Hamsi   | <i>E. faecalis</i>      | + | + | - | - | - |
| 8-2     | Hamsi   | <i>E. faecalis</i>      | + | + | - | - | - |
| 8-3     | Hamsi   | <i>E. faecalis</i>      | + | + | - | - | - |
| 8-4     | Hamsi   | <i>E. faecium</i>       | + | + | - | - | - |
| 8-5     | Hamsi   | <i>E. faecalis</i>      | + | + | - | - | - |
| 8-6     | Hamsi   | <i>E. faecalis</i>      | + | + | - | - | - |
| 77-1    | Ançuez  | <i>E. casseliflavus</i> | - | - | - | - | - |
| 77-2    | Ançuez  | <i>E. casseliflavus</i> | + | - | - | - | - |
| 77-3    | Ançuez  | <i>E. casseliflavus</i> | + | - | - | - | - |
| 77-4    | Ançuez  | <i>E. casseliflavus</i> | - | - | - | - | - |
| 78-1    | Lakerda | <i>E. gallinarum</i>    | - | - | - | - | - |
| 78-2    | Lakerda | <i>E. gallinarum</i>    | - | - | - | - | - |
| 80-1    | Lakerda | <i>E. gallinarum</i>    | + | - | - | - | - |
| 80-3    | Lakerda | <i>E. durans</i>        | - | - | - | - | - |
| 80-4    | Lakerda | <i>E. durans</i>        | - | - | - | - | - |
| 4-2-3   | Lakerda | <i>E. durans</i>        | - | + | - | + | - |
| 1-0-2-2 | Lakerda | <i>E. faecium</i>       | - | - | - | - | - |

Çizelge 4.9. Enterokok izolatlarının virülens direnç genlerini taşıma durumları(devam)

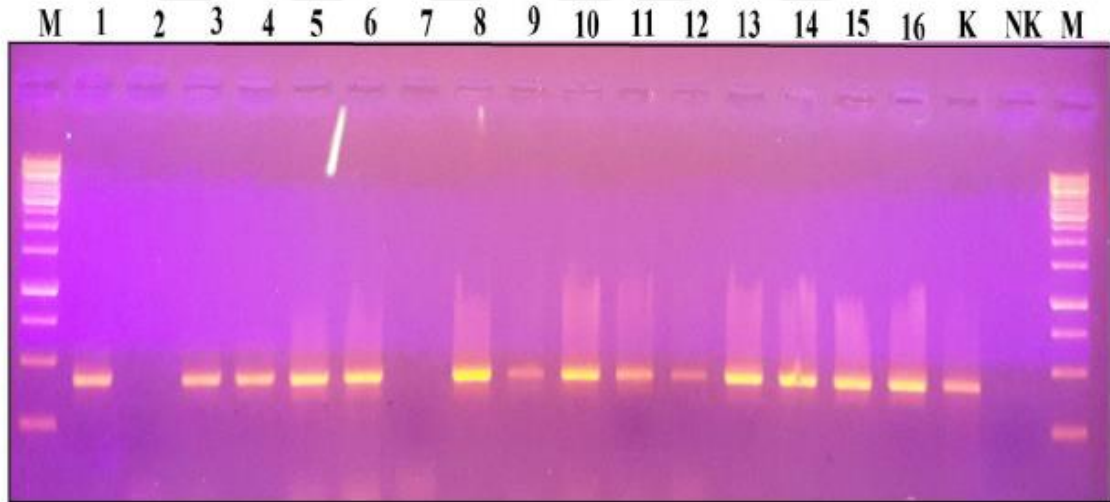
|               |           |                         |   |   |   |   |   |
|---------------|-----------|-------------------------|---|---|---|---|---|
| <b>TSM-59</b> | Midye içi | <i>E. gallinarum</i>    | - | + | - | - | - |
| <b>174-1</b>  | Midye içi | <i>E. gallinarum</i>    | - | + | - | - | - |
| <b>174-2</b>  | Midye içi | <i>E. gallinarum</i>    | + | - | - | - | - |
| <b>174-3</b>  | Midye içi | <i>E. gallinarum</i>    | + | - | - | - | - |
| <b>174-4</b>  | Midye içi | <i>E. casseliflavus</i> | - | - | - | - | - |
| <b>175-1</b>  | Midye içi | <i>E. casseliflavus</i> | - | - | - | - | - |

Suş bazında değerlendirildiğinde *E. faecalis* suşlarının tamamının *gelE* genini, bunun yanında %22,2'sinin de (6/27) *agg2* genini taşıdığı belirlenmiştir. *E. faecalis* türüne ait suşların en yüksek oranda çoklu virülens belirleyicileri barındırdığı tespit edilmiştir. *E. faecium* suşlarının %85,7'sinin *gelE* genini taşıdığı saptanmış olup sadece bir adet izolatta *agg2* geninin varlığı belirlenmiştir. *E. casseliflavus* türüne dahil olan suşlar dışında tüm suşların çoklu virülens faktörleri taşıdığı belirlenmiştir. Lakerdadan izole edilen 4-2-3 izolat numaralı *E. durans* suşunun, sitolizini kodlayan genlerden biri olan *cy1B* virülens genini taşıdığı, bunun dışında hiç bir izolatın sitolizinin aktivasyonundan sorumlu *cy1A*, transportundan sorumlu *cy1B* ve modifikasyonundan sorumlu *cy1M* belirleyicilerini bulundurmadığı tespit edilmiştir.

Bazı enterokok izolatlarında *agg2* ve *gelE* genlerine ait agaroz jeldeki görünüşleri Şekil 4.2. ve 4.3.'te gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Bazı enterokok izolatlarında *agg2* genine ait PCR ürünlerinin % 2'lik agaroz jeldeki görünüşleri (M; marker, K; pozitif kontrol suşu, NK; negatif kontrol, 10, 11, 13, 15, 16 numaralı kuyucuklar *agg2* pozitif izolatlara aittir).



Şekil 4.3. Bazı enterokok izolatlarında *gelE* genine ait PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görünüşleri (M; marker, K; pozitif kontrol suşu, NK; negatif kontrol, 1, 3-6, 8-16 numaralı kuyucuklar *gelE* pozitif izolatlara aittir).

