



**T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**HAYVANSAL KAYNAKLI GIDALARDA ENTEROKOKLARIN VARLIĞI, TÜR
DÜZEYİNDE İDENTİFİKASYONLARI VE ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Tülay ELAL MUŞ

(DOKTORA TEZİ)

Bursa-2014



T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

HAYVANSAL KAYNAKLI GIDALARDA ENTEROKOKLARIN VARLIĞI, TÜR
DÜZEYİNDE İDENTİFİKASYONLARI VE ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ

Tülay ELAL MUŞ

(DOKTORA TEZİ)

Danışman: Prof. Dr. Figen ÇETİNKAYA

Bursa-2014

Bu tez, Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığı tarafından UAP(V)-2010/9 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET	III
İNGİLİZCE ÖZET	V
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	5
Enterokokların Tarihçesi	5
Enterokokların Morfolojisi ve Kimyasal Özellikleri	5
Enterokokların Teknolojik Özellikleri	8
Bakteriosin Üretimi	8
Proteoliz	9
Lipoliz ve Esteraz	9
Sitat Metabolizması	10
Probiyotik Olarak Kullanımları	10
Biyojen Amin Oluşturma	11
Enterokokların Patogenezi	12
Antibiyotik Direnci	12
β -Laktam direnci	13
Aminoglikozit Direnci	13
Kloramfenikol Direnci	13
Tetrasiklin Direnci	13
Kinolon Direnci	14
Linezolid Direnci	14
Vankomisin Direnci	14
Virulens Faktörleri	16
Enterokokların İnsanlarda Meydana Getirdiği Enfeksiyonlar	17
Üriner Sistem Enfeksiyonları	17
Endokardit	17
Bakteriyemi	18
Karın İç ve Pelvik Enfeksiyonları	18
Yar ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları	18
Menenjit	18
Pediatrik Enfeksiyonlar	18
Enterokokların Epidemiyolojisi	19
Enterokokların Gıdalarda Varlığı	19
Süt ve Süt Ürünleri	19
Et ve Et Ürünleri	20
Su ve Su Ürünleri	21

GEREÇ VE YÖNTEM	22
Gereç	22
Yöntem	22
Enterokokların İzolasyon ve İdentifikasyonu	22
Enterokokların Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi	24
E-test Yöntemi ile Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Saptanması	25
BULGULAR	26
Bakteriyolojik Bulgular	26
Enterokok Suşlarının Antibiyotik Duyarlılık Bulguları	28
TARTIŞMA VE SONUÇ	43
KAYNAKLAR	50
TEŞEKKÜR	58
ÖZGEÇMİŞ	59

ÖZET

Bu tez çalışması Nisan – Aralık 2011 tarihleri arasında Güney Marmara Bölgesi'nde satış sunulan hayvansal gıdalarda enterokokların varlığını belirlemek, tür düzeyinde identifikasyonunu yapmak ve antibiyotik direnç profillerini ortay koymak amacıyla yapıldı. Bu amaçla 150 adet et ve et ürünü (parça et, kıyma, köfte, sucuk, salam, sosis, pastırma), 150 adet süt ve süt ürünü (peynir, yoğurt, kefir, tereyağ), 75 adet tavuk eti (göğüs, but, kanat) ve işlenmiş kanatlı et ürünü (piliç burger, piliç köfte, nugget, şinitzel) olmak üzere toplam 375 adet gıda örneği materyal olarak kullanıldı.

Klasik mikrobiyolojik tekniklerle, analize edilen örneklerin %54.13'ünde (203/375) *Enterococcus* spp. kontaminasyon gözlemlendi. API 20 STREP bakteritanımlama sistemi kullanılarak, izolatların 92'si *E. faecium*, 88'i *E. faecalis*, 20'si *E. durans*, 2'si *E. avium* ve 1'i *E.*

gallinarum olarak tür düzeyinde tanımlandı. İdentifikasyonları tamamlanan tüm izolatlarına ampisilin (10 µg), penisilin (10 ünite), linezolid (30 µg), kinupristin/dalfopristin (15 µg), vankomisin (30 µg), teikoplanin (30 µg), siprofloksasin (5 µg), tetrasiklin (30 µg), yüksek düzey aminoglikozid direnci için gentamisin (120 µg) ve streptomisin (300 µg) antibiyotiklerineduyarlılık profilleri disk difüzyon tekniği ile test edildi. Vankomisin ve teikoplanin antibiyotiklerinedirençli olduğu görülen suşların, E-test tekniği ile minimum inhibitör konsantrasyon (MIK) değerleri tespit edildi.

Antibiyotik duyarlılık testi sonucunda suşların %18,7'sinin (38 suş) bir antibiyotiğe, %5,9'unun (12 suş) iki antibiyotiğe, %2,9'unun (6 suş) 3 antibiyotiğe ve %0,5'inin (1 suş) 6 antibiyotiğedirençli olduğu belirlendi.

E. faecium suşları arasında dirençli suşların oranı tetrasiklin için %18,5 (17/92) ve penisilin için %3,3 (3/92) iken; bu oran vankomisin, teikoplanin, ampisilin, kinupristin/dalfopristin ve siprofloksasin antibiyotiklerinin her biri için %1,1 (1/92) olarak saptandı. *E. faecium* suşlarının %6,5'inde (6/92) birden fazla antibiyotiğedirençlilik ortayakundu. Linezolid, yüksek düzey streptomisin ve gentamisin antibiyotiklerine karşı tüm *E. faecium* suşlarının duyarlı olduğu gözlemlendi.

E. faecalis suşlarının %28,4'ünün (25/88) tetrasiklin, %25'inin (22/88) kinupristin/dalfopristin, %3,4'ünün (3/88) siprofloksasin, %2,3'ünün (2/88) linezolid ve yüksek düzey streptomisinedirençli olduğu tespit edildi. Yine vankomisin, teikoplanin, ampisilin, penisilin ve yüksek düzey gentamisin antibiyotiklerinin her

birinedirençgösterensuşlarınoranı %1.1 (1/88) olarakbelirlendi.*E. faecalissuşlarının* %14.8'i (13/88) test edilenantibiyotiklerden en azikisinedirençliydi.

E. duranssuşlarındanyalnızca 2'sinin (%10) tetrasiklindirençliliğinesahipolduğu, kalan*E. duranssuşlarıileE. aviumveE.*

*gallinarum'*untümsuşlarınıyukarıdaadıgeçenantibiyotiklerdeuyarlılıkgösterdiğiertayakond u.

Disk diffizyonyöntemiylevankomisinveteikoplaninedirençliolduğubelirlenen*E. faeciumveE. faecalissuşları*nauygulanan E-testinsonuçları, MIK değerlerinin 4 µg/ml'ninaltındaolduğunu, dolayısıylabusuşlarınvankomisinveteikoplanineduyarlıolduğunugösterdi.

Sonuçolarakhayvansalgıdalardaenterokoklarınvarlığıvedağılımıbelirlenmişveizoleedile nsuşlardafarklıantibiyotiklerekarşidirençsaptanmıştır.Mevcuttezçalışması, dirençlisuşlarınbugenlerinipatojenolanveolmayandığerbakterilereaktarabilmeözelliklerigöz önünealındığında, antibiyotikdirençlibakterilerindoğadayayılmamasındaenterokoklarınöneminiortayakoydu.

AnahtarKelimeler: Enterokok, hayvansalgıda, antibiyotikdirenci

SUMMARY

In this Ph D thesis, the presence of *Enterococcus* spp. in animal originated foods that were collected from Southern Marmara Region between April and December 2011 and their antibiotic resistance profiles were undertaken. For this purpose, totally 375 food samples consisting of 150 meat and meat products (veal cubes, minced meat, meatball, soujouk, salami, sausage, pastrami), 150 milk and dairy products (cheese, yoghurt, kefir, butter), 75 chicken meats (breast, thigh, wing) and poultry products (burger, meatball, nugget, schnitzel) were used as material. The contamination of *Enterococcus* spp. was observed in 54.13% (203/375) of the samples analysed by classical microbiological techniques. By using API 20 STREP bacteria identification system, 92 isolates were identified as *E. faecium*, 88 as *E. faecalis*, 20 as *E. durans*, 2 as *E. avium* and 1 as *E. gallinarum*. Antibiotic susceptibility profile of isolates were tested by disc diffusion technique for ampicillin (10 µg), penicilin(10 unit), linezolid (30 µg), quinupristin/dalfopristin(15 µg), vancomycin(30 µg), teicoplanin(30 µg), ciprofloxacin (5 µg), tetracycline (30 µg), high level aminoglycosid resistance gentamicin (120 µg) and streptomycin (300 µg) antibiotics. Minimum inhibitory concentrations (MIC) for vancomycin and teicoplanin resistant strains were determined by E-test method.

It has been pointed out that 18.7% (38 strains) of strains were resistant to one antibiotic, 5.9% (12 strains) to two antibiotics, 2.9% (6 strains) to three antibiotics and 0.5% (1 strain) to six antibiotics.

The percentage of resistance among *E. faecium* strains was 18.5% (17/92) for tetracycline and 3.3 % (3/92) for penicilin; meanwhile, this value was 1.1% (1/92) for each of vancomycin, teicoplanin, quinupristin/dalfopristin, and ciprofloxacin antibiotics. 6.5%(6/92) of *E. faecium* strains showed the resistance to more than one antibiotic. All of *E. faecium* strains were susceptible to linezolid, high level streptomycin and gentamicin.

Variable level of resistance was noted among the *E. faecalis* strains. Their resistance to tetracycline was 28.4% (25/88), to quinupristin/dalfopristin was 25% (22/88), to ciprofloxacin was 3.4% (3/88), to linezolid and high level streptomycin was 2.3% (2/88). Moreover, the resistance to each of vancomycin, teicoplanin, ampicillin, penicilin, and high level gentamicin antibiotics was 1.1% (1/88).

14.8% (13/88) of *E. faecalis* strains were resistant to at least two of antibiotics tested.

It was observed that two(10 %) of *E. durans* strain had resistance to tetracycline. Other *E. durans*, *E. avium* and *E. gallinarum* strains were susceptible to any antibiotics mentioned above.

E. faecium(one strain) and *E. faecalis* (one strain) strains exhibiting resistance to vancomycin and teicoplanin by disc diffusion method assays were checked by E- test and they were confirmed to be susceptible for these antibiotics because their MIC levels were lower than 4 µg/ml.

As a result, the presence and the incidence of enterococci in animal originated foods and, their resistance to different antibiotics was determined. Data obtained by the current thesis may be an indication of the possible role and importance of enterococci in the spread of antibiotic resistant bacteria in nature, notably by taking into account their ability to transfer these genetic characters to other pathogen and non-pathogen bacteria.

Key Words: Enterococci, animal originated food, antibiotic resistance

GİRİŞ

Enterokoklar gram pozitif, sporsuz, katalaz ve oksidaz negatif, fakültatif anaerobik, tek, çift veya zincir şeklinde koklardır (1). Enterokoklar önceleri D grubu streptokoklar olarak sınıflandırılırken; 1984’de DNA-DNA hibridizasyon ve 16rRNA sekans çalışmaları *Streptococcus faecium* ve *S. faecalis* türlerinin diğer streptokoklardan farklı olduğunu göstermiş ve Schleifer ve Kilpper-Balz bunların *Enterococcus* cinsine transferini önermiştir (1, 2). Bugüne kadar bu cinse 53 tür ilave edilmiştir (3).

Enterokoklar sağlıklı insanlar ve hayvanların barsak mikroflorasının üyeleri olup, çevrede yaygın olarak bulunan bakterilerdir (1,4). *E. faecalis* ve *E. faecium* insanlarda, bireyler arasında ve gastrointestinal sistem boyunca değişen sayılarda (sindirim içeriğinin gramında 10^2 - 10^8) olmak üzere, sindirim sistemindeki mikrobiyotanın doğal üyeleridir. Enterokoklar muhtemelen fekal kaynaklardan yayılmalarının ve olumsuz çevresel koşullara doğal toleranslarının bir sonucu olarak, gıdalar, bitkiler, su ve topraktan da yaygın olarak izole edilmiştir (2, 5). Cinsin çoğu türleri 10-45°C’ler arasında gelişebilmesine rağmen, enterokoklar optimal olarak 35 °C’de gelişirler. Bunlar % 6.5 NaCl varlığında, pH 9.6’da da gelişebilir ve 60°C’de 30 dakikalık ısı işlem sonrasında canlılıklarını sürdürürler. Çoğu enterokok türleri % 40 safra varlığında eskülünü hidrolize edebilir (1, 6).

Enterokokların pastörizasyon sıcaklıklarına direnç göstermeleri ve farklı maddeler ve gelişim koşullarına (düşük ve yüksek ısı, yüksek pH ve tuz) adaptasyon yetenekleri, bunların çiğ materyalden (et veya süt) üretilen gıdalarda ve ısı işlem görmüş gıdalarda bulunmasına imkan tanımaktadır. Bundan dolayı, enterokoklar fermente gıdaların özellikle de fermente peynir ve etlerin mikrobiyotasında önemli bir kısmı oluştururlar (1, 7). *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans* süt ürünlerinde en sık bulunan türlerdir, ki bunlar peynir lezzeti ve tekstürünün gelişiminde önemli rol oynarlar. Sitratı metabolize etme yetenekleri gibi, bazı enterokok suşlarının gösterdiği proteolitik ve esterolitik aktiviteleri peynirin olgunlaşmasına ve lezzet gelişimine yardım sağlamaktadır (8). Gıda endüstrisinde bu laktik asit bakterileri (LAB), önemli fermentasyon aktiviteleri nedeniyle, “yardımcı (ilave) veya starter kültürler” olarak bilinir (9).

Ayrıca enterokoklar laktik asit, hidrojen peroksit ve bakteriosinler (enterosinler) gibi çeşitli antimikrobiyal maddeler üretebildiğinden, gıdaların raf ömrünü uzatmak ve hijyenik güvenliğini geliştirmek amacıyla gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. Bu özellikleriyle *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ve *Clostridium botulinum* gibi gram

pozitif gıda kaynaklı patojenlere karşı inhibe edici etkiye sahiptir. Enterokoklar probiyotik olarak kullanımları bakımından da dikkati çekmiş ve araştırma konusu olmuştur (10). Bakteriosin üretebilen çeşitli enterokok suşları insan ve hayvan sağlığını geliştirme özelliklerine sahip olup, *E. faecium*'un bir suşu olan SF68, insan ve domuzlarda ishale karşı pozitif etkilerinden dolayı çeşitli çalışmalarda bir probiyotik olarak değerlendirilmiştir (11, 12).

Enterokokları içeren fermente gıdalar uzun zamandan beri güvenli kabul edilmesine rağmen, enterokokların gıdalarda varlığı gıda endüstrisi ve tüketiciler için önemli bir kaygı da oluşturmuştur (13). Çünkü bu bakteriler gıdaların bozulmalarından, gıda intoksikasyonlarından, nosokomiyal infeksiyonlardan ve gıdalarda bulunan suşların güvenilirliği hakkında kaygıları artıran gıda zincirinde antibiyotik dirençliliğinin yayılmasından sorumlu tutulmaktadır (14). Vankomisin ve teikoplanin gibi glikopeptid antibiyotiklerin geniş bir varyetesine direnç geliştirme kabiliyetleri, enterokoklara ilişkin nosokomiyal infeksiyonların artışıdaki sebeplerden birisi olarak görülmüştür. Üstelik diğer gram pozitif bakterilerle karşılaştırıldığında enterokokların etkili virulens faktörleri bulunmasa da, çeşitli çalışmalar bunların agregasyon maddeleri (*agg*), jelatinaz (*gelE*) ve hemolisin üretimi gibi kabul edilen virulens özelliklerini barındırabildiğini ortaya koymuştur. Diğer potansiyel virulens faktörleri kollajen adezin (*ace*), adezin benzeri *E. faecalis* ve *E. faecium* antijen A (sırasıyla *efaA_{fs}* ve *efaA_{fm}*) ve enterokokal yüzey proteini (*esp*) gibi yüzey proteinlerini içerir. Bu belirtilen virulens faktörleriyle birlikte antibiyotik dirençlilikleri yüzünden, enterokoklar genellikle güvenli olarak bilinen (GRAS, Generally Recognized as Safe) mikroorganizmalar grubunda görülmemiştir (13, 15, 16).

Enterokokların virulensi bakımından bir diğer kaygı da biyojen aminleri üretmeleridir. Bu, aminoasit dekarboksilazların etkisiyle gıdalarda biyojen aminleri üreten pek çok laktik asit bakterisiyle paylaşılan bir özelliktir. Başlıca histamin ve tiramin olmak üzere biyojen aminler, peynir tüketiminden kaynaklanan çeşitli intoksikasyonlara neden olmaktadır (10).

Enterokoklar geleneksel olarak kommensal bakteriler olarak bilinmekle birlikte, günümüzde üriner sistem infeksiyonları, yara infeksiyonları, endokarditis ve bakteriyemi gibi yaşamı tehdit eden infeksiyonlara neden olan nosokomiyal patojenler olarak dikkati çekmektedir (8, 17, 18). Genellikle *E. faecalis*'in *E. faecium*'dan daha fazla virulens özellikleri taşıdığı görülür ve *E. faecalis* yüzünden gelişen infeksiyonların oranının diğer tüm enterokok türlerinininkine oranı yaklaşık 1/10 olarak rapor edilmiştir (14, 19).

Enterokoklar nosokomiyal kan infeksiyonlarının Amerika'da üçüncü ve Avrupa'da dördüncü en yaygın nedenidir. Enterokok infeksiyonları öncelikli olarak *E. faecalis* ve *E.*

faecium tarafından oluşturulur, ki bunlar klinik izolatların sırasıyla % 80 ve % 20'sinden sorumludur. İnfeksiyonlarda ortalama mortalite oranı % 20- % 30 arasında değişmektedir. Nosokomiyal patojenler enterokokların neden olduğu infeksiyonlar, uzun süre hastanede kalma ve gerekli ilave terapötik uygulamalar nedeniyle ekonomik açıdan da önemlidir (2). Enterokoklar, özellikle de vankomisin dirençli enterokoklar (VRE), hasta ve immün sistemi baskılanmışlarda nosokomiyal infeksiyonların en önemli nedenlerinden biri olarak bilinmektedir (20).

Bilindiği gibi antibiyotikler veteriner hekimlikte tedavi, profilaksi ve gelişim artırıcı amaçla yaygın olarak kullanılmaktadır (21). *Enterococcus* spp.'nin önemli bir klinik özelliği, gıda, su ve klinik kaynaklı izolatlarında rapor edildiği gibi (16, 22-24), antimikrobiyal ajanların geniş bir varyetesine dirençli olmalarıdır. Bu özellik antibiyotiklerin kullanıldığı hastane çevrelerinde enterokokların canlılığını sürdürmesine ve dirençli organizmaların yayılmasına imkan tanımaktadır. Gelişimi arttırmak amacıyla hayvan yemlerinde antibiyotiklerin kullanımı çeşitli ekosistemlerde, nakledilebilir antibiyotik dirençlilik genlerinin önemli rezervörlerini ortaya çıkarmış ve sonuç olarak gıda zinciri yoluyla dirençli *Enterococcus*'ların insanlara olası bir naklini beraberinde getirmiştir (16, 25). Enterokoklarla ilgili nosokomiyal infeksiyonlardaki artışın bir nedeni, beta-lactamlar gibi antibiyotiklere karşı dirençlilik yanında en yeni kazanımlardan olan vankomisin dirençliliği ile, şimdilerde kullanılan çoğu antibiyotiğe karşı direnç geliştirme kabiliyetidir (11). Vankomisin dirençliliği özel önem taşımaktadır, çünkü bu antibiyotik çoklu dirençli enterokokların tedavisi için son çare olarak düşünülmektedir (7, 8). Vankomisin-dirençli enterokoklar (VRE) ilk olarak Fransa'da ve İngiltere'de 1980'lerin sonunda insan infeksiyonlarında rapor edilmiştir, o zamandan beri VRE dünyanın her yerinde tanımlanmıştır (26, 23).

VRE, Avrupa'da çiftlik hayvanları ve hayvansal kaynaklı gıdalardan sıklıkla izole edilmiştir ve çeşitli raporlarda VRE'lerin varlığının hayvan yetiştiriciliğinde gelişim artırıcı olarak vankomisin-ilişkili glikopeptid avoparcin'in kullanımı ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (20, 25). Bu nedenle insanların VRE'ye maruzunu azaltmak için, avoparcin kullanımı 1995'de Danimarka ve Norveç'te, 1996'da Almanya'da ve 1997'de Avrupa Birliği ülkelerinde yasaklanmıştır (27). Antibiyotik dirençliliği, hem doğal (intrinsik) hem de kazanılan (nakledilebilir) dirençliliği kapsamaktadır. Doğal dirençliliğin örnekleri *E. gallinarum*'da vankomisin (*VanC* tip) dirençliliği, ve *E. faecalis*'te penisilin,sefalosporin,monobaktam,aminoglikosid (düşük seviyede), linkozamid (çoğunlukla), ve polimiksiniğin olduğu gibi streptograminlere dirençliliğidir.

Glikopeptidlere (vankomisin) dirençlilik gibi, ampisilin (özellikle *E. faecium*'da), tetrasiklin, makrolid, aminoglikosid (yüksek seviye), kloramfenikol, trimetoprim/sülfametoksazol, kinolon ve streptogramin'lere (*E. faecium* ve ilişkili türlerde) dirençlilik ise kazanılan dirençliliklerdir (1, 28).

Bu çalışma ile enterokokların hayvansal gıdalardaki varlığını ve dağılımını, yine izole edilen suşların tür düzeyinde identifikasyonları ile antibiyotik duyarlılık profillerini ortaya koymak amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

Enterokokların Tarihçesi

Enterococcus cinsi adı, ilk olarak 1903 yılında, Thiercelin ve Jouhaud tarafından barsak kaynaklı gram pozitif diplokoklar için kullanılmıştır. 1906 senesinde Andrewes ve Horder, endokardit hastalarından potansiyel patojen bakteri izole etmiş ve *Streptococcus faecalis* olarak isimlendirmişlerdir (4, 29, 30). Ardından Orla-Jensen fermentasyon özellikleri ile *Streptococcus faecalis*'ten ayrılan *Streptococcus faecium*'u, Sherman ve Wing ise *Streptococcus faecium*'dan daha düşük fermentasyon aktivitesine sahip olması ile ayrılan *S. durans*'ı tanımlamıştır. (31).

1933 yılında Lancefield streptokokları hücre duvarındaki C polisakkarit maddesine göre serogruplara ayırmış ve fekal kaynaklıları D serogrubu içerisine almıştır. Sherman ise 1937 yılında streptokokları enterokok (fekal streptokok), laktik, viridans ve piyojen olmak üzere dört gruba ayırmıştır (4, 29, 30). Diğer taraftan DNA: DNA ve DNA: rRNA hibridizasyon çalışmaları, modern klasifikasyon teknikleri, serolojik testler ve 16S rRNA sekans analizi sonucu streptokok cinsi kendi arasında streptokok, laktokok ve enterokoklar olarak üç gruba bölünmüştür (4, 32). İnsan ve hayvanların gastrointestinal yolu, bazı fermente gıdalar ve diğer yaşam alanları ile ilişkilendirilen fekal kaynaklı streptokoklar yeni bir cins olan *Enterococcus* olarak tanımlanmıştır ve *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium* sırasıyla *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* olarak adlandırılmaya başlanmıştır (4). Günümüzde *Enterococcus* cinsi içerisinde, en bilinenleri *E. faecalis* ve *E. faecium* olmak üzere, 53 tür bulunmaktadır (3).

Enterokokların Morfolojisi ve Kimyasal Özellikleri

Enterokoklar gram pozitif mikroorganizmalardır ve DNA'ları düşük (≤ 50 mol %) glisin ve sitozin(G+C) kompozisyonundadır (4, 9). Yaklaşık 1 μm büyüklüğünde oval şekilli, katalaz negatif koklardır. Sıvı besiyerinde ikili veya kısa zincir şeklindedirler. Sporsuz ve kapsülsüz bakterilerdir (29, 32). *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus* dışında hareksizdirler. *E. casseliflavus*, *E. mundtii*, *E. sulfureus*, *E. pallens* ve *E. gilvus* katı besiyerinde sarı pigment oluşturur kendileri renksizdir (1, 4). Fakültatif anaerob turlar, 10-45°C'de (optimum 37°C), pH 9,6'da, % 6,5 NaCl içeren ortamlarda ve % 40 safra varlığında üreme özellikleri vardır (4, 30). 60°C'de 30 dk canlı kalabilmekte ve eskülini

hidrolize edebilmektedirler (1, 17, 29). İstisna olarak *E. dispar*, *E. sulfureus*, *E. malodoratus*, *E. moraviensis* 45°C’de; *E. cecorum* ve *E. columbae* ise 10°C’de üreyemez. *E. avium*, *E. cecorum* ve *E. columbae* % 6,5 NaCl’lü ortamda zayıf üreme gösterir (1, 4). Bazı enterokok türleri ve farklı koşullar altında üreme özelliklerine ilişkin bilgiler Tablo-1’de verilmiştir (4).

Tablo- 1: Bazı enterokok türlerinin üreme özellikleri (4).

Tür	10°C	45°C	pH9,6	%6,5 NaCl	%40 safra	Eskülin hidrolizi	Grup D antijen
<i>E. asini</i>	(+)	(+)	S	-	+	+	+
<i>E. avium</i>	D	+	+	D	D/+	+	+
<i>E. casseliflavus</i>	+	+	+	D/+	+	+	+
<i>E. cecorum</i>	-	+	(+)	-	(+)	+	-
<i>E. columbae</i>	-	S	S	-	(+)	+	-
<i>E. dispar</i>	+	-	S	+/-	+	+	-
<i>E. durans</i>	+	+	+	+	+	+	(+)
<i>E. faecalis</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	+	+	+	+	+	+	D
<i>E. flavescens</i>	D/-	D/+	S	+	+	+	+
<i>E. gallinarum</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. gilvus</i>	+	+	S	+	+	+	+
<i>E. haemoperoxidus</i>	+	-	S	+	+	+	+
<i>E. hirae</i>	+	+	+	+	+	+	D
<i>E. malodoratus</i>	+	-	+	+	+	+	+
<i>E. moraviensis</i>	+	-	S	+	+	+	+
<i>E. mundtii</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. pallens</i>	+	+	S	+	+	+	+
<i>E. phoeniculicola</i>	S	S	S	-	-	S	S
<i>E. porcinus</i>	+	+	S	+	S	+	+
<i>E. pseudoavium</i>	+	+	+	+/-	D/+	+	-
<i>E. raffinosus</i>	(+)	+	+	+	D/+	+	S
<i>E. ratti</i>	+	+	S	+	S	+	(+)

<i>E. saccharolyticus</i>	+	+	S	(+)	+	+	-
<i>E. solitarius</i>	+	+	S	+	+	+	+
<i>E. sulfurens</i>	+	-	S	+	+	+	-
<i>E. villorum</i>	S	S	S	+	+	+	S

S saptanmamış,(+) zayıf pozitif, D değişken, + / - kaynaklarda farklı sonuçlar

E. cecorum, *E. columbae* ve *E. saccharolyticus* dışında kalan tüm türler L-pyrolidonyl beta naphthylamid (PYR) maddesini hidrolize ederler. Bu özellik enterokokları, vankomisin direnci nedeni ile karışabilecek *Leuconostoc* ve *Pediococcus* türlerinden, A grubu dışı streptokoklardan ayırt etmede önemlidir. Tüm türlerinde lösinaminopeptidaz (LAP) üretimi vardır (33). Kanlı agarda α - ve β -hemoliz yapanlar dışında, non-hemolitik türleri de mevcuttur (30).

Enterokokların diğer fakültatif anaerobik gram pozitif koklardan fenotipik karakteristiklerine göre ayrımları Tablo- 2’de verilmiştir (31).

Tablo- 2: Fakültatif anaerobik gram pozitif kokların fenotipik karakteristikleri (31).

Sınıfı	Gram Boyama	Fenotipik karakteristikleri							
		Van	Gas	Be	Pyr	Lap	NaCl	10°C	45°C
<i>Enterococcus</i>	zincir	S/R	-	+	+	+	+	+	+
<i>Leuconostoc/Weisella</i>	zincir	R	+	D+	-	-	D+	D-	D-
<i>Streptococcus</i>	zincir	S	-	-	-	+	D-	-	D-
<i>Pediococcus</i>	dizi/salkım	R	-	+	-	+	D-	-	D+
<i>Tetragenococcus</i>	dizi/salkım	S	-	+	-	+	+	-	+
<i>Aerococcus</i>	dizi/salkım	S	-	D+	D+	D-	+	-	D-
<i>Helococcus</i>	dizi/salkım	S	-	+	+	-	+	-	-
<i>Gemella</i>	zincir/dizi/salkım	S	-	-	+	+	-	-	-

S, duyarlı; R, dirençli; D, değişken. Van vankomisine direnç, Gas gaz oluşturma, Be eskülün hidrolizi, Pyr pyrolidonyl beta naphthylamid hidrolizi, Lap lösinaminopeptidaz üretimi

Enterokokların Teknolojik Özellikleri

Bakteriosin Üretimi

Bakteriosinler yakın ilişkili oldukları türlere karşı antagonistik etki gösteren, ribozomdan sentezlenen peptit ya da proteinlerdir. Bu nedenle gıdaların patojenlere karşı korunmasında özellikle tercih edilirler. Bakteriosinlerin gıda endüstrisinde kullanılması, kimyasal koruyucu madde miktarını düşürme ve yüksek ısı işlem gereken durumlarda azalma sağlar. Aynı zamanda taze tüketilen, tüketime hazır ve minimum işlem görmüş gıdaların güvenilirliğinin artmasını sağlarken, yeni gıdaların (düşük asit, tuz içerikli) ve doğal korunan besin değeri artırılmış gıdaların geliştirilmesinde rol oynar (34).

Bakteriosinler Class I (lantibiotik bakteriosin), Class II (küçük, lantibiyotik olmayan peptitler), Class III (siklik bakteriosin) ve Class IV bakteriosin (büyük proteinler) olarak dört ana gruba ayrılırlar (35, 36). Birçok enterokok türü 4-6 kDa büyüklüğünde, ısıya dayanıklı, katyonik, hidrofobik ve antibakteriyel peptit yapısında Class II bakteriosin üretir. Bu tip bakteriosinler 30-50 peptitten oluşup, gram pozitif bakterilere karşı inhibitör etki gösterir (37).

Enterokoklar tarafından üretilen bakteriosinler genellikle enterosin olarak adlandırılır (1, 38). Enterosin üretimi çoğunlukla *E. faecium*, *E. faecalis* ve *E. mundtii* tarafından olmakla beraber (38), son yıllarda yapılan çalışmalarda *E. hirae*, *E. durans*, *E. avium*, *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus*'un da enterosin ürettiği rapor edilmiştir (35). Enterokoklar tarafından üretilen enterosinler ve sınıflandırılmasına ilişkin bilgiler Tablo- 3'te sunulmaktadır (38). Enterosinlerin antimikrobiyal bileşenleri, sadece yakın ilişkili olduğu suşlara karşı değildir. *Listeria* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* spp. gibi gıda bozulmalarına sebep olan yada patojen bakterilere karşı da geniş spektrumlu inhibisyon etkisi vardır (39).

Tablo- 3: Enterokoklar tarafından üretilen enterosinler ve sınıflandırılması (38).

Class I	Üreten suş
Cyl L _L	<i>E. faecalis</i> DS16
Cyl L _S	<i>E. faecalis</i> DS16
Class II	
Enterocin A	<i>E. faecium</i> CT492

Enterocin CRL 35	<i>E. faecium</i> CRL35
Bacteriocin 31	<i>E. faecalis</i> Y1717
Enterocin P	<i>E. faecium</i> P 13
Class II	
Mundticin	<i>E. mundtii</i> AT06
Mundticin KS	<i>E. mundtii</i> AT06
Bacteriocin RC 714	<i>E. faecium</i> RC714
Enterocin SE-K4	<i>E. faecalis</i> K-4
Enterocin L50A	<i>E. faecium</i> L50
Enterocin L50B	<i>E. faecium</i> L50
Enterocin EJ97	<i>E. faecalis</i> EJ97
Enterocin Q	<i>E. faecium</i> L50
Enterocin RJ11	<i>E. faecalis</i> RJ11
Enterocin 1071A	<i>E. faecalis</i> BEF1071
Enterocin 1071B	<i>E. faecalis</i> BEF1071
Enterocin B	<i>E. faecium</i> T136
Class III	
Enterocin AS-48	<i>E. faecalis</i> S-48
Enterocin AS-48RJ	<i>E. faecalis</i> S-48
Class IV	
Enterolysin A	<i>E. faecalis</i> LMG2333

Proteoliz

Enterokokların proteolitik aktivitesi, özellikle süt kazeininin parçalanması ile peynirin olgunlaşması üzerinedir. Enterokokların kazeini proteoliz aktivitesi, suşlar arasında farklılık göstermektedir. Değişik tip peynirlerden izole edilen *E. faecium*, *E. faecalis* ve *E. durans* suşlarının yararlı ve yerinde proteolitik aktiviteye sahip oldukları bildirilmesine rağmen, genel olarak enterokokların proteinaz ve peptidaz aktiviteleri zayıftır. *E. faecalis* en yüksek aktiviteye sahip suştur (4, 9, 40). *E. durans* düşük aktivite gösterirken, en az proteoliz yapan suş *E. faecium*'dur (9).

Lipoliz ve Esteraz

Esterazlar bir çeşit enzimdir ve ester substratları üzerine sahip oldukları hidrolitik etkileri ile bilinirler. Peynir teknolojisinde enterokoklar süt yağını lipolize eder ve peynirde muhtemel lezzet oluşturan metilketon ve tiyolester gibi bileşikler meydana getiren yağ asitlerini yıkımlayarak aroma oluştururlar. Diğer taraftan lipoliz direkt olarak peynir reolojisi ile ilgili olmayıp gliseridler kısmen moleküler organizasyonu yönlendirir ve peynir tekstürünü etkiler. Enterokokların lipolitik aktiviteleri, proteolitik aktivitelerine

göre daha fazladır. Esterolitik aktiviteleri ise diğer laktik asit bakterilerinden daha fazladır ve enterokoklar arasında *E. faecium* en yüksek aktiviteye sahiptir (4, 40).

Sitrat Metabolizması

Sitrat metabolizması laktik asit bakterilerinin gıdaları fermente etmesinde önemli rol oynar. Sitrat substratı fazlasıyla okside ederken parçalanma esnasında oluşan NADH'yi indirgemez. Böylece laktik asitten farklı metabolik son ürünler ortaya çıkar. Bu ürünlerden bazıları arzu edilen aromayı oluşturan ve fermente gıdaların kalitesini etkileyen diasetil, asetaldehit, asetoin ve 2-3 butandiol'dür. Bunlara ek olarak sitratın yıkımlanması fermente gıdalarda tekstürü arttıran CO₂ oluşumuna da sebep olur (1, 4). Yapılan çalışmalarla *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans*'ın tek karbon kaynağı olarak sitrat ve pürivatı kullanma açısından farklılık gösterdiği ve aralarında en yüksek aktiviteye *E. faecalis*'in sahip olduğu ortaya konmuştur. *E. faecalis* FAIR-E 229 suşunun glukoz bulunmayan ortamlarda da sitratı metabolize edebildiği ve asetat, format, laktat, etanol ve asetoin oluşturduğu tespit edilmiştir (4, 40).

Probiyotik Olarak Kullanımları

Gıdalarda enterokokların varlığı fekal kontaminasyonu işaret etse de, son yıllarda sindirim sistemi mikroflorasının parçası olarak kabul edilmektedirler. Probiyotik bakteri olarak kullanımı başlamıştır (39). Enterokokal probiotikler genellikle gıdalarda kullanılan starter ve yan kültürlerden ayrı olarak kullanılırken, eczalık ürünlerinde ender olarak gıda katkıları formunda kullanılmaktadırlar. Çiftlik hayvanlarında da enterokokların probiyotik olarak gastrointestinal mikroflorayı etkileyen hastalıkların önlenmesinde ya da immun sistemin baskılandığı hallerde kullanımı söz konusudur. Aynı zamanda çiftlik hayvanlarının sindirim sisteminde kolonize olan zoonotik patojenlerin azaltılması ya da eliminasyonunu sağlarlar ve bu durum gıda güvenliği açısından büyük önem taşır. En çok bilinen ve muhtemelen en çok araştırılan probiyotik özellikteki enterokok suşu *E. faecium* SF68'dir. Bu suş özellikle ishal tedavisinde ve antibiyotik tedavisine alternatif olarak kullanılmaktadır. Suşun tedavideki etkinliği, sindirim sisteminin kommensal üyesi olması ve çok kısa lag fazı ve jenerasyon zamanına sahip olmasından kaynaklanmaktadır (41). Enterokoklar safra tuzlarını hidrolize (BSH) etme aktiviteleri sayesinde, serum kolesterol düzeyini etkiler. Bağlı BSH enzimi, safra tuzlarını ayırarak glisin ve taurini steroid

halkasındaki yan zincirden ayırır. Böylece bakteriyel BSH aktivitesi sonucu, aminoasit ve ayrılmış safra asidi içinde safra tuzları hidrolize edilir ve gastrointestinal sistemden salgılanarak kolesterolü düşürür (4, 41). Enterokoklar probiyotik olarak ishal tedavisi, serum kolesterol seviyesini düşürmenin yanı sıra, antibiyotik kullanımına bağlı ishallerde, kronik sinüzit ve bronşit tedavisinde immün sistem düzenleyicisi olarak da kullanılmaktadır (41, 42).