Ben Said ve ark. (2017) Tunus'taki su ürünlerinden izole ettikleri enterokoklarda *gelE*, *hyl*, *esp*, *cylA* ve *cylB* olmak üzere beş adet virülens faktörün varlığını polimeraz zincir reaksiyonu yoluyla araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, izolatların %38,6'sının jelatinaz üreticisi olduğu ve tüm *E. faecalis* ve *E. durans* suşlarının *gelE* genini içerdiği

belirlenmiştir. Bu çalışma kapsamında değerlendirilen tüm izolatların %72'lik (36/50) bölümünün *gelE* genini içerdiği tespit edilmiştir. *E. faecalis* suşlarının tamamının *gelE* genini taşıdığı, *E. durans* suşlarının ise %33,3'ünde (1/3) bu genin varlığı belirlenmiştir. Her iki çalışmada da su ürünü örneklerinden izole edilen enterokokların *gelE* virülens geni için benzer sonuçlar ortaya koyduğu belirlenmiştir. Patojenlikte *gelE* geni, konakçı dokunun degradasyonu ve immun yanıtının modülasyonu yolu ile virülensliğe aracılık etmektedir. Bu genin, hücre dışı DNA salınımına ve biyofilm oluşumuna neden olan otolizin enziminin aktivasyonuna katılabilme özelliğinden dolayı patojenite üzerine etki edebileceği düşünülmüştür (Arias ve Murray 2012). Wierzchowska ve ark. (2016) tarafından karideslerden izole edilen enterokokların virülens genlerinin araştırıldığı bir çalışmada ise *E. faecalis* suşlarının diğer suşlara göre daha fazla virülens genleri taşıdığı ve 3 adet suşun test edilen tüm virülens genler için pozitif sonuç verdiği bildirilmiştir. Hücre dışı metaloendopeptidazı kodlayan *gelE* geni izolatların %85,7'sinde tespit edilmiştir. Bu çalışma kapsamında elde edilen veriler ile Wierzchowska ve ark. (2016) tarafından gerçekleştirilen çalışma sonuçları ile karşılaştırıldığında *gelE* geni varlığının her iki çalışmada da çok yüksek oranda bulunduğu belirlenmiştir. Bunun yanında bazı izolatlarda çoklu virülens genler olmasına karşın, hiçbir izolatta test edilen virülens genlerinin tamamı için pozitif sonuç tespit edilmemiştir.

Hammad ve ark. (2014) çiğ balık örneklerinden izole ettikleri *E. faecalis* suşlarının tamamının *gelE* genini, %77,4'lük kısmının ise agregasyon maddesi (*agg2*) virülens genini de taşıdığını belirlemiştir (Hammad ve ark. 2014). Bu çalışma kapsamında Hammad ve ark. (2014) gerçekleştirdiği çalışmaya paralel olarak tüm *E. faecalis* suşlarının *gelE* geni taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında *E. faecalis* suşlarının %22,2'sinin agregasyon maddesi (*agg2*) genini taşıdığı bulunmuştur. Enterokoklar için önemli bir diğer virülens faktör olan agregasyon maddesi, hücrelere bağlanmayı kolaylaştırarak virülens ve antibiyotik direnç genlerini taşıyan plazmidlerin değişimini sağlayan toplanma maddesidir (Hammad ve ark. 2014). Bu tez çalışmasında *E. faecalis* suşlarının *agg2* geni taşıyıcılığı, Hammad ve ark. (2014) tarafından gerçekleştirilen çalışmaya göre daha az oranda olsa da, *E. faecalis*'in patojenitesi açısından önemli olduğu düşünülmüştür.

Çalışma kapsamında sitolizini kodlayan genler olan *cyIA*, *cyIB* ve *cyIM*'nin varlığı saptanamamıştır. Sitolizin virülens faktörünün özellikle *E.faecalis* suşlarının patojenitesine büyük bir katkı yapabildiği belirtilmektedir (Van Tyne ve ark. 2013). Migaw ve ark. (2014) tarafından balık iç organlarından izole edilen enterokokların karakterizasyonuna ilişkin bir çalışmada sadece bir izolatta *cyIA* virülens geninin tespit edildiği bildirilmiştir (Migaw ve ark. 2014). Su ürünlerinden elde edilen enterokok izolatlarının sitolizin virülens belirleyicisini yaygın olarak barındırmadığı ancak patojenitesinin değerlendirilmesi amacıyla daha önce gerçekleştirilen çalışmaların paralelinde başta *E. faecalis* suşları için olmak üzere test edilmesi gerektiği düşünülmüştür.

Son yıllarda gerçekleştirilen bu çalışmalar incelendiğinde *gelE* ve *agg2* virülens genlerinin su ürünleri kaynaklı enterokok izolatlarında sıklıkla tespit edildiği belirtilmiştir. Bu tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçların son yıllarda gerçekleştirilen bu çalışmalar ile ciddi oranda benzerlikler içerdiği belirlenmiştir. Bu veriler doğrultusunda, su ürünlerinden izole edilen enterokokların başta *gelE* ve *agg2* olmak üzere çeşitli virülens genlerinin gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından araştırılması gerektiği düşünülmüştür.

Su ürünü kaynaklı çalışmaların yanı sıra, farklı gıda örneklerinden enterokokların virülens özelliklerinin araştırıldığı çeşitli araştırmalar da bulunmaktadır. Su ürünü kaynaklı olmayan gıda örneklerinden elde edilen enterokok izolatlarının çeşitli virülens genleri taşıma durumlarının araştırıldığı bazı çalışmalar aşağıda belirtilmektedir.

Franz ve ark. (2001) agregasyon materyali ve jelatinaz virülens faktörlerinin gıdalardan izole edilen enterokoklar arasında da var olduğunu tespit etmiş ve bu virülens faktörlerin görülme sıklığının *E. faecalis* suşlarında *E. faecium* suşuna göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Bu durumun nedenini enterokoklarda virülens belirleyicilerin suşa özgü olabileceği şeklinde yorumlamışlardır.