Dünyada duyarlı barsak sendromu, tekrarlayan kronik sinüzit ve bronşitin etkilerini hafifletmek için ilaç tedavisinde Cylactins (*E. faecium* SF68)(Hoffmann-La Roche, Basel, İsviçre), Fargo 688s (*E. faecium* PR88) (Quest International, Naarden, Hollanda), ECOFLOR (Walters Health Care, Den Haag, Hollanda), Symbioflor 1 (*E. faecalis*) (SymbioPharm, Herborn, Almanya) gibi canlı enterokok kültürü içeren ticari ürünler marketlerde satılmaktadır (43). Tüm bu olumlu özelliklerinin yanı sıra, enterokoklar GRAS (Generally recognized as safe-Güvenli kabul edilen bakteriler) statüsünde sayılmazlar. Enterokoklarda güvenlik ve fonksiyonallite ile ilgili özelliklerin suşa spesifik olmasından dolayı, probiyotik kullanımları suş bazında olmaktadır (44).

Biyojen Amin Oluşturma

Fermentasyonda rol alan ve aralarında laktik asit bakterilerinin de bulunduğu bir çok bakteri, biyojen amin oluşturma özelliğine sahiptir. Yüksek metabolik aktiviteleri sonucu aminoasit dekarboksilaz pozitif suşlar, özellikle et ve süt gibi proteinden zengin ortamlarda yüksek miktarda biyojen amin oluşturabilir (4).

Biyojen aminler düşük moleküler ağırlıkta nitrojenli bileşiklerdir ve aminoasit dekarboksilasyonu sonucu meydana gelirler. Biyojen aminleri kodlayan yollar, bazen plazmidte yer almakta ve bu da biyojen amin üretim geninin aktarımını kolaylaştırmaktadır. Enterokoklarda biyojen amin üretimi türe değil, suşa özeldir. Peynirden izole edilen *E. faecium* suşlarının %90'ı tiramin üretebilmektedir. Benzer sonuçlar *E. faecalis* ve *E. durans* için de rapor edilmiştir. Bu üç enterokok türü, çoğunlukla süt ürünlerinden izole edilmekte ve tiramin üretebilmektedir (45). Tiraminvazoaktif aminler sınıfındadır ve insanlarda arteriyal kan basıncında artış, periferik vazokonstriksiyon sonucu kalp atımında hızlanmaya sebep olabilir. Bunun sonucunda da bireylerin hipertansiyon krizine girmesine yol açar. Bu belirtilerin yanı sıra pupillada genişleme, tükürük salgısında artış, hızlı solunum ve kan şekeri düzeyinin artışına sebep olur (46).

Enterokokların Patogenezi

Enterokokların gıdada ve doğada varlıklarının yanı sıra hastane kaynaklı infeksiyonlarda adları sıklıkla anılmakta ve emerging patojen olarak düşünülmektedirler (47). Antibiyotiklere direnç kazanmaya ve sahip oldukları antibiyotik direncini ifade etmeye doğal eğilimleri yüksektir. Buna ilave olarak antibiyotik dirençli enterokokların geliştirdikleri antibiyotik seçimine dayanan yetenekleri, nosokomiyal infeksiyonları ve gastrointestinal kolonizasyonu arttırmaktadır (48). Dünyada nosokomiyal patojenler arasında en yaygınları arasındadır. Gösterdikleri çoklu antibiyotik direnci sonucu bakteriyemi, üriner sistem, merkezi sinir sistemi, karın içi ve pelvik infeksiyonlarına sebep olurlar. Bununla birlikte önemli endokardit etkenleri arasındadırlar. Birçok virulens faktörüne sahip olması ve en önemlisi, prevalansı giderek artan vankomisin dirençliliği ile birlikte, çeşitli antibiyotiklere karşı direnç göstermeleri patogenezlerinde önemli rol oynar (1).

Antibiyotik Direnci

Enterokoklar genellikle hastalıklara sebep olmayan bakterilerdir. Fakat antibiyotik direnç geni taşıyıcısı olmaları ve bu genleri diğer patojen bakterilere aktarabilme özelliğine sahip olmalarından dolayı dünya çapında halk sağlığı açısından büyük problem teşkil ederler (49). Gram pozitif mikroorganizmaların duyarlı olduğu birçok mikrobiyal ajana kısmen veya tamamen direnç gösterirler. Hiçbir antibiyotik enterokoklara karşı tek başına bakterisid etkiye sahip değildir (50). Antibiyotik direnci gelişimi, doğal (kromozomal) ya da kazanılmıştır. Doğal (kromozomal) direnç türe özgüdür ve penisilin, sefalosporin, linkozamid, trimetoprim-sulfometaksazol, kinopristin-dalfopristin ve aminoglikozit (düşük düzeyde) türü antibiyotikleredir. Kazanılmış direnç ise, genellikle bir DNA mutasyonu ya da yeni bir DNA segmentinin plasmid ya da transposonlarla (mobil genetik elementler) transferi sonucunda gelişir ve bu transferden konjugasyon mekanizması sorumludur. Kazanılmış direnç glukopeptitlere (vankomisin, teikoplanin), aminoglikozitlere (yüksek düzey) ve beta-laktam antibiyotikleredir (33).

β -Laktam direnci

Enterokoklar, β -laktam antibiyotiklere karşı karakteristik tolerans gösterir. Bu da klinik infeksiyonlarda tedavi dozunda, minimum bakterisidal konsantrasyonun minimum inhibitör konsantrasyona oranının (MBK/MIK) 1/32'nin üstünde olmasıdır. Bu sebeple β -laktam antibiyotikler, enterokoklara karşı bakterisidal değil bakterostatik etkilidir. *E. faecium* suşlarında penisilin direnci, *E. faecalis*'e oranla daha sık ortaya çıkmaktadır. Ampisilin direnci ise *E. faecium* suşlarının %85-90'ında, *E. faecalis* suşlarının ise %2-3'ünde görülmektedir (51).

Aminoglikozit Direnci

Aminoglikozitlere karşı direnç iki farklı mekanizma ile ortaya çıkmaktadır. İlki ılımlı seviye (MIK 62-500 $\mu\text{g/ml}$) dirençtir ve genellikle düşük permeabiliteden dolayı gelişir. İkincisi ise yüksek seviye (MIK >2000 $\mu\text{g/ml}$) direnç olup; aminoglikozitlerin ribozomdaki bağlanma bölgelerindeki değişiklik sonucu veya aminoglikozitleri inaktive eden enzimlerin sentezi sonucu oluşur. Enterokoklarda gentamisin ve streptomisine karşı direnç farklı mekanizmalarla olduğundan, duyarlılık testlerinde bu ajanların ikisinin de kullanılması önemlidir (51).

Kloramfenikol Direnci

Enterokokların %20-42'si kloramfenikole dirençlidir ve dirençten sorumlu esas mekanizma, plazmid üzerinde “*cat*” geni ile kodlanan kloramfenikol asetil transferaz üretimidir (51).

Tetrasiklin Direnci

Tetrasiklin direnci enterokoklarda konjugasyon sonucu oluşan direncin en tipik örneğidir ve sorumlusu *tetM*, *tetQ*, *tetN*, *tetL* gibi genlerdir. Bu genler efluks sistemini kodlayabildiği gibi, ribozomal kaynaklı dirence de sebep olabilir (51).

Kinolon Direnci

Direnç *gyrA* (giraz) ve *parC* (topoizomeraz) genlerindeki mutasyona bağılı gelişir. Enterokokal suşların çoğunluğu, kinolonlara orta düzeydeduyarlılık veya direnç gösterir (51).

Linezolid Direnci

Uzun yıllardır çoklu ilaç direnci gösteren enterokokların oluşturduğu infeksiyonlarda linezolid kullanılmakta iken 2002 yılında ilk linezolid direnci rapor edilmiştir. Linezolid direncinden 23S rRNA'nın V domaininde meydana gelen mutasyonlar sorumlu tutulmaktadır (51).

Vankomisin Direnci

Kazanılmış antibiyotik direnci kapsamında vankomisin direnci, çoklu dirençli enterokoklara karşı kullanılan son çare antibiyotiğin vankomisin olması sebebiyle önemlidir (7).

Vankomisin dirençli enterokoklar (VRE) ilk olarak 1987-88 yıllarında İngiltere ve Fransa'da tanımlanmıştır (52, 53). Kanatlı ve domuz yetiştiriciliğinde gıda katkısı olarak avoparcin kullanımı ile, hayvan ve insanların intestinal sistemlerindeki VRE varlığı arasındaki ilişkiden şüphelenilmiş ve araştırmacılar VRE'nin insan izolatları ile çevre, gıda ve hayvan izolatlarının birbirinden ayıramayacağını ve VRE'nin hayvanlardan insanlara gıda zinciri yolu ile geçebileceğini belirtmişlerdir (54, 55).

VRE nosokomiyal infeksiyonlarda dünyada üçüncü en yaygın patojenlerdir. *E. faecalis* %80 prevalans ile baskındır ve onu *E. faecium* (%15-20) takip etmektedir. Fakat son yıllarda *E. faecium* kazandığı antimikrobiyal direnç ile öne çıkmaya başlamıştır (56).

E. faecalis ve *E. faecium*'un yanında hayvansal gıdalardan sıklıkla izole edilen *E. durans*, *E. gallinarum* ve *E. avium*'un antibiyotiklere direnci de önemlidir. Vankomisin dirençli *E. avium* nadir seyretmekle birlikte, insanlarda meningoensefalit (57), serebellar apse (58), sistit ve pankreasta pseudokist (59) meydana getirdiği çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Vankomisin dirençli *E. gallinarum*'un ise endokardit (60) ve immun sistemi baskılanmış bireylerde çeşitli infeksiyonlara sebep olduğu bildirilmiştir (61, 62). *E. durans*'ın endokardite sebep olduğunu belirten raporlar bulunmaktadır (63).

Vankomisin direncinin fenotiplendirmesinde, son yıllara kadar altı fenotipin adı geçerken 2010 yılı sonrası kaynaklarda yedinci direnç fenotipinden bahsedilmeye başlanmıştır (48).

Uzun yıllardır bilinen altı direnç fenotipinin özelliklerine göz atıldığında; bunlardan beşi (*vanA*, *vanB*, *vanD*, *vanE*, *vanG*) gen aktarımı yoluyla kazanılmış dirençlilik iken, *vanC* fenotipi *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus*'ta doğal (kromozomal) olarak bulunmaktadır (1, 64). Vankomisin direncinde tüm fenotipler, peptidoglikan pentapeptit öncüsü üreterek terminal uç olan D-alanyl-D-alanine ucunu değişiklik meydana getirmekte ve böylece glukopeptidlerin bağlanma noktaları değişmekte ve bu antibiyotiğe karşı direnç meydana gelmektedir. Bu değişiklik *vanA*, *vanB*, *vanD* fenotipi dirençte D-alanyl-D-lactate şeklinde olurken, *vanC*, *vanE*, *vanG* fenotipinde D-alanyl-D-serine olarak gerçekleşir. Peptidoglikan yapıdaki bu önemli değişimler, tek bir genin aktarımı ile kazanılmış değildir. Her bir direnç tipi, kompleks bir gen dizilimi ile ilgilidir. *VanA* direnç dizisi, dokuz genden oluşan transpozon Tn1546'da bulunmaktadır ve transpozisyon, regulasyon ve direncin ekspresyonundan sorumludur (65).

Yeni direnç fenotipi olan *vanL* tipi direnç, şimdiye kadar sadece *E. faecalis*'te tanımlanmıştır. *VanL* fenotipinin özellikleri incelendiğinde; vankomisin MİK değeri 8 µg/ml olarak tespit edilmiş olup konjugasyon özelliğine sahip olmadığı, kromazoma lokalize olduğu ve ligaz enziminin hedefini D-alanyl-D-serine olarak değiştirme özelliğine sahip olduğu ortaya konmuştur (48).

VanA tipi dirençte, indüklenebilir yüksek seviyede vankomisin (MİK ≥ 64 µg/ml) ve teikoplanin direnci (MİK ≥ 16 µg/ml) görülmektedir. *VanB* tipi dirençte ise; vankomisine daha ılımlı seviyede indüklenebilir direnç (vankomisin MİK ≥ 32-64 µg/ml) görülürken, teikoplanine duyarlılık devam etmektedir. *VanA* direnç determinantları, tüm enterokok izolatları arasında transfer edilebilen büyük mobil bir elementte yerleşmişken, *VanB* sadece *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarında görülür. *VanC* tipi direnç ise *E. casseliflavus* ve *E. gallinarum*'da tanımlanmıştır ve intrinsik düşük seviyede vankomisin direnci (MİK ≥ 4-32 µg/ml) ve teikoplanine duyarlılık görülmektedir (1, 51).

Enterokoklarda vankomisin direncinin önemi, direncin diğer bakterilere veya patojen olmayan suşlara aktarılabilirdiğinin çeşitli çalışmalarla ortaya konmuş olmasındandır. Japonya'da Sakai ve arkadaşlarının (66) yaptığı bir çalışma, insan kaynaklı VRE'nin kanatlılara nakledilebileceğini ortaya koymuştur. Cocconcelli ve arkadaşlarının (67)in vitro ve gıda modelinde (peynir, fermente sosis) ayrı ayrı yaptıkları çalışmalarda, *vanA* dirence sahip klinik *E. faecalis* izolatının antibiyotik dirençliliğini, iki ortamda da transfer ettiği

ortaya konmuştur. En yüksek konjugasyon ise, fermente sosisin olgunlaşması esnasında tespit edilmiştir. Modelleme yapılan peynir ve sosis olgunlaşması örneklerinin ikisinde de, transfer edilen konjugasyon maddeleri 24 saatte tespit edilmişlerdir.

Dünyada ve Türkiye’de çeşitli gıdalardan VRE izolasyonu söz konusudur. Türkiye’de Güney Marmara Bölgesini kapsayan bir çalışmada (68) hayvansal gıdalarda VRE insidensi %4.4 bulunmuştur. Koluman ve arkadaşlarının (47) yaptığı başka bir çalışmada ise 200 gıda örneğinde 4 adet VRE izole edilmiştir. Dünyada ise İtalya (20, 54), Kore (27), Belçika (69), İspanya (26), Brezilya (70) ve Amerika’da (71) yapılan çalışmalarda çeşitli gıdalarda VRE varlığı ortaya konmuştur.

Vankomisin dirençli enterokların aynı zamanda direnç genlerini diğer patojen bakterilere aktardığını gösteren çalışmalarda bulunmaktadır. Bu çalışmalara göz atıldığında *E. faecalis*’in *vanA* fenotipi vankomisin dirençlilik genini *Staphylococcus aureus*’a aktarması sonucu, hastane infeksiyonlarında vankomisin dirençli *S. aureus* (VRSA) vakaları rapor edildiği (55, 72) ve benzer şekilde enterokokların yüksek düzey vankomisin ve teikoplanin direnci oluşturan *vanA* fenotipini, transpozon Tn1546 aracılığıyla *Listeria* türlerine (73) aktardığı çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir.

Virulens Faktörleri

Etkenin antibiyotik direnci ve virulensle ilişkili yeni genetik materyal kazanabilme özelliği patojenitesini artırır ve nosokomiyal infeksiyonlarda konakta farklı bölgelere kolonizasyonuna ve alışılmışın dışında infeksiyon oluşturmaya yardımcı olur. Kolay genetik bilgi tranfer özelliği yanı sıra, enterokoklar birçok farklı virulens faktörüne de sahiptirler (51).

Enterokoklarda ilk ortaya çıkan virulens faktörü post translasyonel modifiye toksinprotein yapısında olan sitolizindir (*cyl*). Kanda eritrositlerde β -hemolize sebep olur ve birçok gram pozitif bakteriye karşı bakterisit etki oluşturur (74). *E. faecalis* tarafından sentezlenen endokardit antijeni (*efaA*), enterokokların en önemli patojenite unsurlarından biridir ve endokardit meydana getirir (75). Diğer bir virulens faktörü olan jelatinaz (*gel*), hücre dışı endopeptidazdır ve kollajen, jelatin, hemogloblin ve diğer biyoaktif bileşenleri hidrolize eder. Bu özellik endokart semptomlarını şiddetlendirir (76). Jelatinaz sıklıkla klinik izolatlarla ilişkilendirilmesine karşın, süt ürünleri ve etten izole edilen enteroklarda da üretildiği rapor edilmiştir (77)

Aggregasyon maddesi (*agg*) feromon indükleyen yüzey proteini ve bakteriyel birleşme ve plazmid aktarımı esnasında toplanma ve eşleşmeyi arttırır. İn vitro olarak enterokokların böbrek epitelyum hücreleri ya da nötrofil gibi çeşitli ökaryotik hücre yüzeylerine bağlanma yeteneğini arttırır. Enterokokal yüzey proteini (*esp*), adından da anlaşıldığı üzere, hücre yüzeyi proteini. Klinik izolatlar ve salgın klonlarında fazla miktarda bulunur ve üriner sistemde kolonizasyon ile ilişkilendirilir. Enterokokal yüzey proteini aynı zamanda biyofilm oluşumunda da rol alır (78). Kollajen bağlayan proteinin (*ace*) ise, enteroklarda yapışmayı sağladığı rapor edilmiştir (79).