Barbosa ve ark. (2010) tarafından Portekiz'deki geleneksel fermente et ürünlerinden izole edilen enterokoklarda 13 farklı virülens genin (*efaAfs*, *efaAfm*, *esp*, *agg*, *cyIM*,

*cyiB*, *cyiA*, *cyiLL*, *cyiLs* and *geiE*) varlığı araştırılmıştır. Enterokok izolatlarının çoğunda bir veya daha fazla virülens gen varlığı tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında, *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarındaki virülens belirleyicilerin görülme sıklığında ciddi farklılıklar olduğu belirlenmiştir. *E. faecalis* suşlarının çoklu virülens özelliklere sahip olduğu, *E. faecium* izolatlarının ise genellikle virülens genlerini taşımadığı bildirilmiştir (Barbosa ve ark. 2010).

Yılmaz ve ark. (2016) tavuk ve sığır etlerinden izole ettikleri enterokokları jelatinaz (*geiE*), sitolizin (*cyiA*, *cyiB*, *cyiM*) enterokokal yüzey proteini (*esp*) agregasyon maddesi (*AS*) gibi potansiyel virülens genleri yönünden değerlendirmiş ve çeşitli virülens genlerinin varlığının sıklıkla tespit edildiğini bildirmişlerdir. Sığır eti kaynaklı enterokok izolatlarında *cyiM*, tavuktan izole edilenlerde ise *cyiB* virülens belirleyicilerinin tespit edilemediği, tavuklardan izole edilen enterokok izolatlarında sığır etinden izole edilenlere göre *cyiA*, *cyiM* ve agregasyon materyali virülens genlerinin daha fazla saptandığı belirtilmiştir (Yılmaz ve ark. 2016).

Su ürünlerinden ve çeşitli gıda örneklerinden elde edilen enterokokların virülens genlerinin incelendiği bu çalışmalar ile birlikte bu tez çalışması karşılaştırıldığında enterokokların çeşitli virülens genlerini içerebildiği tespit edilmiştir. Patojenlikte önemli rol oynayan *agg2* ve *geiE* gibi virülens genlere su ürünü kaynaklı enterokokların yanı sıra fermente ürünler de dahil olmak üzere farklı gıda ürünlerinden izole edilen enterokoklarda da bulunabildiği belirlenmiştir. Virülensliğe aracılık eden bu genlerin çok çeşitli ürünlerdeki varlığının ürünün mikrobiyal yükünü ve güvenilirliğini doğrudan etkileyebileceği düşünülmektedir. Patojeniteye, *geiE* virülens geninin biyofilm oluşum mekanizmasındaki rolü ve *agg2* geninin plazmitler vasıtasıyla dirençli gen transferinde rol oynayabiliyor olması nedeniyle etki edebileceği değerlendirilmektedir. Bu yüzden gıda maddelerinden elde edilen enterokok izolatlarının özellikle *agg2* ve *geiE* virülens genleri yönünden araştırılmasının gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından önemli olduğu düşünülmektedir.



## 5. SONUÇ

Gıda kalitesi ve güvenliği, bir ürünün en önemli karakteristik özellikleridir. Gıdaların mikroflorası, gıda üreticileri ve tüketiciler açısından büyük önem teşkil etmektedir (Bari ve ark. 2017).

Su ürünleri, yüksek biyolojik değere sahip protein varlığı, D ve E vitamini ile uzun zincirli doymamış yağ asidi içeriklerinden ötürü insanlığın balıkçılık ve su ürünleri yetiştiriciliği yapmaya başlamasından itibaren insan diyetinde önemli bir beslenme unsuru olmuştur. Balık ve diğer su ürünlerinin tüketimi, sağlık üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı birçok beslenme programında önerilmektedir. Su ürünleri tüketiminin sağlık üzerindeki yararlı etkilerinin incelendiği bazı araştırmalarda, başta kardiyovasküler yararlar olmak üzere, kanser, psikolojik etmenler, inflamatuvar hastalıklar ve beyin üzerinde olumlu etkiler gösterdiği belirtilmiştir (Kato ve ark. 1997, Gesch ve ark. 2002, Norat ve ark. 2005, Rebecca Khan 2009, Tacón ve Metian 2013).

Su ürünleri ile ilgili gıda güvenliği sorunları, bölgeden bölgeye, üretim yöntemine, yönetim uygulamalarına ve çevre koşullarına göre değişiklik gösterebilmektedir. Su ürünlerinin mikrobiyal durumu; su sıcaklığı, tuzluluk, avlanma yeri ve yöntemi, suda doğal olarak bulunabilen bakterilerin varlığı, dondurma koşulları gibi çevresel etmenler ve suyun mikrobiyolojik kalitesi ile yakından ilişkilidir. Su ürünlerindeki potansiyel gıda güvenliği tehlikeleri, gıda kaynaklı enfeksiyonlar, patojenik bakteriler ve virüslerle ilişkili gıda kaynaklı hastalıklar, ilaç kalıntıları, zirai kimyasallar ve toksik metaller tarafından kontaminasyonu içerebilmektedir (Feldhusen 2000).

Enterokoklar yaygın bir şekilde doğada bulunabilmekte ve gıda, toprak, su gibi çok çeşitli ortamlardan izole edilebilmektedir. Bazı enterokok suşları, çeşitli fermente gıdaların olgunlaşma ve aroma kazanımı gibi işlemlerine katkıda bulunabilmekte, ayrıca anti-*Listeria* aktivitesi gösterebilen bakteriyosinler üretebilmektedir. Enterokokların insanlar ve hayvanlar da probiyotik olarak da kullanım potansiyeli bulunmaktadır. Bilinen bu yararlı özelliklerinin yanı sıra enterokokların bazı suşları, çeşitli enfeksiyonlara

neden olabilen hastane kaynaklı önemli patojenler arasında yer almaktadır (Franz ve ark. 1999, Kayser 2003, Foulquié Moreno ve ark. 2006, Kürekçi ve ark. 2016).

Son yıllarda çeşitli gıda örneklerinden elde edilen enterokokların izolasyonu, karakterizasyonu, patojenitesi ve fonksiyonel özelliklerinin araştırıldığı pek çok çalışma bulunmasına karşın su ürünü kaynaklı enterokok izolatlarına ilişkin yapılmış çalışmalar sınırlı sayıdadır.