Enterokokların İnsanlarda Meydana Getirdiği İnfeksiyonlar

Üriner Sistem İnfeksiyonları

Enterokokların yol açtığı infeksiyonların en sık görülenidir ve kaynağını idrar kültürleri oluşturmaktadır. Üriner sistem infeksiyonlarının çoğu nosokomiyaldir ve çoğunlukla üriner kataterizasyon ile birlikte bulunur. Hastanede yatmayan genç ve sağlıklı kadınlarda görülen komplike olmamış sistit ve üriner sistem enfeksiyonlarının %5'inden azının etkenidir (80).

Endokardit

Enterokoklar viridens streptokoklar ve *S. aureus*'tan sonra üçüncü en sık rastlanan endokardit etkenidir ve bakteriyel endokarditlerin %5-15'ini oluşturur. 50 yaş üzeri bireylerde ve özellikle erkeklerde daha sık ortaya çıkar. Etken çoğunlukla *E. faecalis*'tir. Hastalık cerrahi yolla ya da manipülasyonlarla gastrointestinal sistemden veya çoğunluklada genitoüriner bölgeye tıbbi girişim uygulamasından kaynaklanır. En sık aort ve mitral kapak tutulur. Enterokoklar genellikle subakut bakteriyel endokardit meydana getirirler (80).

Bakteriyemi

Enterokok kaynaklı bakteriyemi endokardit vakalarından daha sık görülmektedir ve insidensi hızla artmaktadır. Nozokomiyal enterokok bakteriyemileri genellikle polimikrobiyaldir ve üriner sistem ve karın içi infeksiyonlardan kaynaklanır (80).

Karın İçi ve Pelvik İnfeksiyonları

Karın içi ve pelvik infeksiyonlarında enterokoklar çoğunlukla miks aerob ve anaerob floranın parçası olarak bulunur. Ancak bu infeksiyonlardaki rolü tartışmalıdır (80).

Yara ve Yumuşak Doku İnfeksiyonları

Nadiren selülit ve diğer derin doku infeksiyonlarına yol açarlar. Sıklıkla cerrahi yara infeksiyonları, dekübitüs ülserleri ve diyabetik ayak infeksiyonlarında alınan klinik örneklerden gram negatif basil ve anaerob bakteriler ile birlikte izole edilirler (80).

Menenjit

Enterokok menenjitleri genellikle santral sinir sisteminde anatomik bir defekt, önceden geçirilmiş beyin ameliyatı ya da kafa travması gibi predispozan faktörlerin varlığında ortaya çıkar. Ayrıca bakteriyemi düzeyi yüksek olan endokardit ve neonatal sepsisli hastalarda, AIDS ve akut lösemi gibi immün sistemi baskılanmış hastalarda bazen enterokoklara bağlı menenjitler görülebilmektedir. Neonatal dönem dışında enterokokal menenjit nadir görülmekte ve bu dönemde olgular genellikle epidemiler şeklinde ortaya çıkmaktadır (80).

Pediyatrik İnfeksiyonlar

Bakteriyolojik olarak konfirme edilmiş neonatal sepsis ve menenjit olgularının %13'ünde enterokokların etken olduğu bildirilmiştir (80).

Enterokokların Epidemiyolojisi

Enterokoklar toprak, yüzey suları, okyanus suyu, atık sular, bitkiler, insan ve hayvanların gastrointestinal sistemi gibi çok farklı yaşam alanlarında bulunur. Gastrointestinal kaynaklı olmalarına rağmen enterokoklar çiğ, fermente ve pişmiş ette ve peynir gibi hayvansal kaynaklı gıdalardan izole edilmektedir. Gastrointestinal sistemdeki enterokoklar arasında *E.faecalis* ortamda en fazla bulunur. Diğer taraftan bazı ülkelerdeki bireylerde *E.faecium* dominant florayı oluşturmaktadır. *E. faecalis* insan dışkıсында 10^5 - 10^7 kob/g, *E. faecium* ise 10^4 - 10^5 kob/g seviyelerinde bulunmaktadır. *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. hirae* ve *E. cecorum* inek, koyun ve kümes hayvanlarının gastrointestinal sisteminde bulunan türlerdir. Çiftlik hayvanlarının mide barsak florasındaki enterokok varlığı, koyun ve inek sütlerinde ya da kesim esnasında ette potansiyel kontaminasyonu işaret etmektedir. Bu yolla taze et ve çiğ süttten enterokok izole edilmektedir (4, 41). *E. mundtii* ve *E. casseliflavus* bitkisel kaynaklı enterokoklar arasında yer alır(4, 81).

Gıda kaynaklı zehirlenmelerde de enterokoklar rol oynayabilmektedir ve bunların fekal kontaminasyon indikatörü oldukları bildirilmektedir. Enterokoklar insan dışkıсында, özellikle *Escherichia coli*'yle karşılaştırıldığında, daha az sayıda bulunmalarına ve daha az üremelerine rağmen, koliformlardan daha uzun süre canlıklarını korurlar (40).

Sularda enterik patojenleri işaret ederek çevresel fekal kontaminasyonun varlığını gösterirler ve bu indikatör özellikleri tüm dünyada tanınmaktadır (82, 83).

Ayrıca nekrotik ya da iyi doldurulmamış dış kökü kanalları da özellikle *E. fecalis*'in doğal yaşam alanları arasındadır. Dış köküdeki enterokok varlığını açıklayan iki teori bulunmaktadır. Bunlardan ilki, enterokokların dış kanalının primer kolonizeri olduğu ve dolgu tedavisinde canlılığını koruduğudur. Diğer teori ise, enterokokların korona tabakasının fırsatçı istilacısı olduğu ve dış tedavisi sırasında dış kökü kanalına yerleştiğidir (84).

Enterokokların Gıdalarda Varlığı

Süt ve Süt Ürünleri

Enterokoklar çiğ ve pastörize sütün mikroflorası içinde yer alır. Sütteki varlıkları direkt insan ve hayvanların dışkısı yoluyla olabildiği gibi, kontamine sularla temizlenen

alet ekipmandan da kaynaklanabilmektedir. Psikrotrof olmaları, ısıya dayanıklılıkları ve farklı substratlara, üreme koşullarına uyumları sayesinde enterokoklar sütün depolanması esnasında gelişimini sürdürür ve pastörizasyon sonrası canlı kalabilir (85).

Enterokoklar koyun, keçi ve inek sütlerinden yapılan çok çeşitli yerel peynirlerde starter olmayan laktik asit bakterisi olarak bulunur. Çiğ ve pastörize sütte yapılan peynirlerde miktarı sütün kontaminasyon oranına, peynirin tipine, kullanılan startere, üretim teknolojisine ve peynirin üretimi ve olgunlaşmasında kullanılan spesifik koşullara göre değişir (85). Peynirlerden en fazla *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans* türlerine ait suşlar izole edilmektedir. Enterokoklar peynirde yüksek tuz içeriği, düşük pH gibi sınırlayıcı ortamlarda gelişebilir ve olgunlaşmada rol oynar, proteolitik ve esterolitik aktivitesi sonucu oluşturduğu ürünlerle ve sitratı metabolize etmesi sonucu ürettiği diasetil ile aroma gelişimini sağlar (4, 85, 86). Peynir pıhtısında 10^4 - 10^6 kob/g, tam olgunlaşmış peynirde ise 10^5 - 10^7 kob/g düzeylerinde bulunur (85-87). *E. faecalis* ve *E. faecium*'un süt içerisinde ve peynirde gelişimi esnasında antilisterial bakteriosin ürettiği ortaya konmuştur. Bu suşların *Listeria monocytogenes*'in hayatta kalabilmesine olanak sağlayan üretim ve olgunlaşma koşulları uygulanan peynirlerde (Camambert, Taleggio, Mozzarella, Mexican manchego ve Chihuahua gibi peynirler) starter ya da yan kültür olarak kullanılmaları büyük teknolojik önem taşımaktadır (88).

Et ve Et Ürünleri

Enterokoklar et, süt gibi hayvansal kaynaklı çiğ gıdalarda intestinal ya da çevresel yolla kolonize olabilir, canlılığını sürdürebilir, hatta fermentasyon esnasında çoğalabilirler. Enterokoklar diğer laktik asit bakterileri gibi, ısıya dirençleri sayesinde hayatta kalarak pişmiş ya da işlenmiş etlerde bozulmaya sebep olan bakteriler olarak tanımlanır. Fermente et ürünlerinde dominant mikroflora *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum* gibi laktik asit bakterileri ve koagülaz negatif stafilokoklardan oluşmaktadır. Enterokoklardan ise *E. faecalis* ve özellikle *E. faecium* et fermentasyonu sırasında oldukça yüksek miktarlarda bulunur. Olgunlaşma sırasındaki varlıkları, geniş üreme aralığına sahip olmaları ve tuza karşı gösterdikleri yüksek toleransla ilişkilendirilmektedir (89).

Enterokoklar kontamine kanatlı, sığır ve domuz etinde 10^2 - 10^4 kob/g düzeyinde bulunur. Fermente et ürünlerinde ise, Yunanistan'da yapılan bir çalışmada, doğal fermente sosislerin enterokoklarla kontaminasyon düzeyi son üründe ortalama 10^2 - 10^3 kob/g olarak

tespit edilmiştir (89). İşlenmiş etlerde enterokok varlığı kontaminasyonunu gösterirken, fermente etlerde ise fermentasyon bakterilerinin gelişiminin zayıf olduğunun göstergesidir(90).

Su ve Su Ürünleri

Enterokok türleri *E.coli* ile birlikte önemli indikatör bakteriler arasında yer almaktadır (49). Atık sular, deniz suyu, saf su, su kültürleri gibi farklı su kaynaklı yaşam alanlarında bulunabilirler. Yüksek tuz konsantrasyonuna dirençleri sayesinde enterokoklar deniz sularında uzun süre canlılığını sürdürebilirler. Aynı zamanda su kabuklularından ve entegre balık çiftliklerinde yetiştirilen balıkların intestinal sisteminden de izole edilmişlerdir. Başta *E. faecalis* ve *E. faecium* olmak üzere enterokokların Himalayalar'da geleneksel yollarla işlenen balık ürünlerinde, pişmiş ve salamurası yapılmış İskandinav karidesinin bozulmasına yol açan mikroorganizmaların arasında yer aldığı, bunlarla birlikte pişmiş tropikal karideslerde de bulunduğu rapor edilmiştir (91). Türkiye'de balık ve su ürünlerinde enterokok varlığı üzerine yapılan çalışmalara göz atıldığında, Savaşan ve arkadaşlarının (92) gerçekleştirdiği çalışmada balıklarda *E. faecalis* varlığı ortaya konmuştur. Keban Baraj Gölünden avlanan ıstakozların mikrobiyolojik kalitesini belirlemek üzere yapılan başka bir çalışmada ise, ıstakozlarda enterokok kontaminasyonu belirlenmiştir (93).

E. faecalis, *E. faecium* ve *E. durans* türleri dışkı kaynaklı olmaları ve suda üreyebilme yeteneklerinden dolayı fekal kontaminasyonun göstergesi olarak tanımlanırlar (94). Bu özellikleri sebebiyle Türkiye'de Sağlık Bakanlığı tarafından yayınlanan "İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik" kapsamında içme, kullanma ve kaynak sularında enterokokların bulunmasına izin verilmemiştir (95). Fakat çeşitli araştırmalar göstermektedir ki ülkemizde sularda enterokok kontaminasyonu halen varlığını sürdürmektedir. Alemdar ve arkadaşları tarafından (96) yapılan çalışmada incelenen içme suyu örneklerinin %30'unda enterokok kontaminasyonu olduğu rapor edilmiştir. Oryaşın (97) ise Büyük Menderes Nehri suyunda 6 adet *E. faecium*, 1 adet *E. gallinarum*; Nazilli su arıtma tesisinden 6 adet *E. faecium*, 2 adet *E. gallinarum*, 1 adet *E. faecalis*; Ilıca sıcak su kaynağından 4 adet *E. gallinarum*, 7 adet *E. faecium*, 2 adet *E. avium*; Kızıldere/Sarayköy sıcak su kaynağından 1 adet *E. durans*, 1 adet *E. faecium* izole ve tanımlanmıştır. Matyar ve arkadaşları (98), İskenderun Körfezi kıyısından aldıkları su örneklerinin 158 adetinde *E. faecalis* tespit etmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Gereç

Güney Marmara bölgesinin çeşitli illerindeki (Bursa, Yalova, Balıkesir) farklı perakende satış yerlerinden Nisan - Aralık 2011 tarihleri arasında süt (pastörize, çiğ) ve süt ürünü [süt (20), peynir (85), yoğurt (15), tereyağ (15), kefir (15)], et ve et ürünü [parça et (30), kıyma (30), köfte (25), sucuk (25), pastırma (20), salam-sosis (20)], tavuk eti (65) (but, göğüs, baget gibi tavuk karkas kısımları) ve işlenmiş kanatlı eti ürünlerinden (10) (piliç burger, piliç köfte, nugget, şinitzel) oluşan 375 adet gıda örneği tesadüfi örnekleme yoluyla bir kısmı orijinal ambalajında (pastörize süt, peynir, kefir, yoğurt, sucuk, salam-sosis, tavuk eti, piliç burger, piliç köfte, nugget, şinitzel), bir kısmı 250 gr'lık porsiyonlar halinde (çiğ süt, peynir, tereyağ, parça et, kıyma, köfte, pastırma, tavuk eti, şinitzel, nugget) satış birimi tarafından tartılarak ve paketlenerek satın alındı. Alınan her bir örnek, soğuk zincir altında en kısa sürede laboratuara getirildi ve analizleri gerçekleştirildi.

Yöntem

Enterokokların İzolasyon ve İdentifikasyonu

Gıda örneklerinden enterokokların izolasyonu için, her bir üründen 10 g/ml'lik porsiyonlar alındı ve örnekler 90 ml % 0.1'lik peptonlu su içerisinde 2 dakika süreyle stomacherde (Seward stomacher, model 400 circulator) homojenize edildi. Hazırlanan homojenat kullanılmak suretiyle örneklerin seri dilüsyonları hazırlandı ve uygun dilüsyonlardan Slanetz and Bartley Agar (Oxoid CM377) plaklarına yayma plak tekniğiyle ekimler gerçekleştirildi. Plaklar 35°C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakıldı ve bu süre sonunda Slanetz and Bartley Agar'da üreyen pembe veya koyu kırmızı renkli koloniler *Enterococcus* şüpheli koloniler olarak değerlendirildi. Slanetz and Bartley Agar'da gelişen şüpheli koloniler katalaz reaksiyonu yönünden test edildi. Katalaz negatif olanlar Brain Heart Infusion (BHI) Broth'a (Oxoid CM225B) subkültüre edildi, 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı ve üreyen kültürlerden Gram boyama yapıldı. Gram pozitif ve katalaz negatif kokların Bile Esculin Agar'a (BD299068) ekimi yapıldı, 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edildi. Eskülini hidrolize ederek siyah koloni oluşturanlardan öze ile

defibrine koyun kanı (Oxoid SR0051B) ile hazırlanmış Blood Agar'a (Merck 1.10886.0500) subkültürü yapıldı. 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edildi ve PYR testi (O.B.I.S. PYR ID580M) ile L-pyrrolidonyl arylamidase (PYRaz) aktivitelerine bakıldı. Pozitif reaksiyon verenler MRS (De Man Rogosa Sharpe) Broth'da (Oxoid CM359B) 10°C ve 45°C'de, % 6.5 NaCl içeren MRS Broth'da, ve pH 9.6'ya ayarlanmış MRS Broth'da 72 saatlik inkübasyon sonunda gelişimleri yönünden incelendi. 10°C, 45°C, % 6.5 NaCl içeren besi yerinde ve pH 9,6'da üreme gösterenler *Enterococcus* spp. olarak değerlendirildi (99). İzole edilen enterokoklar defibrine koyun kanı (Oxoid SR0051B) ile hazırlanmış Blood Agar'a (Merck 1.10886.0500) subkültüre edildi, 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı ve üretici firmanın talimatları doğrultusunda API 20 STREP (BioMerieux) bakteri tanımlama sistemi kullanılarak tür seviyesinde fenotipik olarak identifiye edildi. İzolatlar % 30 gliserol içeren Brain Heart Infusion (BHI) Broth'da (Oxoid CM225B) – 80°C'de muhafaza edildi.

Gram Boyama: BHI broth'da 37°C'de 24 saatlik kültürden öze yardımıyla bir lam üzerine yeteri kadar alınarak hafif alevde kurutuldu. Suşlar kuruduktan sonra Gram Boyama Seti (Merck, 1.11885.0001) talimatları doğrultusunda boyandı.

Katalaz Testi: Slanetz and Bartley Agar'da üreyen pembe veya koyu kırmızı renkli enterokok şüpheli kolonilerin üzerine bir damla ID color Catalase (BioMerieux 55 561) solüsyonu damlatıldı. Birkaç saniye sonra köpük benzeri gaz oluşmaması, katalaz negatif olarak değerlendirildi.

PYR Testi: Blood Agar'da gelişen 0.5 mm ya da daha fazla büyüklükteki şüpheli koloniler O.B.I.S. PYR ID580M (Oxoid) test kiti talimatlarına uygun olarak, öze ile alınarak test kartonunun üzerine yayıldı. Bir damla Buffer solüsyonu damlatılarak oda ısısında 5 dakika beklendikten sonra, 1 damla Developing solüsyonu ilave edildi. Test alanında 20 saniye içerisinde mor renk oluşumu, PYRaz aktivitesi yönünden pozitif olarak değerlendirildi.

API 20 STREP: İnkübasyon kutusu içerisi 5 ml steril distile su ile nemlendirildi, ardından API 20 STREP (BioMerieux, Ref 20 600) stribi kutunun içerisine yerleştirildi. Blood Agar'da gelişen kolonilerden steril öze ile alınarak API Suspension Medium Mac Farland 4'e ayarlandı ve mikropipet yardımıyla stribin sodyum piruvat (VP), hippurik asit (HIP), eskülinferik sitrat (ESC), pyroglutamik asit-β-naftilamid (PYRA), 6-bromo-2-naftil-αD-

galaktopiranosid (α GAL), naftol ASBI-glukuronik asit (β GUR), 2-naftil- β D-galaktopiranosid (β GAL), 2-naftil fosfat (PAL), L-lösin- β -naftilamid (LAP) kuyucuklarına 100 μ l, L-arginin (ADH) kuyucuğuna ise haznesini dolduracak kadar API Suspension Medium eklendi. Suspension Medium'dan 0,5 ml GP Medium'a aktarıldı ve iyice karışması sağlandı. D-riboz (RIB), L-arabinoz (ARA), D-mannitol (MAN), D-sorbitol (SOR), D-laktoz (LAC), D-trehaloz (TRE), inulin (INU), D-raffinoz (RAF), nişasta (AMD), glikojen (GLYG) bölmelerine GP Medium her bölmenin haznesini dolduracak kadar eklendi. ADH'dan GLYG'ye kadar olan tüm kuyucuklara mineral oil damlatılarak anaerob ortam sağlandı. İnkübasyon kutusunun kapağı kapatılarak 35-37°C'de ADH'dan GLYG'ye kadar olan kısmın 4 ve 24 saatlik inkübasyon sonuçları, API 20 STREP test kağıdına not edildi. 24 saatin sonunda VP kuyucuğuna VP 1 ve 2 reagentleri, HIP kuyucuğuna NIN reagenti, PYRA'dan LAP'a kadar olan kuyucuklara ZYME A ve B reagentleri damlatıldı. 10 dakikalık bekleme süresi bitiminde, veriler API 20 STREP test kağıdına not edildi. Sonuçlar API WEB yazılımı kullanılarak değerlendirildi.

Enterokokların Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Enterokok izolatlarının antibiyotik duyarlılık testleri, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, former NCCLS)'nün önerileri doğrultusunda disk diffüzyon tekniği ile gerçekleştirildi. Tüm suşlar koyun kanlı agara inokule edildi ve 37°C'de 18-24 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyonu takiben tek düşen kolonilerden Mueller-Hinton Broth'a (MHB, Oxoid CM0405) alınarak, Mcfarland 0.5 bulanıklık standardına eşdeğer bakteri süspansiyonu hazırlandı ve Mueller Hinton Agar (MHA, Oxoid CM337) plaklarına steril eküvyon yardımıyla inokule edildi. Daha sonra antibiyotik diskleri agarın yüzeyine yerleştirilerek, 35-37°C'de inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyon sonrası, inhibisyon zonları ölçülerek sonuçlar kaydedildi ve CLSI'nün önerilerine göre duyarlı, orta derecede duyarlı ya da dirençli olarak değerlendirildi. Bu amaçla kullanılan antibiyotikler ve konsantrasyonları şöyleydi: ampicilin (10 μ g), penisilin (10 ünite), linezolid (30 μ g), kinupristin/dalfopristin (15 μ g), vankomisin (30 μ g), teikoplanin (30 μ g), siprofloksasin (5 μ g), tetrasiklin (30 μ g), yüksek düzey aminoglikozit direnci için gentamisin (120 μ g) ve streptomisin (300 μ g). Kalite kontrol suşu olarak *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923 kullanıldı (100).

E-test Yöntemi ile Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MIK) Saptanması

Disk diffüzyon yöntemi ile vankomisin ve teikoplanin antibiyotiklerine direnç tespit edilen suşların bir gecelik taze kültürlerinden 0.5 McFarland bulanıklık standardına eşdeğer hazırlanan bakteri süspansiyonları, Mueller-Hinton Agar plaklarına disk diffüzyon yöntemindeki gibi inoküle edildi. Daha sonra biraz kuruması beklenerek E-test stripleri, en düşük konsantrasyondan başlayacak şekilde, agarın üzerine yavaşça bırakıldı ve plaklar $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ de 24 saat inkübe edildi. Değerlendirmede her bir stripin çevresindeki elips şeklindeki inhibisyon zonunun, stripi kestiği noktada yazılı olan MIK değeri sonuç olarak kabul edildi ve saptanan MIK sonuçları, CLSI dökümanlarında bildirilen yorumlama standartlarına göre değerlendirildi. Kalite kontrol suşu olarak *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212 kullanıldı (100).

BULGULAR

Bakteriyolojik Bulgular

Analiz edilen 375 adet hayvansal kaynaklı gıda örneğinden 203 adet (%54.13) *Enterococcus* spp. suşu izole edildi. Analiz edilen tüm örneklerin ortalama enterokok sayısı 4.96 log kob/ml-g bulundu. Örnek grupları arasında enterokok sayısı ortalaması en fazla 5.13 log kob/ml-g ile et ve et ürünlerinde tespit edilirken, süt ve süt ürünlerinde 4.83 log kob/ml-g, tavuk eti ve işlenmiş kanatlı eti ürünlerinde ise 4.22 log kob/ml-g oranında belirlendi. Enterokok sayısı tüm numuneler arasında en az 2 log kob/ml-g, en çok 6.47 log kob/ml-g olarak bulundu. Analiz edilen örneklerin türü, sayısı, tür bazında enterokok sayıları, ortalamaları ve standart sapma değerleri Tablo- 4'de verildi.

Tablo- 4: Analiz edilen örnek çeşidine göre enterokok sayıları (log kob/ml-g)

Örnek türü	Örnek sayısı	Enterokok içeren örnek sayısı	Enterokok sayıları (log kob/ml-g)			
			Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart sapma
Et ve et ürünleri						
Parça et	30	15	2	4.82	3.98	4.23
Kıyma	30	17	2.3	4.17	3.6	3.69
Köfte	25	19	2.3	4.46	3.92	3.93
Sucuk	25	8	2	6.47	5.87	6.14
Salam-sosis	20	2	2	4.39	4.07	4.25
Pastırma	20	9	2	4.71	4.27	4.32
Süt ve süt ürünleri						
Peynir	85	71	2.47	6.20	5.45	5.69
Süt	20	16	2	5.23	4.27	4.61
Yoğurt	15	7	2	4.53	3.78	4.07
Tereyağ	15	12	2.47	4.82	4.27	4.43
Kefir	15	5	2	4.57	4.20	4.20
Tavuk eti ve işlenmiş kanatlı eti ürünleri						
Tavuk eti	65	21	2	4.59	3.86	4.04
İşlenmiş kanatlı eti ürünü	10	1	4.41		4.41	

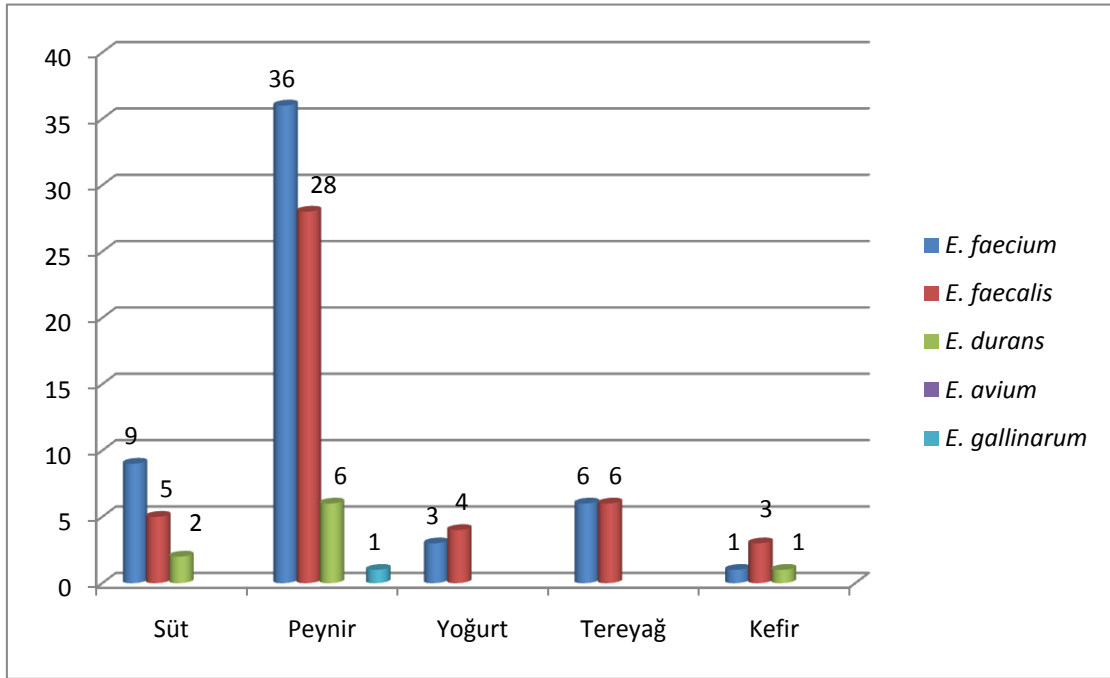
İzole edilen 203 adet *Enterococcus* spp. suşu 92 adet (%45.9) *E. faecium*, 88 adet (%43.3) *E. faecalis*, 20 adet (%9.8) *E. durans*, 2 adet (%0.9) *E. avium* ve 1 adet (%0.5) *E. gallinarum* olarak tanımlanmıştır.

Analiz edilen numunelerin türüne göre enterokokların dağılımı incelendiğinde ise; süt

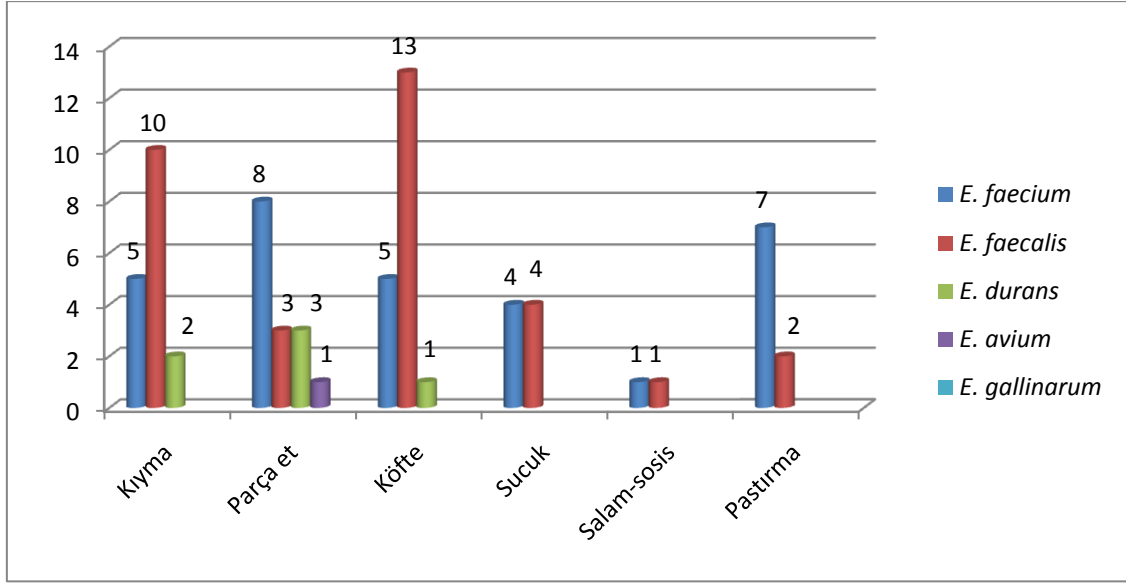
ve süt ürünlerinden 55 adet (% 49.5)*E. faecium*, 46 adet (% 41.4)*E. faecalis*, 9 adet (% 8.1)*E. durans* ve 1 adet (% 0.9)*E. gallinarum* olmak üzere toplam 111 adet enterokok suu izole edilirken,*E. avium*saptanmadı. Suların rnek çeşidine göre dağılımı Şekil- 1’de verildi.

Et ve et ürünlerinden ise 33 *E. faecalis* (% 47.1), 30 *E. faecium* (% 42.8), 6 *E. durans* (% 8.6) ve 1 adet *E. avium* (% 1.4) suu izole edilirken,*E. gallinarum* tespit edilmedi. İzole edilen toplam 70 suun et ve et ürünü tipine göre dağılımı Şekil-2’de özetlendi.

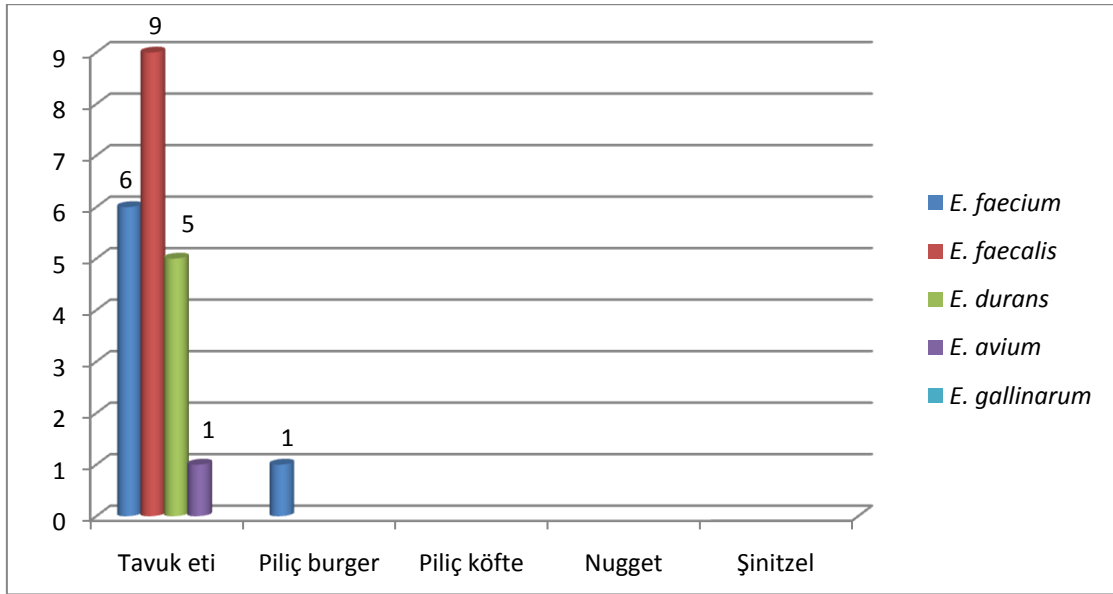
Tavuk eti ve işlenmiş kanatlı eti ürünlerinde enterokok varlığı incelendiğinde,*E. faecalis* % 12 (9 su), *E. faecium* % 9.3 (7 su), *E. durans* % 6.7 (5 suç) ve *E. avium* % 1.3 (1 su) oranında belirlenirken,*E. gallinarum* varlığına rastlanmadı.Tavuk eti ve işlenmiş kanatlı eti ürünlerinden alınan enterokokların ürün tipine göre sayıları Şekil-3’te sunuldu.



Şekil- 1:Süt ve süt ürünlerinden izole edilen enterokok sularının sayıları



Şekil-2:Et ve et ürünlerinden izole edilen enterokok suşlarının sayıları



Şekil-3:Tavuk etive işlenmiş kanatlı eti ürünlerinden izole edilen enterokok suşlarının sayıları

Enterokok Suşlarının Antibiyotik Duyarlılık Bulguları

İdentifiye edilen 203 enterokok suşunun disk difüzyon metodu ile 10 farklı antibiyotiğe karşı gösterdikleri duyarlılık durumları incelendi. Tüm suşların analiz edilen antibiyotiklere gösterdikleri duyarlılık profilleri Tablo-5’te verildi.

Tablo- 5:İdentifiye edilen enterokokların antibiyotik duyarlılıkprofilleri

Suş No	Örnek	Suş	P	Amp	Va	Tec	Cip	QD	Lin	Te	Cn	Str
1	Sucuk	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2	Sucuk	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
3	Peynir	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
4	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
5	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
6	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
7	Peyniri	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
8	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	IM	S	R	S	S
9	Peynir	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
10	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
11	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
12	Peynir	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
13	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
14	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
15	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
16	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
17	Peynir	<i>E. faecium</i>	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S
18	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
19	Peynir	<i>E. gallinarum</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
20	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
21	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
22	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	IM	S	S
23	Peynir	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
24	Sucuk	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
25	Parça et	<i>E. faecium</i>	R	R	S	S	IM	S	S	R	S	S

Suş No	Örnek	Suş	P	Amp	Va	Tec	Cip	QD	Lin	Te	Cn	Str
26	Köfte	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
27	Köfte	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
28	Kıyma	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
29	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
30	Köfte	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
31	Yoğurt	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
32	Süt	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
33	Kıyma	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
34	Peynir	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
35	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
36	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	IM	S	S	S	S	S
37	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
38	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
39	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
40	Köfte	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
41	Sucuk	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
42	Sucuk	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
43	Sucuk	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
44	Parça et	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
45	Kıyma	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
46	Tavuk eti	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	R	S	IM	S	S
47	Sucuk	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
48	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
49	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	IM	S	S	S	S	S
50	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	R	S	S
51	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
52	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S

Suş No	Örnek	Suş	P	Amp	Va	Tec	Cip	QD	Lin	Te	Cn	Str
53	Pastırma	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
54	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
55	Yoğurt	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
56	Tereyağ	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
57	Tereyağ	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
58	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
59	Peynir	<i>E. faecalis</i>	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S
60	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
61	Parça et	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
62	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
63	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
64	Pastırma	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	IM	S	S	S	S	S
65	Parça et	<i>E. avium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
66	Parça et	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
67	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
68	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	IM	S	S
69	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
70	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
71	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
72	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	IM	S	S	S	S	S
73	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
74	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
75	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
76	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
77	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
78	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
79	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Suş No	Örnek	Suş	P	Amp	Va	Tec	Cip	QD	Lin	Te	Cn	Str
80	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
81	Köfte	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	IM	S	S	S	S	S
82	Köfte	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
83	Süt	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	IM	S	S
84	Süt	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
85	Tereyağ	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
86	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
87	Pastırma	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
88	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
89	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
90	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
91	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
92	Köfte	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
93	Parça et	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
94	Pastırma	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
95	Pastırma	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
96	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	IM	S	S	S	S	S
97	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
98	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
99	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
100	Peynir	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	IM	S	S	S	S	S
101	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
102	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
103	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	IM	S	S	S	S	S
104	Parça et	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	IM	S	S	S	S	S
105	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
106	Süt	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	IM	S	S	S	S	S

Suş No	Örnek	Suş	P	Amp	Va	Tec	Cip	QD	Lin	Te	Cn	Str
107	Süt	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
108	Süt	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
109	Tereyağ	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
110	Tavuk eti	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
111	Tavuk eti	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S
112	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
113	Peynir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
114	Peynir	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	IM	S	S
115	Pastırma	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
116	Tereyağ	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
117	Tereyağ	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
118	Yoğurt	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	IM	S	S	S	S	S
119	Yoğurt	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
120	Kıyma	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
121	Süt	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	IM	S	S	R	S	S
122	Kefir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
123	Kefir	<i>E. faecium</i>	R	S	S	S	IM	S	S	R	S	S
124	Köfte	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
125	Köfte	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	R	S	S
126	Köfte	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
127	Köfte	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
128	Köfte	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
129	Kıyma	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	R	S	S
130	Parça et	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	IM	S	S	R	S	S
131	Parça et	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
132	Parça et	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
133	Kıyma	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	IM	S	S	S	S	S