Bu çalışma kapsamında gıda sektöründe starter ve probiyotik kültür olarak kullanımı ile bakteriyosin üretim potansiyeli gibi çeşitli fonksiyonel özelliklerinden dolayı kullanım alanı bulan, bunun yanında patojenite etmenleri olan antibiyotik dirençlilik ve virülens genleri içerebilen enterokokların çiğ ve işlenmiş su ürünlerinden izolasyonu ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiş ve gıda güvenliği yönünden risk potansiyeli değerlendirilmiştir.

Gıdalarda antibiyotik dirençlilik ve virülens genlerin varlığı bakterilerin bu genlerin ve direnç belirleyicilerinin gıda zinciri yoluyla insanlara aktarılmasında rol oynayabileceğinden dolayı bir endişe konusudur (Franz ve ark. 1999, Trivedi ve ark. 2011, Wierzchowska ve ark. 2017).

Çalışma kapsamında çiğ ve işlenmiş su ürünlerinden izole edilen enterokokların insan enfeksiyonlarında da yaygın olarak kullanılan çeşitli antibiyotiklere karşı yüksek seviyede dirençlilik gösterebildiği belirlenmiştir. Antibiyotiklere karşı direnç genleri taşıyan enterokokların gıdalarda yaygın olarak bulunabilmesi ve direnç genlerinin plazmidler vasıtasıyla bakteriler arasında olası aktarımının dikkat edilmesi gereken önemli bir nokta olduğu düşünülmüştür. Son dönemlerde gerçekleştirilen bazı çalışmalar, enterokokların gıda zinciri yoluyla taşınıp taşınmadığı ve özellikle vankomisin dirençli enterokokların hastane ortamında hastalık yapma potansiyelleri üzerine yoğunlaşmıştır (Franz ve ark. 1999, Eaton ve Gasson 2001, Klein 2003, Foulquié Moreno 2006, Gilmore ve ark. 2014, Akpaka ve ark. 2017). Enterokok türlerinde bu çalışmada da test edilen bazı antibiyotiklere karşı yüksek seviyede dirençlilik belirlenmesinin, antibiyotiklerin yaygın ve yanlış kullanımı sonucu insan,

hayvan, gıda ve çevresel örneklerden elde edilen izolatlarda yaygın antibiyotik direncinin olduğu dünya çapında bilinen bir gerçektir. Bu durumun da enterokokal kaynaklı enfeksiyonların tedavisini zorlaştırabileceği değerlendirilerek dikkatle önlem alınması gerektiği düşünülmektedir.

Enterokokların hastalıklara neden olabilme yeteneklerinin antibiyotiklere direnç özelliklerinin yanı sıra virülens belirleyicilerin varlığı ile birlikte açıklanması gerektiği belirtilmektedir. Bu bağlamda izolatların çeşitli virülens genleri taşıma durumları incelenmiş ve *gelE* ve *agg2* genlerine karşı belirli izolatlarda pozitif sonuç elde edilmiştir. Virülense aracılık eden bu genlerin çok çeşitli ürünlerdeki varlığının ürünün mikrobiyal güvenilirliğini doğrudan etkileyebileceği düşünülmüştür. *gelE* virülens geninin biyofilm oluşumu üzerine etkisi ve *agg2* geninin plazmitler vasıtasıyla dirençli gen transferinde rol oynayabilecek olması nedeniyle patojeniteye etki edebileceği düşünülmüştür.

İzolatların çeşitli virülens belirleyicileri içermesi ve klinik açıdan önemli antibiyotikler de dahil olmak üzere çok çeşitli antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilmesi gıda ve çevresel izolatların enterokokal kaynaklı klinik enfeksiyonların yaygınlığını arttırabileceğini düşündürmektedir.

Dünya genelinde sağlıklı ve güvenilir gıdaya olan farkındalık ve ihtiyaç gün geçtikçe artmaktadır. Tüketici sağlığını olumlu bir şekilde etkileyecek fonksiyonel ürünlerin üretimi yaygınlaşmakta ve gıda sektörü hızlı bir şekilde büyümeye devam etmektedir. Bunun yanı sıra gıda güvenliğinin sağlanması ve tüketici üzerinde kısa ve uzun vadede olumsuz etkilerin önlenmesi amacıyla ürünler potansiyel risk faktörleri bakımından da değerlendirilmekte ve tam anlamıyla sağlıklı ve güvenilir gıda üretimi gerçekleştirilmeye çalışılmaktadır.

Gıdalarda enterokokların fonksiyonel kültürler olarak kullanımının yanı sıra, hastane kaynaklı enfeksiyon etmeni olan ve direnç genleri barındıran izolatlarının gıdalar aracılığı ile insanlara geçişi son yıllarda önem kazanan bir araştırma konusu olmuştur. Bu nedenle gıdalarda fonksiyonel kültür olarak kullanılmak üzere seçilecek olan

enterokok izolatlarının halk sağlığı ve gıda güvenliği yönünden risk oluşturmaması açısından antibiyotik direnç ve virülens özellikleri bakımından değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Bu çalışmada elde edilen veriler kapsamında, su ürünlerinden elde edilen enterokok izolatlarının farklı gruplardan çeşitli antibiyotiklere karşı direnç özellikleri gösterdiği ve virülens genlerinin bazılarını taşıdığı tespit edilmiştir. Su rnlerinde, yüksek seviyede direnç fenotiplerine sahip izolatların bulunması, mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi uygun olmayan sucul ortamlardan ürünlerin elde edildiğini düşündürmektedir. Çevresel faktörlerin antibiyotik direnç gelişimi üzerine etkisinin azaltılmasının toplum sağlığının korunması açısından önemli bir noktadır. Bu bağlamda hem insan hem de hayvanlarda bilinçli antibiyotik kullanımının sağlanması ve bu yolla direnç faktörlerinin çevreye yayılımının önlenmesi gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

- Akan, S., Demirağ, M.K. 2018.** Gıdalarda biyojen amin oluşum mekanizmalarına etki eden faktörler ve biyojen aminlerin diğer bileşiklere dönüşümleri. *Pamukkale Univ. Muh. Bilim. Derg.*, 24(7):, 1388–1392.
- Akpaka, P.E., Kisson, S., Jayaratne, P., Wilson, C., Golding, G.R., Nicholson, A.M., Lewis, D.B., Hermelijn, S.M., Pearson, A.W., Smith, A. 2017.** Genetic characteristics and molecular epidemiology of vancomycin-resistant enterococci isolates from Caribbean countries. *PLoS-One*. 1-11.
- Akpınar Kankaya, D., Özden Tuncer, B., Tuncer, Y. 2017.** Gıda kaynaklı enterokokların potansiyel risk faktörleri. *Gıda*, 42(1): 8-19.
- Anonim, 2006.** Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. National Committee for Clinical Laboratory Standards, CLSI M2-A9.
- Anonim, 2017.** MİK ve zon çaplarının değerlendirilmesi için sınır değer tabloları. Avrupa Antimikrobik Duyarlılık Testleri Komitesi, 8.1, European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.
- Arias, C.A., Murray, B.E. 2012.** The rise of the *Enterococcus*: Beyond vancomycin resistance. *Nat. Rev. Microbiol.*, 10(4):, 266–278.
- Arthur, M., Reynolds, E., Depardieu, F., Evers, S., Dutka-Malen, S., Quintiliani, R., Courvalin, P. 1996.** Mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *J. Infect.*, 32(1): 11–16
- Aslim, B., Beyatli, Y. 2004.** Antibiotic resistance and plasmid DNA contents of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from Turkish yogurts. *Turk. J. Vet. Anim. Sci* , 28(2): 257–263.
- Aspri, M., Bozoudi, D., Tsaltas, D., Hill C., Papamedas, P. 2017.** Raw donkey milk as a source of *Enterococcus* diversity: Assessment of their technological properties and safety characteristics. *Food Control*, 73:81–90.
- Azımı Mahalleh, A., Göncüoğlu, M. 2018.** Enterokoklarda antibiyotik direnci ve vankomisin dirençli enterokokların önemi. *Türkiye Klinikleri J. Vet. Sci.* , 8(1): 7–13.
- Baixas-Nogueras, S., Bover-Cid, S., Nogues, M.T.V., Vidal-Carou, M.C. 2003.** Amino acid-decarboxylase activity in bacteria associated with Mediterranean hake spoilage. *Eur. Food Res. Technol.*, 217:164–167
- Balu, P., Maria, P.N., Rajendren, K., Elango, R., Jawahar, Y. 2018.** Determination of the prevalence, antibiotic resistance and virulence factors of *E. faecalis* isolated from different food samples. *Int. J. Curr. Sci.*, 1(3): 1-5.
- Barbosa, J., Ferreira, V., Teixeira, P. 2009.** Antibiotic susceptibility of enterococci isolated from traditional fermented meat products. *Food Microbiol.*, 26(5): 527–532.
- Barbosa, J., Gibbs, P.A., Teixeira, P. 2010.** Virulence factors among enterococci isolated from traditional fermented meat products produced in the North of Portugal. *Food Control*, 21(5): 651-656.
- Bari, M.D.L., Grumezescu, A., Ukuku, D.O., Dey, G., Miyaji, T. 2017.** New food processing technologies and food safety. *J. Food Qual.*, 2–4.
- Ben Said, L., Hamdaoui, M., Klibi, A., Ben Slama, K., Torres, C., Klibi, N. 2017.** Diversity of species and antibiotic resistance in enterococci isolated from seafood in Tunisia. *Ann. Microbiol.*, 67(1): 135–141.
- Bengston-Palme, J., Kristiansson, E., Larson, D.G.J. 2018.** Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol. Rev.*, 42(1): 68–80.

- Bergeron, S., Boopathy, R., Nathaniel, R., Corbin, A., Lafleur, G. 2015.** Presence of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in raw source water and treated drinking water. *Int. Biodeterior. Biodegradation*, 102: 370–374.
- Bhardway, A., Malik, R.K., Chauhan, P. 2008.** Functional and safety aspects of enterococci in dairy foods. *Indian J. Microbiol.*, 48(3): 317–325.
- Biji, K.B., Ravishankar, C.N., Venkateswarlu, R., Mohan, C.O., Gopal, T.K.S. 2016.** Biogenic amines in seafood: a review. *J. Food Sci. Technol.*, 53(5):, 2210–2218.
- Blair, J.M.A., Webber, M.A., Baylay, A.J., Ogbolu, D.O., Piddock, L.J.V. 2015.** Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat. Rev. Microbiol.*, 13(1): 42–51.
- Cameiro, C.S., Barreto, N.S.E., Oliveira, C.S.S, Silva, I.P., Oliveira, T.A.S., Fontes, A. 2015.** Antagonistic activity, antimicrobial susceptibility and potential virulence factors of *Enterococcus faecalis*. *J. Life Sci.*, 10(7):, 318–326
- Carey, S.A., Goldstein, R.E.R., Gibbs, S.G., Claye, E., Hec, X., Sapkota, A.R. 2016.** Occurrence of vancomycin-resistant and -susceptible *Enterococcus* spp. in reclaimed water used for spray irrigation. *Environ. Res.*, 147: 350–355.
- Charteris, W.P., Kelly, H.P.M., Morelli, L., Collins, J.K. 1998.** Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. *J. Food Protect.*, 61(12): 1636–1643.
- Çaylan, R., Üstünakın, M., Kadımov, V., Aydın, K., Köksal, İ. 2004.** Fekal ve klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.*, 34:24-28.
- Çöleri, A., Çökmüş, C. 2008.** Enterokok türlerinde glikopeptid grubu antibiyotiklere direncin moleküler mekanizmaları ve gen aktarım yolları. *Türk Hij. Den. Biyol. Derg.*, 65 (2): 87-96.
- De Martinis, E.C.P., Alves, V.F. Franco, B.D.G.M. 2011.** Fundamentals and perspectives for the use of bacteriocins produced by lactic acid bacteria in meat products. *Food Rev. Int.*, 18(2–3): 191–208.
- De Vuyst, L., Foulquie-Moreno, M.R., Revets, H. 2003.** Screening for enterocins and detection of hemolysin and vancomycin resistance in enterococci of different origins. *Int. J. Food Microbiol.*, 84(3): 299–318.
- Devriese, L.A., Laurier, L., De herdt, P., Haesebrouck, F. 1992.** Enterococcal and Streptococcal species isolated from faeces of calves, young cattle and dairy cows. *Journal of Applied Bacteriology*, 72, 29-31.
- Eaton, T.J., Gasson, M.J. 2001.** Molecular screening of *Enterococcus* virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67(4):1628–1635.
- Elal Muş, T., Çetinkaya, F. 2017.** Bursa’da içme ve kullanma sularında indikatör ve bazı patojen bakterilerin varlığının araştırılması. *Toprak Su Dergisi*, 6(1): 1–6.
- El Shafay, S.M., Ali, S.S., El Sheekh, M.M. 2016.** Antimicrobial activity of some seaweeds species from Red sea, against multidrug resistant bacteria. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 42, 65-74.
- Falagas, M.E., Karageorgopoulos, D.E. 2009.** Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing organisms. *J. Hospital Infect.*, 73(4): 345–354.
- Feldhusen, F. 2000.** The role of seafood in bacterial foodborne diseases. *Microbes Infect*, 2(13): 1651–1660
- Ferguson, D.M., Griffith, J., McGee, C.D., Weisber, S.B., Hagedorn, C. 2013.** Comparison of *Enterococcus* species diversity in marine water and wastewater using enterolert and EPA Method 1600. *J. Environ. Public Health*, 20(13): 1-6