Suş No	Örnek	Suş	P	Amp	Va	Tec	Cip	QD	Lin	Te	Cn	Str
134	Yoğurt	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	R	S	S	IM	S
135	Süt	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
136	Süt	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
137	Süt	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	R	S	S
138	Köfte	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	R	S	S	S
139	Piliç Burger	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
140	Salam	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
141	Köfte	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
142	Köfte	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	IM	S	S	S	S	S
143	Köfte	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	IM	R	IM	S	S	S
144	Tereyağ	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
145	Süt	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	IM	S	S	S	S	S
146	Süt	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
147	Yoğurt	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	IM	IM	S	S	S	S
148	Kıyma	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	IM	R	S	S	S	S
149	Kıyma	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
150	Parça et	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
151	Parça et	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
152	Kefir	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	IM	S	S	S	S	S
153	Kefir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	IM	R	S	R	S	S
154	Kefir	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	IM	S	S
155	Parça et	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
156	Parça et	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	IM	R	S	R	S	IM
157	Tavuk eti	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	IM	IM	S	S	S	S
158	Tavuk eti	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
159	Tavuk eti	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
160	Tavuk eti	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Suş No	Örnek	Suş	P	Amp	Va	Tec	Cip	QD	Lin	Te	Cn	Str
161	Tavuk eti	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
162	Kıyma	<i>E. faecium</i>	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S
163	Kıyma	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
164	Kıyma	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
165	Süt	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
166	Süt	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	IM	S	S	S	S	S
167	Tereyağ	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R
168	Tereyağ	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
169	Tereyağ	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
170	Tereyağ	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
171	Tereyağ	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
172	Kıyma	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
173	Köfte	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
174	Kıyma	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
175	Sucuk	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
176	Sosis	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	IM	S	R	S	S
177	Parça et	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
178	Süt	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
179	Süt	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	IM	IM	S	S	S	S
180	Yoğurt	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	IM	R	S	S	R	S
181	Kıyma	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
182	Kıyma	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	R	S	S
183	Köfte	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
184	Köfte	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	R	S	S
185	Köfte	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	IM	S	R	S	S
186	Tavuk eti	<i>E. avium</i>	S	S	IM	S	S	IM	S	S	S	S
187	Pastırma	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Suş No	Örnek	Suş	P	Amp	Va	Tec	Cip	QD	Lin	Te	Cn	Str
188	Kıyma	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	IM	S	S	R	S	S
189	Tavuk eti	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
190	Tavuk eti	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
191	Tavuk eti	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
192	Tavuk eti	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S
193	Kıyma	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	IM	S	S	R	S	S
194	Pastırma	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
195	Tavuk eti	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
196	Pastırma	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
197	Tavuk eti	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S
198	Tavuk eti	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
199	Tavuk eti	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S
200	Tavuk eti	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	S	IM	S	S	S	S
201	Tavuk eti	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	S	IM	S	R	S	S
202	Tavuk eti	<i>E. faecalis</i>	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R
203	Tavuk eti	<i>E. durans</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

*Va, vankomisin; Tec, teikoplanin; Amp, ampisilin; P, penisilin; Lin, linezolid; QD, kinupristin/dalfopristin; Cip, siprofloksasin; Te, tetrasiklin; Cn, gentamisin (yüksek düzey); Str, streptomisin (yüksek düzey); S, duyarlı; R, dirençli; IM, orta düzey duyarlı.

Enterokok suşlarında en fazla 44 suş ile tetrasikline, ardından kinupristin/dalfopristin (23 suş), penisilin (4 suş), siprofloksasin (4 suş), ampisilin (2 suş), linezolid (2 suş), vankomisin (2 suş), teikoplanin (2 suş), streptomisin (2 suş), ve gentamisine (1 suş) karşı direnç gözlemlendi.

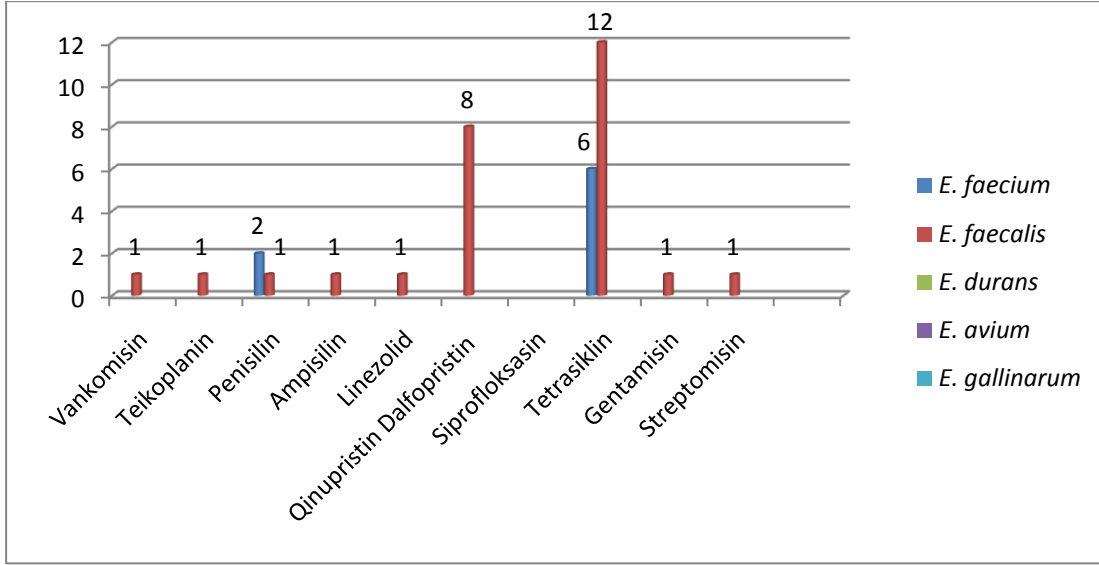
E. faecalis suşları arasında analiz edilen tüm antibiyotiklere karşı direnç gözlenirken, *E. faecium* suşlarında vankomisin, teikoplanin, penisilin, ampisilin, kinupristin/dalfopristin, siprofloksasin ve tetrasikline direnç saptandı. 2 adet *E. durans* suşunda yalnızca tetrasikline direnç gözlenirken, *E. avium* ve *E. gallinarum* izolatları içerisinde dirençli suş bulunmadı. Dirençli, duyarlı ve orta düzey duyarlı enterokok suşları sayıları Tablo-6'da verildi.

Analiz edilen gıdanın çeşidine göre antibiyotik dirençli enterokok suşlarının dağılımı incelendiğinde, süt ve süt ürünlerinde peynirden izole edilen 71 *Enterococcus* spp. suşunun 10 (%14.1) adeti en az bir antibiyotik karşı direnç gösterdi. Bu suşlar arasında sadece bir *E. faecalis* suşu altı farklı antibiyotik (vankomisin, teikoplanin, penisilin, ampisilin, kinupristin/dalfopristin, linezolid) direnç gösterdiği belirlendi. Buna karşın vankomisin ve teikoplanin MİK değerleri 4 µg/mL'nin altında tespit edildi ve bu suş duyarlı kabul edildi. Süt kaynaklı 3 (%18.7) *E. faecalis* suşunda tetrasikline direnç tespit edildi. Yoğurt izolatları arasında ise 2 (%28.6) *E. faecalis* suşu kinupristin/dalfopristin'e karşı direnç saptandı. Bu suşlardan birinde aynı zamanda yüksek düzey gentamisine karşı direnç tespit edildi. Tereyağ kaynaklı 4 (%33.3) *E. faecalis* suşu test edilen antibiyotiklerden en az birine karşı direnç belirlendi ve bir suşta kinupristin/dalfopristin ve tetrasiklin antibiyotiklerine çoklu direnç saptandı. Kefirden izole edilen 5 suştan 3'ü çoklu antibiyotik direncine sahipti ve bu suşlardan biri (*E. faecium*) penisilin and tetrasikline, ikisi (*E. faecalis*) kinupristin/dalfopristin ve tetrasiklin antibiyotiklerine direnç saptandı. Süt ve süt ürünlerinden izole edilen antibiyotik dirençli enterokok suşları ve sayıları Şekil- 4'te belirtildi.

Tablo-6: Dirençli, duyarlı ve orta düzey duyarlı enterokok suşları sayıları ve yüzdeleri

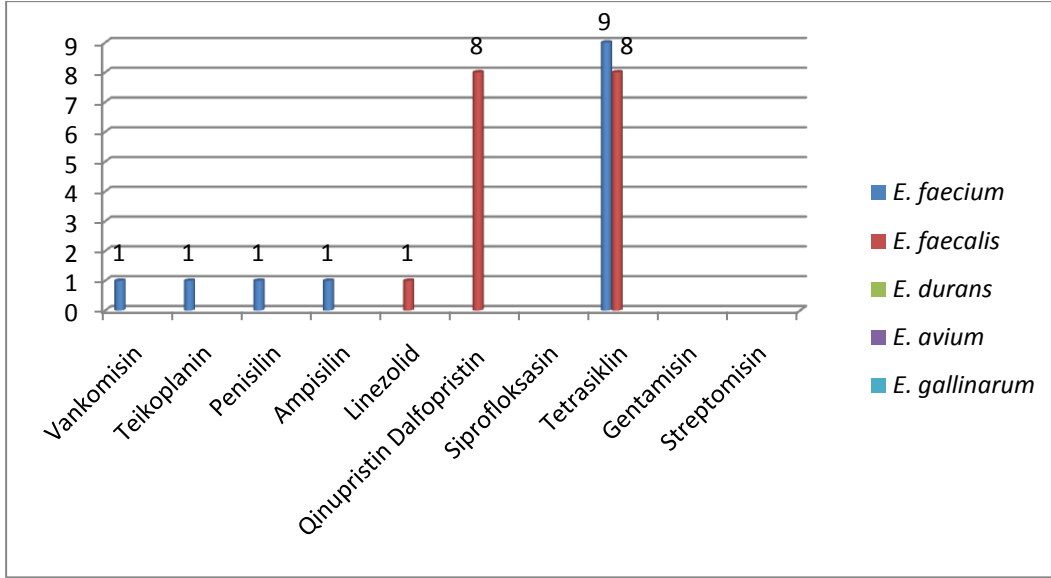
Antibiyotik	<i>E. faecalis</i> (n=88)			<i>E. faecium</i> (n=92)			<i>E. durans</i> (n=20)			<i>E. avium</i> (n=2)			<i>E. gallinarum</i> (n=1)		
	R	IM	S	R	IM	S	R	IM	S	R	IM	S	R	IM	S
Vankomisin	1		87	1		91			20		1	1			1
Teikoplanin	1		87	1		91			20			2			1
Penisilin	1		87	3		89			20			2			1
Ampisilin	1		87	1		91			20			2			1
Linezolid	2	1	85			92			20			2			1
Qinupristin/Dalfopristin	22	28	38	1	8	83		1	19		1	1			1
Siprofloksasin	3	11	74	1	17	74		2	18			2			1
Tetrasiklin	25	5	58	17	1	74	2		18			2			1
Gentamisin	1	1	86						20			2			1
Streptomisin	2	1	85						20			2			1

R, dirençli; IM, orta düzey duyarlı; S, duyarlı



Şekil-4: Süt ve süt ürünlerinden izole edilen antibiyotik dirençli enterokok suşları ve sayıları

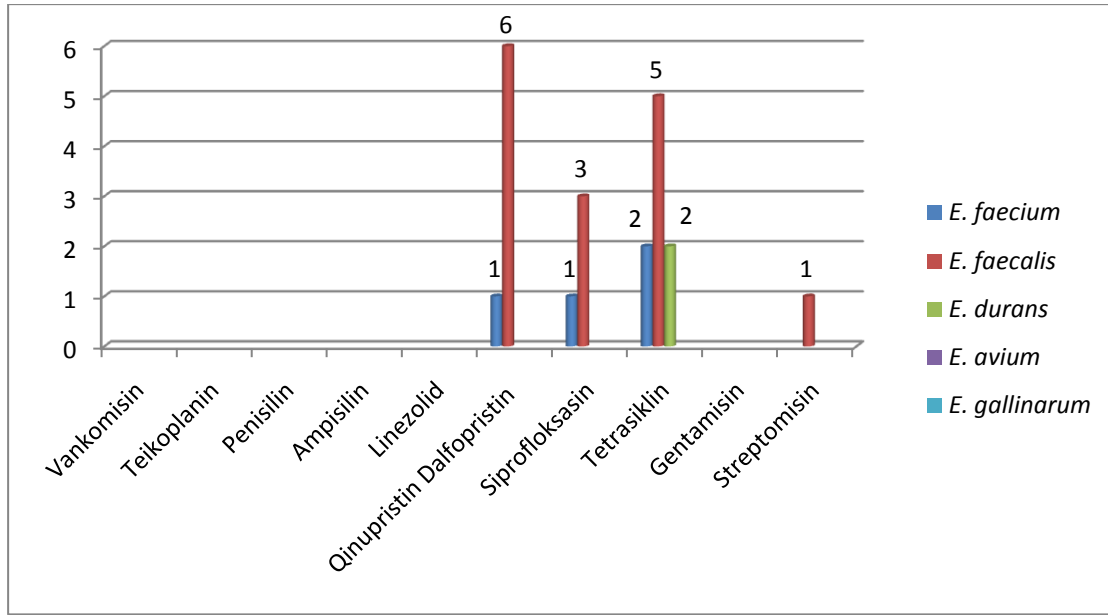
Et ve et ürünlerinden parça etten izole edilen suşların % 26.6'sında (4/15) en az bir antibiyotiğe karşı direnç saptandı. Bu suşlardan bir *E. faecalis* suşu kinupristin/dalfopristin ve tetrasikline, bir *E. faecium* suşu ise penisilin, ampisilin ve tetrasikline karşı çoklu dirençliydi. Kıyma kaynaklı izotlardan 8'inde (% 47) antibiyotik direnci saptanırken, bir *E. faecium* suşunda vankomisin ve teikoplanine direnç belirlendi. Vankomisin ve teikoplanin MİK değerleri 4 µg/mL'den düşük saptandı ve bu suş adı geçen antibiyotiklere duyarlı kabul edildi. 19 adet köfte izolatu arasında sadece 7 adet (% 36.8) *E. faecalis* suşu dirençli bulundu. Sucukta iki *E. faecalis* ve bir *E. faecium* suşunda direnç gözlenirken, *E. faecalis* suşlarından biri kinupristin/dalfopristin ve tetrasiklin antibiyotiklerine dirençliydi. İdentifiye edilen 2 salam-sosis suşundan biri tetrasikline, 9 pastırma suşu arasında bir *E. faecalis* suşu kinupristin/dalfopristin ve bir *E. faecium* suşu tetrasikline dirence sahipti. Et ve et ürünleri kaynaklı *E. durans* ve *E. avium* suşları tüm antibiyotiklere duyarlılık gösterdi. Et ve et ürünlerinden izole edilen antibiyotik dirençli enterokok suşları ve sayıları Şekil- 5'te verildi.



Şekil-5: Et ve et ürünlerinden izole edilen antibiyotik dirençli enterokok suşları ve sayıları

Tavuk eti ve işlenmiş kanatlı eti ürünleri arasında dirençli suşlar sadece tavuk etinde görüldü. Piliç burgerden izole edilen bir adet *E. faecium* suşu duyarlı bulundu. Tavuk eti kaynaklı 6 *E. faecium* suşunun ikisinde (% 33.3) çoklu direnç gözlemlendi. Bu suşlardan biri kinupristin/dalfopristin ve tetrasikline, diğeri siprofloksasin ve tetrasikline dirençliydi. İdentifiye edilen 9 *E. faecalis* suşundan 6'sında (% 66.6) antibiyotik direnci bulunurken, 5'inde çoklu direnç tespit edildi. Suşların üçünde kinupristin/dalfopristin, tetrasiklin, siprofloksasine, birinde kinupristin/dalfopristin ve tetrasikline, yine bir diğerinde kinupristin/dalfopristin, tetrasiklin ve yüksek düzey streptomisine direnç tanımlandı. Tavuk eti kaynaklı 2 (% 40) *E. durans* suşu tetrasikline dirençliyken, *E. avium* ve *E. gallinarum* suşları tüm antibiyotiklere duyarlı bulundu. Tavuk etive işlenmiş kanatlı eti ürünlerinden izole edilen antibiyotik dirençli enterokok suşları ve sayıları Şekil- 6'da sunuldu.

Tablo 7'de tüm örneklerden izole edilen enterokok suşlarının çoklu antibiyotik dirençliliğine ilişkin veriler özetlendi. Çoklu antibiyotik direnci sadece *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarında saptandı. *E. avium*, *E. gallinarum* ve *E. durans* suşlarında birden fazla antibiyotiğe karşı direnç saptanmadı. Bu iki suş arasında *E. faecalis* (13) izolatlarında çoklu dirençli izolat sayısı *E. faecium* (6) izolatlarına göre daha fazla belirlendi. Antibiyotik dirençli *E. faecalis* suşları arasında çoklu direnç oranı %27.08 (13/48) bulunurken, *E. faecium* suşlarında bu oran %31.57 (6/19) olarak tespit edildi.