- Fisher, K., Phillips, C. 2009.** The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology*, 155(6):1749–1757.
- Foulquie-Moreno, M.R., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E., De Vuyst, L. 2006.** The role and application of enterococci in food and health. *Int. J. Food Microbiol.*, 106(1): 1–24.
- Françoise, L. 2010.** Occurrence and role of lactic acid bacteria in seafood products. *Food Microbiol.*, 27(6):698–709.
- Franz, C.M.A.P., Holzapfel, W.H., Stiles, M.E. 1999.** Enterococci at the crossroads of food safety?. *Int. J. Food Microbiol.*, 47(1–2): 1–24.
- Franz, C.M.A.P., Huch, M., Abriouel, H., Holzapfel, W., Galvez, A. 2011.** Enterococci as probiotics and their implications in food safety. *Int. J. Food Microbiol.*, 151(2): 125–140.
- Franz, C.M.A.P., Stiles, M.E., Schleifer, K.H., Holzapfel, W.H. 2003.** Enterococci in foods - A conundrum for food safety. *Int. J. Food Microbiol.*, 88(2–3):105–122
- Friedmann, N.D., Temkin, E., Carmeli, Y. 2016.** The negative impact of antibiotic resistance. *Clin. Microbiol. Infect.*, 22(5): 416–422.
- Garrido, A.M., Galvez, A., Pulido, R.P. 2014.** Antimicrobial resistance in Enterococci. *J. Infect. Dis. Ther.* 2014, 2(4): 1-7.
- Gholizadeh, Y., Courvalin, P. 2000.** Acquired and intrinsic glycopeptide resistance in enterococci. *Int. J. Antimicrob. Agent.*, 16 (1): 1–17.
- Gilmore, M.S., Clewell, D.B., Ike, Y., Shankar, N. 2014.** Enterococci: from commensals to leading causes of drug resistant infection. Massachusetts Eye and Ear Infirmary, Boston, p674.
- Gimenez Pereira, M.L. 2005.** Enterococci in milk products. *MSc Thesis*, Massey University, Department of Veterinary, New Zealand
- Giraffa, G. 2002.** Enterococci from foods. *FEMS Microbiol. Rev.*, 26(2): 163–171.
- Giraffa, G. 2003.** Functionality of enterococci in dairy products. *Int. J. Food Microbiol.* 88(2–3): 215–222.
- Hammad, A.M., Shimamoto, T., Shimamoto, T. 2014.** Genetic characterization of antibiotic resistance and virulence factors in *Enterococcus* spp. from Japanese retail ready-to-eat raw fish. *Food Microbiol.*, 38(1): 62-66.
- Hammad, A.M., Hassan, H.A., Shimamoto, T. 2015.** Prevalence, antibiotic resistance and virulence of *Enterococcus* spp. in Egyptian fresh raw milk cheese. *Food Control*, 50: 815–820.
- Harwood, V.J., Delahoya, N.C., Ulrich, R.M., Kramer, M.F., Whitlock, J.E., Garey, J.R., Lim, D.V. 2004.** Molecular confirmation of *Enterococcus faecalis* and *E. faecium* from clinical, faecal and environmental sources. *Lett. Appl. Microbiol.*, 38: 476-482
- Hugas, M., Garriga, M., Aymerich, M.T. 2003.** Functionality of enterococci in meat products. *Int. J. Food Microbiol.*, 88(2–3): 223–233.
- Igbinosa, E. O., Beshiru, A. 2019.** Antimicrobial resistance, virulence determinants, and biofilm formation of *Enterococcus* species from ready-to-eat seafood. *Front. Microbiol.*, 10: 1–16.
- Inoğlu, Z.N., Tuncer, Y. 2013.** Safety assessment of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* strains isolated from Turkish Tulum cheese. *J. Food Safety*, 33(3): 369–377.

- İşleroğlu, H., Yıldırım, Z., Demirpençe, Y., Yıldırım, M. 2008.** Enterokoklar: biyokimyasal, fizyolojik ve fonksiyonel özellikleri ile patojenitesi. *Akademik Gıda*, 6(3):16–26.
- John, U.V., Carvalho, J. 2011.** *Enterococcus*: review of its physiology, pathogenesis, diseases and the challenges it poses for clinical microbiology. *Front. Biol.*, 6(5): 357–366.
- Kam, W.Y., Aida, W., Sahilah, A.M., Maskat, M.Y. 2011.** Volatile compounds and lactic acid bacteria in spontaneous fermented sourdough. *Sains Malaysiana*, 40(2): 135–138.
- Kato, I., Akhmedkhanov, A., Koenig, K., Toniolo, P.G., Shore, R.E., Riboli, E. 1997.** Prospective study of diet and female colorectal cancer: The New York University Women’s Health Study. *Nutr. Cancer*, 28(3): 276–281.
- Kayaoğlu, G. 2004.** Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: Relationship to endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 15(5):308-320.
- Kayser, F.H. 2003.** Safety aspects of enterococci from the medical point of view. *Int. J. Food Microbiol.*, 88(2–3): 255–262.
- Klein, G. 2003.** Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *Int. J. Food Microbiol.*, 88(2–3): 123–131.
- Klibi, N., Ben Said, L., Jouini, A., Ben Slama, K., Lopez, M., Ben Sallem, R., Boudabous, A., Torres, C. 2013.** Species distribution, antibiotic resistance and virulence traits in enterococci from meat in Tunisia. *Meat Sci.*, 93(3): 675–680.
- Kürekçi, C., Pehlivanlar Önen, S., Yipel, M., Aslantaş, Ö., Gündoğdu, A. 2016.** Characterisation of phenotypic and genotypic antibiotic resistance profile of enterococci from cheeses in Turkey. *Korean J. Food Sci. Anim. Res.*, 36(3): 352–358.
- Ladero, V., Fernandez, M., Enriquez, M.C., Llana, E.S., Canedo, E., Martin, C., Alvarez, M.A. 2012.** Is the production of the biogenic amines tyramine and putrescine a species-level trait in enterococci? *Food Microbiol.*, 30(1): 132–138.
- Landman, D., Quale, F.M., Oydna, E., Willey, B., Ditore, V., Zaman, M., Patel, K., Saurina, G., Huang, W. 1995.** Comparison of five selective media for identifying fecal carriage of vancomycin-resistant enterococci. *J. Clin. Microbiol.*, 34(3): 751-752.
- Leroy, F., De Vuyst, L. 2004.** Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Food Sci. Technol.* 15(2): 67–78.
- Ljungh, A., Wadström, T. 2006.** Lactic acid bacteria as probiotics. *Curr. Iss. Intestinal Microbiol.*, 7(2): 73–89.
- Martin, B., Garriga, M., Hugas, M., Aymerich, T. 2005.** Genetic diversity and safety aspects of enterococci from slightly fermented sausages. *J. Appl. Microbiol.*, 98(5): 1177–1190
- Migaw, S., Ghrairi, T., Belguesmia, Y., Choiset, Y., Berjeaud, J.M., Chobert, J.M., Hani, K., Haertle, T. 2014.** Diversity of bacteriocinogenic lactic acid bacteria isolated from Mediterranean fish viscera. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 30(4): 1207–1217.
- Molale, L. G., Bezuidenhout, C. C. 2016.** Antibiotic resistance, efflux pump genes and virulence determinants in *Enterococcus* spp. from surface water systems. *Environ. Sci. Pollution Res.*, 23(21): 21501–21510.
- Mundy, L.M., Sahn, D.F., Gilmore, M. 2000.** Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance. *Clin. Microbiol. Rev.*, 13(4):, 513–522.
- Nicas, T.I., Hobbs, W.U., Preston, D.A., Allen, N.E. 1989.** Characterization of Vancomycin Resistance in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob agents chemoter*, 33(7): 1121-1124.



- Norat, T., Bingham, S., Ferrari, P., Slimani, N., Jenab, M., Mazuir, M., Overvad, K., Olsen, A., Tjønneland, A., Clavel, F., Boutron-Ruault, M.C., Kesse, E., Boeing, H., Bergmann, M.M., Nieters, A., Linseisen, J., Trichopoulou, A., Trichopoulos, D., Tountas, Y., Berrino, F., Palli, D., Panico, S., Rosario, T., Vineis, P., Mesquita, H.B.B., Peeters, P.H.M., Engeset, D., Lund, E., Skeie, G., Ardanaz, E., Gonzalez, C., Navarro, C. Quiros, J.R., Sanchez, M.J., Berglund, G., Mattisson, I., Hallmans, G., Palmqvist, R., Day, N.E., Khaw, K.T., Key, T.J., Joaquin, M.S., Hemon, B., Saracci, R., Kaaks, R., Riboli, E. 2005. Meat, fish, and colorectal cancer risk: The European prospective investigation into cancer and nutrition. *J. National Cancer Institute*, 97(12):, 906–916.
- Osundiya O.O., Oladele, R.O., Oduyebo, O.O. 2013. Multiple antibiotic resistance (MAR) indices of *Pseudomonas* and *Klebsiella* species isolates in Lagos University teaching hospital. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 14(3): 1595-689.
- Öncül, O. 2010. Vankomisin ve teikoplanin hikayesi. *ANKEM Dergisi*, 24: 101–109.
- Pinto, A.L., Fernandes, M., Pinto, C., Albano, H., Castilho, F., Teixeira, P., Gibbs, P.A. 2009. Characterization of anti-*Listeria* bacteriocins isolated from shellfish: Potential antimicrobials to control non-fermented seafood. *Int. J. Food Microbiol.*, 129(1):50–58.
- Psoni, L., Kotzamanides, C., Andrighetto, C., Lombardi, A., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E. 2006. Genotypic and phenotypic heterogeneity in *Enterococcus* isolates from Batzos, a raw goat milk cheese. *Int. J. Food Microbiol.*, 109(1–2): 109–120.
- Rebecca Khan 2009. Seafood and health. *J. Res. Schol. Output. Focus*, 3: 67–78.
- Rehaim, A., Fhoula, I., Slim, A.F., Ben Boubaker, I.B., Chihi, A.B., Ouzari, H.I. 2016. Prevalence, acquired antibiotic resistance and bacteriocin production of *Enterococcus* spp. isolated from tunisian fermented food products. *Food Control*, 63(1): 259–266.
- Reviriego, C., Eaton, T., Martin, R., Jimenez, E., Fernandez, L., Gasson, M.J., Rodriguez, J.M. 2005. Screening of virulence determinants in *Enterococcus faecium* strains isolated from breast milk. *J. Human Lact.*, 21(2): 131–137.
- Rózańska, H., Pilat, A.L., Osek, J. 2015. Antimicrobial resistance of *Enterococcus faecalis* isolated from meat. *Bull Vet Inst Pulawy* 59: 229-233.
- Santos, S.F.C. 2011. The dual role of enterococci in food technology: bacteriocin production versus pathogenicity potential. *MSc Thesis*, Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, Departamento de Biologia Vegetal, Portugal
- Sarantinopoulos, P., Andrighetto, C., Georgalakis, M.D., Rea, M.C., Lombardi, A., Cogan, T.M., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E. 2001. Biochemical properties of enterococci relevant to their technological performance. *Int. Dairy J.*, 11(8): 621–647.
- Sava, I.G., Heikens, E., Huebner, J. 2010. Pathogenesis and immunity in enterococcal infections. *Clin. Microbiol. Infect.*, 16(6): 533–540.
- Savaşan, S., Kaya, O., Kırkan, Ş., Çiftci, A. 2008. Balık kökenli *Enterococcus faecalis* suşlarının antibiyotik dirençlilikleri. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 55: 107–110.
- Sinton, L.W., Donnison, A.M., Hastie, C.M. 1993. Faecal streptococci as faecal pollution indicators: A review. Part I: Taxonomy and enumeration. *New Zealand J. Marine Freshwater Res.*, 27: 101-115