Şekil- 6:Tavuk etive işlenmiş kanatlı eti ürünlerinden izole edilen antibiyotik dirençli enterokok suşları ve sayıları

Tablo- 7: İzole edilen enterokok suşlarının çoklu direnç profilleri

Türü	Suş sayısı		Antibiyotik	Suş sayısı	Örnek
	Dirençli	Çoklu dirençli			
Süt ve süt ürünleri					
<i>E. faecium</i>	8	2	P, Te	2	Kefir, peynir
<i>E. faecalis</i>	27	6	QD, Te	3	Kefir(2), peynir
			QD, Te, S	1	Tereyağ
			QD, Cn	1	Yoğurt
			Va, Tec, P, Amp, QD, Te	1	Peynir
<i>E. durans</i>	-	-	-		
<i>E. avium</i>	-	-	-		
<i>E. gallinarum</i>	-	-	-		
Et ve et ürünleri					
<i>E. faecium</i>	9	2	Va, Tec	1	Kıyma
			P, Amp, Te	1	Parça et
<i>E. faecalis</i>	15	2	QD, Te	2	Sucuk, parça et
<i>E. durans</i>	-	-	-		
<i>E. avium</i>	-	-	-		
<i>E. gallinarum</i>	-	-	-		
Tavuk eti ve işlenmiş kanatlı eti ürünleri					
<i>E. faecium</i>	2	2	QD, Te	1	Tavuk eti
			Cip, Te	1	Tavuk eti
<i>E. faecalis</i>	6	5	QD, Cip, Te	3	Tavuk eti (3)

			QD, Te	1	Tavuk eti
			QD, Te, S	1	Tavuk eti
<i>E. durans</i>	2	-	-		
<i>E. avium</i>	-	-	-		
<i>E. gallinarum</i>	-	-	-		

*Va, vankomisin; Tec, teikoplanin; Amp, ampisilin; P, penisilin; Lin, linezolid; QD, kinupristin/dalfopristin; Cip, siprofloksasin; Te, tetrasiklin; Cn, gentamisin (yüksek düzey); S, streptomisin (yüksek düzey)

Antibiyotik dirençli enterokok izole edilen örnekler ve sayıları Tablo- 8’de verildi. Antibiyotik direncine en fazla görüldüğü hayvansal gıda örnekleri tavuk eti ve peynir oldu. Salam-sosis, pastırma, süt ve yoğurt örnekleri ise antibiyotik dirençli suşların en az bulunduğu gıdalardı. Bununla birlikte analiz edilen hiçbir işlenmiş kanatlı eti ürününde antibiyotik direnci saptanmadı.

Tablo- 8: Antibiyotik dirençli enterokok izole edilen örnekler ve sayıları

Örnek	Antibiyotik									
	Va	Tec	P	Amp	Lin	QD	Cip	Te	Cn	Str
Süt ve süt ürünleri										
Süt								3		
Peynir	1	1	2	1	1	2		9		
Yoğurt						2			1	
Tereyağ						2		3		1
Kefir			1			2		3		
Et ve et ürünleri										
Kıyma	1	1				1		6		
Parça et			1	1		1		4		
Köfte					1	3		3		
Sucuk						2		2		
Salam-sosis								1		
Pastırma						1		1		
Tavuk eti ve işlenmiş kanatlı eti ürünleri										
Tavuketi						7	4	9		1
Piliç burger										
Piliç köfte										
Nugget										
Şinitzel										

*Va, vankomisin; Tec, teikoplanin; Amp, ampisilin; P, penisilin; Lin, linezolid; QD, kinupristin/dalfopristin; Cip, siprofloksasin; Te, tetrasiklin; Cn, gentamisin (yüksek düzey); Str, streptomisin (yüksek düzey)

TARTIŞMA ve SONUÇ

Mevcut tez çalışmasında analiz edilen örneklerde enterokokların prevalansı %54.13 bulundu. Enterokok sayıları ise 2-6.47 log kob/ml-g arasında değişkenlik gösterdi. Analiz edilen tüm hayvansal kaynaklı gıdalarda enterokok sayısı ortalaması 4.96 log kob/ml-g bulundu. Yapılan identifikasyon testleri sonucu izolatlar %45.9 *E. faecium*, %43.3 *E. faecalis*, %9.8 *E. durans*, %0.9 *E. avium* ve %0.5 *E. gallinarum* olarak tanımlandı.

Gıdalarda enterokok varlığı ve sayısı üzerine yapılan birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan elde edilen veriler aşağıda özetlenmiştir. Omar ve arkadaşları'nın (101) et, süt ürünleri ve sebze örnekleri kullanarak yaptığı çalışmada enterokok sayısı 3-4 log kob/ml-g düzeyinde tespit edilmişken, izolatların %72'si *E. faecium*, %28'i *E. faecalis* olarak belirlenmiştir. Türkiye'de yürütülen başka bir çalışmada ise analiz edilen örneklerin(tavuk eti, nugget, sığır eti, balık, peynir sütlü tatlı vb.) %50'sinin enterokoklarla kontamine olduğu ortaya konmuştur (47). Benzer sonuçlara ulaşan farklı bir araştırmada çeşitli gıda örneklerinden % 50.6'lık enterokok izole eden Pesavento ve arkadaşları (102) çiğ ette *E. faecalis*'i, perakende gıdalarda ise *E. faecium*'u dominant tür olarak belirlemiştir. Brezilya'da çiğ, pastörize süt, et ürünleri, peynir ve sebze örneklerinde enterokok kontaminasyonu %52.5 olarak tespit edilmiş ve en fazla identifiye edilen suşlar sırasıyla *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. casseliflavus* ve *E. gallinarum* olarak saptanmıştır (70). Peters ve arkadaşları (103) 155 adet hayvansal kaynaklı ürün incelemiş ve 416 farklı enterokok suşu izole etmiştir. Bu suşların %71.8'i *E. faecalis*, %12.9'u *E. faecium*, %5.7'si *E. durans*, %5.2 *E. casseliflavus*, %2.1'i *E. avium* ve %1.9'u *E. gallinarum*'dur. Devriese ve arkadaşları (104) 60 farklı satış noktasından temin ettikleri hayvansal gıdada 161 adet enterokok suşu izole ve identifiye etmiştir.

Süt ve süt ürünlerinden elde edilen bulgular incelendiğinde mevcut çalışmada 111 adet enterokok suşu izole edildiği görüldü. Bu suşların %49.5'i *E. faecium*, %41.4'ü *E. faecalis*, %8.1'i *E. durans* ve %0.9'u *E. gallinarum* olarak identifiye edildi. Süt ve süt ürünlerinden enterokok izolasyonu ve identifikasyonu üzerine yapılan çalışmalara göz atıldığında; Kuzey İtalya'da (13) 38 adet *E. faecalis* ve 43 adet *E. faecium*'un, Mannu ve arkadaşları (105) tarafından 40 *E. faecium* suşunun identifiye edilmiş olduğu, Morandi ve arkadaşları'nın (8) ise 68 adet enterokok suşu izole ettiği rapor edilmiştir.

Mevcut çalışmada incelenen 85 peynir örneğinin 71'nde enterokok izole edildi. Dünyada peynirlerde enterokok varlığı üzerine yapılan araştırma sonuçlarına bakıldığında; Malek ve arkadaşları'nın (106) Mısır'a özgü iki farklı peynirde 35 *E. faecium* suşu izole

ettiği saptanmıştır. Analiz edilen 126 Fransız peynirinde enterokok kontaminasyonunun %92 oranında olduğu (107), Martin-Platero ve arkadaşları'nın (10) keçi sütünden yapılan üç farklı peynirde 95 adet enterokok izole ettiği rapor edilmiştir. İki farklı üretim tesisinde imal edilen Manchego peynirinin değişik olgunlaşma aşamalarında toplam 132 enterokok suşu elde edildiği Nieto-Arribas ve arkadaşları(108) tarafından bildirilmiştir.

Tez çalışmasında süt örneklerinde enterokok kontaminasyonu %80 oranında ve 2-5.23 log kob/ml-g seviyesinde bulunurken, kontamine örneklerde *E. faecium* %45, *E. faecalis* %25 ve *E. durans* %10 düzeyinde belirlendi. Sütte enterokok sayısı Arizcun ve arkadaşları (109) tarafından 3-4 log kob/ml-g tespit edilmişken, incelenen süt örneklerinde *E. faecalis* %85.7, *E. durans* %4.8, *E. avium* % 9,5 oranında saptanmış ve *E. faecium* varlığı gözlenmemiştir.

İncelenen 15 yoğurt örneğinin 7'sinde enterokok varlığı belirlendi. Yoğurt örneklerinde enterokok sayısı 2-4.53 log kob/ml-g seviyesindeydi ve örneklerden sadece *E. faecium* ve *E. faecalis* türleri identifiye edildi. Türkiye'de yoğurtta enterokok varlığını belirlemek üzerine yapılan çalışmalarda Kars ilinde tüketilen yoğurtlarda enterokok kontaminasyonu % 92 (110) olarak bulunmuştur. Şireli ve arkadaşları'nın (111) gerçekleştirdiği benzer bir çalışmada meyveli yoğurt örneklerinde %8 oranında ve 1-3 log kob/ml-g miktarında enterokok kontaminasyonu tespit edildiği rapor edilmiştir.

Kefir örneklerinde mevcut çalışmada %33.3 oranında ve ortalama 4.2 log kob/ml-g enterokok varlığı belirlendi. İdentifiye edilen suşlar *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans*'tır. Tez çalışmasında elde edilen bulgulara benzer bulgular çeşitli kefir örneklerinde 4 log kob/ml-g enterokok sayısı ile Çetinkaya ve arkadaşı(112) tarafından bildirilmiştir. Başka bir geleneksel Kolombiya fermente süt ürünü olan Kumis'te Chaves-Lopez ve arkadaşları (113) 72 izolatta *E. faecalis* ve *E. faecium* identifiye ettiğini bildirmiştir.

%80 enterokok izolasyon oranına sahip olan tereyağ örneklerinde *E. faecium* ve *E. faecalis* türleri varlığı tespit edildi. Yapılan literatür taramasında tereyağ örneğinde Türkiye ve yurtdışında gerçekleştirilen çalışmalar arasında enterokok varlığı üzerine araştırma bulunamadı. Tereyağ örneğine ait sonuçlar bakımından tamamlanan tez çalışması tereyağında enterokok kontaminasyonunu ortaya koyan ilk çalışma özelliğini taşımaktadır.

Et ve et ürünlerinde %46.6 enterokok varlığı tespit edildi. İzolatların 33 adeti *E. faecalis*, 30 adeti *E. faecium*, 6 adeti *E. durans* ve 1 adeti *E. avium* olarak identifiye edildi. Et ve et ürünlerinde diğer enterokok türleri varlığı gözlenmedi. Köfte (%76), kıyma

(%56.6) ve parça et (%50) gibi et örneklerinde ortalama 3.83 log kob/ml-g düzeyinde enterokok tespit edildi. Köfte, kıyma ve kuşbaşı et örnekleri kullanılarak yapılan benzer bir çalışmada enterokok izolasyonu köftede %25, kıyma ve kuşbaşı ette %45 oranında bildirilmiştir (94). Diğer bir çalışmada perakende satışa sunulan etlerden 532 adet enterokok izole edildiği ve sığır eti örneklerinin %73'ünün *E. faecalis* ve %2'sinin *E. faecium* ile kontamine olduğu rapor edilmiştir (114). Klibi ve arkadaşları (76) tarafından yapılan başka bir araştırmada marketlerden toplanan 105 adet et örneğinden 119 adet enterokok suşu izole edildiği ve %41 gibi bir oranla en yüksek sayıda identifiye edile türün *E. faecalis* olduğu açıklanmıştır.

Tamamlanan tez çalışmasında fermente et ürünü olan sucukta enterokok varlığı % 40 ve seviyesi 2-6.47 log kob/ml-g belirlendi. Barbosa ve arkadaşları'nın (115) gerçekleştirdiği çalışmada, fermente et ürününde 182 adet enterokok suşu izole edilmiş ve bu suşların identifikasyon sonuçları *E. faecalis* (76 adet), *E. faecium* (44 adet), *E. casseliflavus* (1 adet) ve *Enterococcus* spp. (61 adet) şeklinde bildirilmiştir. Fermente et ürünleri üzerine yapılan diğer bir çalışmada, 29 adet enterokok suşu izole edildiği (15 *E. faecalis*, 13 *E. faecium*, 1 *E. gallinarum*) rapor edilmiştir (90).

Yapılmış olan tez çalışmasında 20 adet salam-sosis örneğinde sadece 2 adet enterokok suşu tespit edildi. *E. faecalis* (1 suş) ve *E. faecium* (1 suş) suşları tanımlandı. Enterokok sayısı ise 2-4.39 log kob/ml-g arasında değişkenlik gösterdi. Elmalı ve arkadaşları'nın (116) 100 adet salam ve sosis örneği kullanarak gerçekleştirdiği çalışmada, enterokok sayısının 3 log kob/ml-g bulunduğu bildirilmiştir. Türkiye'de tamamlanan benzer bir çalışmada incelenen salam örneklerinin hiçbirinde enterokok varlığına rastlanmadığı rapor edilmiştir (117).

Pastırma örneklerinde enterokok izolasyon oranı %45 olarak bulundu. *E. faecium* ve *E. faecalis* suşlarının identifikasyonu yapıldı. Elde edilen sonuçlara benzer veriler Dinçer ve arkadaşları(118) tarafından rapor edilmiş ve yaptıkları araştırmada pastırma örneklerinden *E. faecium* identifikasyonunu bildirmişlerdir.

Mevcut çalışmada tavuk eti ve işlenmiş kanatlı eti ürünlerinde enterokok kontaminasyonu %29.3 bulundu. Elde edilen 22 izolattın sadece 1 adeti işlenmiş kanatlı eti ürünü olan piliç burgerden izole edildi. Ortalama enterokok sayısı 2-4.59 log kob/ml-g aralığında değişkenlik gösterirken, ortalama 3.86 log kob/ml-g düzeyinde belirlendi. Van'da tavuk eti, sakatatı ve et ve et ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesini belirlemek üzere yapılan çalışmada (119), 80 adet tavuk eti ve 20 adet tavuk sakatatı olmak üzere toplam 100 örnek incelendiği bildirilmiş ve bu çalışmada tavuk kanat ve sakatat örneklerinde

enterokok sayısı tespit edilebilir limitin üzerinde bulunmuşken, maksimum değer 3.39 log kob/ml-g ile tavuk göğüs örneğinde tespit edilmiştir. Kasımoğlu-Doğru ve arkadaşları (64) tarafından Türkiye’de yapılan başka bir araştırmada, 106 tavuk boyun ve deri örneğinde 83 enterokok izolasyonu yapıldığı ve %48’lik oranla *E. faecium*’un baskın tür olduğu, bunu *E. durans*, *E. faecalis*, *E. gallinarum*, *E. hirae*, *E. mundtii* ve *E. casseliflavus*’un takip ettiği rapor edilmiştir. Dünyada kanatlı etinde enterokok varlığı üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde, Kore’de Choi ve arkadaşları (120) tavuk eti örneklerinden 101 adet *E. faecalis* identifiye ettiklerini bildirmiş. Kanada’da gerçekleştirilen başka bir araştırmada ise, analiz edilen kanatlı etlerinin %94’ten fazlasının *E. faecalis*, %4’ünün ise *E. faecium* ile kontamine olduğu bildirilmiştir (114).

Mevcut çalışmada identifiye edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılık profilleri incelendiğinde; enterokok suşlarının penisilin (4 suş), ampisilin (2 suş), linezolid (2 suş), kinupristin-dalfopristin (23 suş), siprofloksasin (4 suş), tetrasiklin (42 suş), vankomisin (2 suş), teikoplanin (2 suş), yüksek düzey gentamisin (1 suş) ve streptomisine (2 suş) dirençlilik gösterdikleri belirlendi.

Tamamlanan tez çalışmasında enterokok suşları arasında en fazla dirençlilik gözlenen antibiyotik, tetrasiklin olarak bulundu. Tetrasiklin, veteriner hekimlikte tedavi amacıyla sık kullanılan antibiyotikler arasındadır (121). Tetrasiklinin yaygın kullanımı, hayvansal gıdalardan izole edilen suşlarda tetrasiklin direncinin diğer antibiyotiklere göre daha yüksek oranda (% 20.68) görülmesinin en önemli sebeplerinden biri olabileceğini düşündürmektedir. Elde edilen bulgulara paralel olarak, hayvansal gıdalardan izole edilen enterokoklarda tetrasiklin direncini ortaya koyan birçok çalışma bulunmaktadır (22, 70, 76, 90, 101-103, 107, 108).

Tetrasiklini takiben en fazla dirençli suş oranı (% 11.33) kinupristin-dalfopristin antibiyotiğine karşı saptandı. Veteriner hekimlikte yaygın kullanım alanı olmamasına rağmen, beşeri hekimlikte sıklıkla kullanılan kinupristin-dalfopristine dirençli suşlar mevcut tez çalışması yanı sıra, hayvansal gıdalar üzerine yürütülmüş diğer bazı çalışmalarda da gözlenmiştir (22, 101, 103, 108).

Hayvansal gıdalardan izole edilen suşlar arasında β -lactam antibiyotikler arasında yer alan penisilin (4 suş) ve ampisiline (2 suş) karşı dirençlilik belirlendi. Bu bulgular çerçevesinde β -lactam grubu antibiyotiklerin kullanımının, hayvansal gıdalarda bu grup antibiyotiklere karşı dirençli suş gelişiminde etkinliğinin daha az olduğunu göstermektedir. Hayvansal gıdalarda penisilin direncini ortaya koyan çalışmaların (90, 103) yanı sıra, ampisilin ve penisiline duyarlılığı tespit eden çalışmalar da (22, 101) bildirilmiştir.

Mevcut çalışma sonuçları ile benzer olarak, gıda kaynaklı enterokok suşları arasında siprofloksasin direncini ortaya koyan bulgular çeşitli araştırmacılar tarafından (22, 90, 101, 108) rapor edilmiştir. Çalışma kapsamında incelenen örneklerde linezolid direnci % 0.98 oranında bulunurken, Pesavento ve arkadaşları (102) bu oranı % 0.32 olarak tespit etmiştir.

Aminoglikozit grubu antibiyotiklerden gentamisin (120 µg) ve streptomisine (300 µg) direnç, analiz edilen örneklerde sırasıyla % 0.49 ve % 0.98 oranında ve sadece *E. faecalis* suşlarında bulundu. Pesavento ve arkadaşları (102) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *E. faecalis* suşlarında yüksek düzey gentamisin direnci belirlenmiş, ancak mevcut tez çalışmasından farklı olarak dirençlilik oranı % 21.9 olarak bildirilmiştir. Yapılan literatür taramalarında yüksek düzey streptomisin duyarlılığının araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmazken, düşük düzey streptomisin, gentamisin veya her iki antibiyotiğe de direnç ya da duyarlılık saptanan çalışmalar bulunmaktadır (22, 70, 76, 90, 101, 106).

Teikoplanin direnci ise disk diffüzyon metodu kullanılarak, örneklerden izole edilen bir *E. faecium* ve bir *E. faecalis* olmak üzere iki suşta belirlendi. Bu metod kullanılarak teikoplanin direncini ortaya koyan çalışmalar rapor edilmiştir (22, 101, 103, 108). Mevcut çalışmada E-test yöntemiyle suşların teikoplanin için MİK değerleri ölçüldü ve < 4 µg/ml olarak saptandı. Bu sonuç disk diffüzyon tekniği ile dirençli olduğu belirlenen bu iki suşun, teikoplanine duyarlı olduğunu gösterdi.