- Sioen, I., Matthys, C., De Backer, G., Van Camp, J., De Henauw, S. 2007.** Importance of seafood as nutrient source in the diet of Belgian adolescents. *J.Human Nutr. Diet.*, 20(6): 580–589.
- Submuth, S.D., Silberhorn, A.M., Wirth, R., Susa, M., Marre, R., Rozdzinski, E. 2000.** Aggregation substance promotes adherence, phagocytosis, and intracellular survival of *Enterococcus faecalis* within human macrophages and suppresses respiratory burst. *Infect. Immun.*, 68(9): 4900–4906.
- Tacon, A. G. J., Metian, M. 2013.** Fish matters: importance of aquatic foods in human nutrition and global food supply. *Rev. Fish. Sci.*, 21(1): 22–38.
- Tansuphasiri, U., Khaminthakul, D., Pandii, W. 2006.** Antibiotic resistance of enterococci isolated from frozen foods and environmental water. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 37(1): 162-170.
- Temiz, A. 2014.** Genel mikrobiyoloji uygulama teknikleri. Hatiboğlu yayınevi, Türkiye, s292.
- Toğay, S. Ö., Temiz, A. 2011.** Gıda kaynaklı enterokokların gıda ve insan sağlığı yönünden önemi. *Gıda*, 36(5): 303–310.
- Trivedi, K., Cupakova, S., Karpiskova, R. 2011.** Virulence factors and antibiotic resistance in enterococci isolated from food-stuffs. *Veterinarni Medicina*, 56 (7): 352–357
- Valenzuela, A.S., Benomar, N., Abriouel, H., Cañamero, M.M., Gálvez, A. 2010.** Isolation and identification of *Enterococcus faecium* from seafoods: Antimicrobial resistance and production of bacteriocin-like substances. *Food Microbiol.*, 27(7): 955-961.
- Van Tyne, D., Martin, M.J., Gilmore, M.S. 2013.** Structure, function, and biology of the *Enterococcus faecalis* cytolysin. *Toxins*, 5(5): 895–911.
- Ventola, C. 2015.** The antibiotic resistance crisis: Causes and threats. *Pharmacology & Therapeutics* , 40(4):, 277–283.
- Wierzchowska, W.C., Zadernowska, A., Trokenheim, L.L. 2017.** Virulence factors of *Enterococcus* spp. presented in food. *LWT - Food Sci. Technol.*, 75:, 670–676
- Wierzchowska, W.C., Zadernowska, A., Trokenheim, L.L. 2016.** Virulence factors, antimicrobial resistance and biofilm formation in *Enterococcus* spp. isolated from retail shrimps. *LWT - Food Sci. Technol.*, 69: 117–122.
- Yılmaz, E.Ş., Aslantaş, Ö., Pehlivanlar Önen, S., Türkyılmaz, S., Kürekçi, C. 2016.** Prevalence, antimicrobial resistance and virulence traits in enterococci from food of animal origin in Turkey. *LWT - Food Sci. Technol.*, 66: 20–26.
- Yorgancıgil, B. 1999.** Beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç mekanizmaları. *Turgut Özel Tıp Merkezi Dergisi*, 6(2): 177–182.
- Yüce, A. 2001.** Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. *Klinik Dergisi*, 14(2): 41–46.
- Yüceer, Ö., Özden Tuncer, B. 2015.** Determination of antibiotic resistance and biogenic amine production of lactic acid bacteria isolated from fermented turkish sausage (Sucuk). *J. Food Safety*, 35(2):, 276–285.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Onur KARAALIOĞLU

Doğum Yeri ve Tarihi : Hatay 06.04.1994

Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Antakya Lisesi

Lisans : Mustafa Kemal Üniversitesi

Poznan University of Life Sciences

Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi

Çalıştığı Kurum/Kurumlar :

1. Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK), 2016-2018
2. Wroclaw University of Environmental and Life Sciences, 2017
3. K.F.C. (Safe Food Corporation) Gıda A.Ş., 2015

İletişim (e-posta) : [karaaliogluonur94@gmail.com](mailto:karaaliogluonur94@gmail.com)

Yayınları:

**Karaalioglu, O.,** Özmen Toğay, S., Ay, M., Soysal, G., Çardak, M., Bağcı, U., Tınaztepe, Ö. 2019. Çiğ balık örneklerinden izole edilen *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* suşlarının gıda güvenliği yönünden bazı özelliklerinin değerlendirilmesi. *Türk Hij. Den. Biyol. Derg.*

**Karaalioglu, O.,** Özmen Toğay, S., Çardak, M. 2019. Isolation and Characterisation of Enterococci From Raw and Processed Seafood. ISBR Congress book (Full text).

**Karaalioglu, O.,** Özmen Toğay, S., Çardak, M., Ay, M. Antibiotic susceptibility and some virulence genes of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* strains isolates from raw fish samples. 2018. 1st international food and medicine congress, Sözlü sunum.

Özmen Toğay, S., Çardak, M., Aydın, E., Ay, M., Tınaztepe, Ö., Yıldırım, Z. **Karaalioglu, O.** 2017 Su ürünü örneklerinden izole edilen *Enterococcus* suşlarının antimikrobiyal aktivite potansiyeli. 7. Veteriner gıda hijyeni kongresi, Poster sunum.

Çardak, M., Ay, M., Özmen Toğay, S., Aydın, E., Tınaztepe, Ö., **Karaaliğlu, O.**, Bağcı, U., Yıldırım, Z. 2017. Prevalence and antibiotic resistance and virulence characteristics of enterococci in raw and processed seafood products. 10th Balkan congress of microbiology, Sözlü Sunum.