Vankomisin direnci, Gram pozitif bakterilerin sebep olduğu hastane infeksiyonlarında son çare antibiyotiğin vankomisin olması (122, 123) sebebiyle, büyük önem taşımaktadır. Bu açıdan disk diffüzyon metodu ile vankomisin direnci belirlenen ve kıyma örneğinden izole edilen 1 adet *E. faecium* ve peynir örneğinden izole edilen 1 adet *E. faecalis* suşu büyük önem taşımaktadır. Ayrıca peynirden izole edilen *E. faecium* suşunun çoklu antibiyotik dirençliliği göstermesi (6 farklı antibiyotik), tüketime hazır gıdalar arasında yer alan peynirin antibiyotik dirençli enterokok suşlarının nakledilmesinde potansiyel risk sunması açısından da kaygı vericidir. Kıyma örneğinden izole edilen *E. faecalis* suşunun ise, vankomisin yanı sıra teikoplanin direncine sahip olduğu saptandı. Kıymanın tüketilmeden önce ideal pişirme prosedürlerine maruz bırakılması, antibiyotik dirençli suşların halk sağlığı açısından oluşturduğu riski azaltabilir ve/veya ortadan kaldırabilir. Ancak enterokokların 60° C’de 30 dakika canlı kalabilme özellikleri (1, 6) göz önünde bulundurulduğunda, yetersiz pişirme ve ısı işlem sonrası vankomisin dirençli suşun canlılığını sürdürebileceği unutulmamalıdır. Disk diffüzyon metodundan yararlanılarak, çeşitli hayvansal gıdalar üzerine yapılan çalışmalarda, vankomisin dirençli enterokok

varlığı ortaya konmuştur (22, 70, 101, 102, 108). VRE üzerine gerçekleştirilen çalışmalardan farklı olarak mevcut çalışmada, vankomisin dirençli olduğu disk diffzyon metodu ile ortaya konan iki izolatin E-test yöntemi ile MİK değeri ölçüldü ve 4 µg/mL altında tespit edildi ve böylece suşlar duyarlı kabul edildi.

Dirençli suşların dağılımı incelendiğinde, mevcut çalışma ile benzer olarak, birçok araştırmacı dirençli *E. faecalis* izolatlarının sayısının *E. faecium* izolatlarına göre daha yüksek görüldüğünü rapor etmiştir (22, 70, 76, 102, 107).

Gıda kaynaklı enterokok izolatları ile klinik izolatları karşılaştırmak amacıyla yapılan çalışmalarda, klinik izolatlarda antibiyotik direncinin daha yüksek oranda görülmesine rağmen, gıda kaynaklı suşlardada çeşitli antiyotiklere karşı direnç gözleendiği bildirilmiştir (13, 105, 124, 125).

Tez çalışmasında 13 *E. faecalis* ve 6 *E. faecium* izolatu iki ve daha fazla antibiyotiğe karşı dirençli bulundu. Gomes ve arkadaşları (70) yaptıkları çalışmada 3 *E. faecalis* suşunda gentamisin, eritromisin ve tetrasikline direnç belirlediğini bildirmiştir. Tunus'ta gerçekleştirilen başka bir araştırmada, identifiye edilen suşların %14'ünde streptomisin, tetrasiklin ve eritromisin antibiyotiklerine karşı direnç rapor edilmiştir (76). Gıda kaynaklı enterokok suşlarında, mevcut çalışma ile benzer bulguların rapor edildiği birçok araştırma bulunmaktadır (90, 101, 102, 106 107).

Mevcut çalışmanın sonuçları; analiz edilen hayvansal gıdalarda enterokokların yüksek prevalansını ve bu gıdalardan alınan izolatlarda çeşitli antibiyotiklere karşı dirençliliğinin varlığını gösterdi. Aynı zamanda söz konusu gıdaların mikroorganizmalar arasında antibiyotik dirençliliğinin yayılmasında rol oynayabileceği gerçeğinin ve bunun halk sağlığına yönelik olası risklerinin göz ardı edilmemesi gereğini ortaya koydu. Özellikle pastırma, peynir, kefir, yoğurt, sucuk, salam-sosis gibi tüketime hazır gıdalardaki yüksek enterokok kontaminasyonuna ilişkin bulgular ve yoğurt, kefir, salam-sosis, piliç burger gibi üretim teknolojisinde ısıtılma maruz kalan gıdalarda enterokok varlığı üretim sonrası kontaminasyon olasılığını işaret ederek halk sağlığı açısından özel önem taşımaktadır. Bununla birlikte tez çalışmasında çoğunluğu tüketime hazır gıda örneklerinden oluşan süt ve süt ürünlerinde antibiyotik direnci belirlenen suş sayısının fazla olması kaygı verici bir bulgudur. Yine kefir, peynir, tereyağ, yoğurt ve sucuk gibi tüketime hazır çeşitli gıdalardan izole edilen 7 adet *E. faecalis* ve 2 adet *E. faecium* suşunun çoklu antibiyotik dirençliliği profili göstermesi tüketime hazır hayvansal gıdaların, halk sağlığı ve antibiyotik direnç genlerinin doğada yayılımı açısından potansiyel riskler sunduğunu göstermektedir. Antibiyotik dirençli bakteriler son yıllarda tüketici sağlığı

açısından en önemli biyolojik tehlikeler arasında yerini almıştır. Dolayısıyla çalışmada izole edilen enterokok izolatlarında antibiyotik dirençliliğinden sorumlu olan genlerin, ayrıca enterokokların patojenitesinde rol oynayan çeşitli virulens faktörlerini kodlayan genlerin varlığının belirlenmesi, bunların hastalık oluşturma mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına dolayısıyla halk sağlığının korunmasına katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. MORENO MRF, SARANTINOPOULOS P, TSAKALIDOU E, VUYST LD. The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology*, 106, 1-24, 2006.
2. OGIER JC, SERROR P. Safety assesment of dairy microorganisms: The *Enterococcus* genus. *International Journal of Food Microbiology*, 126, 291-301, 2008.
3. Anonim: PubMed, Taxonomy Browser, Enterococcus.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>, Eriřim Tarihi: 18.06.2014.
4. SALMINEN S, VON WRIGHT A, OUWEHAND A. Lactic Acid Bacteria. Editor:FRANZ CMAP, HOLZAPFEL WH, The genus *Entorococcus*: Biotechnological and safety issues, Marcel Dekker Inc., New York, 3th edition, page 199-248, 2004.
5. KAGKLI DM, VANCANNEYT M, HILL C, VANDAMME P, COGAN TM. *Enterococcus* and *Lactobacillus* contamination of raw milk in a farm dairy environment. *International Journal of Food Microbiology*, 114, 243-251, 2007.
6. MANERO A, BLANCH AR.: Identification of *Enterococcus* spp. with a biochemical key. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 4425-4430, 1999.
7. PSONI L, KOTZAMANIDES C, ANDRIGHETTO C, LOMBARDI A, TZANETAKIS N, LITOPOULOU-TZANETAKI E. Genotypic and phenotypic heterogeneity in *Enterococcus* isolates from Batzos, a raw goat milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 109, 109-120, 2006.
8. MORANDI S, BRASCA M, ANDRIGHETTO C, LOMBARDI A, LODI R. Technological and molecular characterisation of enterococci isolated from north-west Italian dairy products. *International Dairy Journal*, 16, 867-875, 2006.
9. GIMENEZ-PEREIRA ML. Enterococci in milk products. Yüksek Lisans Tezi. Massey Üniversitesi, Yeni Zellanda, 2005.
10. MARTIN-PLATERO AM, VALDIVIA E, MAQUEDA M, MARTINEZ-BUENO M. Characterization and safety evaluation of enterococci isolated from Spanish goats' milk cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 132, 24-32, 2009.
11. ANDRIGHETTO C, KNIJFF E, LOMBARDI A, TORRIANI S, VANCANNEYT M, KERSTERS K, SWINGS J, DELLAGLIO F.: Phenotypic and genetic diversity of enterococci isolated from Italian cheeses. *Journal of Dairy Research*, 68, 303-316, 2001.
12. COSENTINO S, PISANO MB, CORDA A, FADDA ME, PIRAS C. Genotypic and technological characterization of enterococci isolated from artisanal fiero sardo cheese. *Journal of Dairy Research*, 71, 444-450, 2004.
13. CARIOLATO D, ANDRIGHETTO C, LOMBARDI A. Occurence of virulence factors and antibiotic resistances in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* collected from dairy and human samples in North Italy. *Food Control*, 19, 886-892, 2008.
14. VALENZUELA AS, OMAR NB, ABRIOUEL H, LOPEZ RL, ORTEGA E, CANAMERO MM, GALVEZ A. Risk factors in enterococci isolated from foods in Morocco: determination of antimicrobial resistance and incidence of virulence traits. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2648-2652, 2008.
15. CORTES C, DE LA FUENTE R, CONTRERAS A, SANCHEZ A, CORRALES JL, RUIZ-SANTA-QUITERIA JA, OIDEN JA. Occurence and preliminary study of antimicrobial resistance of enterococci isolated from dairy goats in Spain. *International Journal of Food Microbiology*, 110, 100-103, 2006.
16. RIBOLDI GP, FRAZZON J, D'AZEVEDO PA, FRAZZON APG. Antimicrobial resistance profile of *Enterococcus* spp isolated from food in Southern Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40, 125-128, 2009.

17. CARLOS AR, SANTOS J, SEMEDO-LEMSADDEK T, BARRETO-CRESPO MT, TENREIRO R. Enterococci from artisanal dairy products show high levels of adaptability. *International Journal of Food Microbiology*, 129, 194-199, 2009.
18. HUMMEL A, HOLZAPFEL WH, FRAMZ CMAP. Characterisation and transfer of antibiotic resistance genes from enterococci isolated from food. *Systematic and Applied Microbiology*, 30, 1-7, 2007.
19. OMAR NB, CASTRO A, ABRIOUEL H, LUCAS R, PEREZ R, MARTINEZ-CANAMERO M, GALVEZ A. Quantification of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in different foods using rRNA-targeted oligonucleotide probes. *Journal of Microbiological Methods*, 61, 187-192, 2005.
20. BUSANI L, DEL GROSSO M, PALADINI C, GRAZIANI C, PANTOSTI A, BIAVASCO F, CAPRIOLI A. Antimicrobial susceptibility of vancomycin-susceptible and -resistant enterococci isolated in Italy from raw meat products, farm animals, and human infections. *International Journal of Food Microbiology*, 97, 17-22, 2004.
21. KASZANYITZKY EJ, TENK M, GHIDAN A, FEHERVARI GY, PAPP M. Antimicrobial susceptibility of enterococci strains isolated from slaughter animals on the data of Hungarian resistance monitoring system from 2001 to 2004. *International Journal of Food Microbiology*, 115, 119-123, 2007.
22. VALENZUELA AS, BEN OMAR N, ABRIOVEL H, LOPEZ RL, VELJOVIC K, CANAMERO MM, TOPISIROVIC MKL, GALVEZ A. Virulence factors, antibiotic resistance, and bacteriocins in enterococci from artisan foods of animal origin. *Food Control*, 20, 381-385, 2009.
23. SEO KS, LIM JY, YOO HS, BAE WK, PARK YH. Comparison of vancomycin-resistant enterococci isolates from human, poultry and pigs in Korea. *Veterinary Microbiology*, 106, 225-233, 2005.
24. MOADDAB SR, TÖRECİ K. Enterokok suşlarında tür tayini, vankomisin ve diğer bazı antibiyotiklere direnç aranması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 30, 77-84, 2000.
25. KHAN SA, NAWAZ MS, KHAN AA, HOPPER SL, JONES RA, CERNIGLIA CE. Molecular characterization of multidrug-resistant *Enterococcus* spp. from poultry and dairy farms: detection of virulence and vancomycin resistance gene markers by PCR. *Molecular and Cellular Probes*, 19, 27-34, 2005.
26. LOPEZ M, SAENZ Y, ROLO-BEZARES B, MARTINEZ S, CAMPO R, RUIZ-LARREA F, ZARAZAGA F, TORRES C. Detection of vanA and vanB2 containing enterococci from food samples in Spain, including *Enterococcus faecium* strains of CC17 and the new singleton ST425. *International Journal of Food Microbiology*, 133, 172-178, 2009.
27. JUNG WK, LIM JY, KWON NH, KIM JM, HONG SK, KOO HC, KIM SH, PARK YH. Vancomycin-resistant enterococci from animal sources in Korea. *International Journal of Food Microbiology*, 113, 102-107, 2007.
28. BARBOSA J, FERREIRA V, TEIXEIRA P. Antibiotic susceptibility of enterococci isolated from traditional fermented meat products. *Food Microbiology*, 26, 527-532, 2009.
29. BOZKAYA E. *Tıbbi Mikrobiyoloji 2*. Editör: BERKİTEN R, Gram pozitif koklar, Nobel Yayınevi, İstanbul, sayfa 1-29, 2005.
30. MURRAY PR, ROSENTHAL KS, PFALLER MA. *Medical Microbiology*. Elsevier Mosby, Philadelphia, 5th edition, page 259-262, 2005.
31. GILMORE MS. *The Enterococci: Pathogenesis, Molecular Biology and Antibiotic Resistance*. Editör: FACKLAM RR, CARVALHO MGS, TEIXEIRA LM., History, taxonomy, biochemical characteristics, and antibiotic susceptibility testing of Enterococci, ASM Press, Washington, sayfa 1-36, 2002.

32. HOLT GJ, KRIEG NR, SNEATH PH, STALEY JT, WILLIAMS ST. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Williams & Wilkins, United States, 9th edition, page 528-533, 1994.
33. ÇİÇEKLER TOK N. Enterokoklarda vankomisin direnci. Uzmanlık Tezi. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 2006.
34. DU L, SOMKUTI GA, RENYE JR JA, HUO G. Properties of Durancin GL, a new antilisterial bacteriocin produced by *Enterococcus durans* 41D. Journal of Food Safety, 32, 74-83, 2012.
35. STROMPFOVA V, LAUKOVA A. In vitro study of bacteriocin production of Enterococci associated with chickens. Anaerobe, 13, 228-237, 2007.
36. AKKOÇ N, ŞANLIBABA P, AKÇELİK M. Bakteriyosinler: alternatif gıda koruyucuları. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 25 (1-2), 59-70, 2009.
37. VUYST LD, MORENO MRF, REVETS H. Screening for enterocins and detection hemolysin and vancomycin resistance in enterococci of different origins. International Journal of Food Microbiology, 84, 299-318, 2003.
38. FRANZ CMAP, BELKUM MJ, HOLZAPFEL WH, ABRIOUEL, GALVEZ A. Diversity of enterococcal bacteriocins and their grouping in a new classification scheme. FEMS Microbiology Reviews, 31, 293-310, 2007.
39. HADJI-SFAXI I, EL-GHAISH S, AHMADOVA A, BATDORJ B, BLAY-LALIBERTE GL, BARBIER G, HAERTLE T, CHOBERT JM. Antimicrobial activity and safety of use of *Enterococcus faecium* PC4.1 isolated from Mongol yogurt. Food Control, 22, 2020-2027, 2011.
40. GÜRSOY O, KINIK Ö. Peynir teknolojisinde enterokoklar-I: Biyokimyasal özellikleri ve peynir teknolojisindeki önemleri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 43 (3), 79-90, 2006.
41. FRANZ CMAP, HUCH M, ABRIOUEL H, HOLZAPFEL W, GALVEZ A. Enterococci as probiotics and their implications in food safety. International Journal of Food Microbiology, 151, 125-140, 2011.
42. NUENO-PALOP C, NARBAD A. Probiotic assesment of *Enterococcus faecalis* CP58 isolated from human gut. International Journal of Food Microbiology, 145, 390-394, 2011.
43. CEBRIAN R, BANOS A, VALDIVIA A, PEREZ-PULIDO R, MARTINEZ-BUENO M, MAQUEDA M. Characterization of functional, safety, and probiotic properties of *Enterococcus faecalis* UGRA10, a new AS-48 producer strain. Food Microbiology, 30, 59-67, 2012.
44. GURSOY O, KINIK Ö. Peynir teknolojisinde enterokoklar-II: Koruyucu ve probiyotik kültür olarak kullanımları. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 43 (3), 91-100, 2006.
45. LADERO V, FERNANDEZ M, CALLES-ENRIQUEZ M, SANCHEZ-LLANA E, CANEDO E, MARTIN MC, ALVAREZ MA. Is the production of biogenic amines tyramine and putrescine a species-level trait in enterococci. Food Microbiology, 30, 132-138, 2012.
46. RUSSO P, SPANO G, ARENA MP, CAPOZZI V, FIOCCO D, GRIECO F, BENEDEUCE L. Are consumers aware of the risks related to Biogenic Amins in food? Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, 2, 1087-1095, 2010.
47. KOLUMAN A, AKAN LS, ÇAKIROĞLU FP. Occurrence and antimicrobial resistance of enterococci in retail foods. Food Control, 20, 281-283, 2009.
48. HEGSTAD K, MIKALSEN T, COQUE TM, WERNER G, SUNDSFJORD A. Mobile genetic elements and their contribution to the emergence of antimicrobial resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. Clinical Microbiology and Infection, 16, 541-554, 2010.

49. MARINHO C, SILVA N, POMBO S, SANTOS T, MONTEIRO R, CONCALVES A, MICAEL J, RODRIGUES P, COSTA AC, IGREJAS G, POETA P. Echinoderms from Azores islands: An unexpected source of antibiotic resistant *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli* isolates. *Marine Pollution Bulletin*, 69, 122-127, 2013.
50. BERZEG B. Çeşitli klinik materyallerden izole edilen enterokok suşlarında antibiyotik direnci, yüksek düzey aminoglikozid direnci ve e-test ile vankomisin mik değerlerinin belirlenmesi. Uzmanlık Tezi. Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 2005.
51. AKÇİMEN B. Hastane infeksiyonlarından izole edilen vankomisin dirençli enterokokların pulsed field jel elektroforez yöntemi ile genotip tayini. Uzmanlık Tezi. Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 2010.
52. WILLEMS RJ. Population Genetics of *Enterococcus*, in *Bacterial Population Genetics in Infectious*. Chapter 11, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, page 195-211, 2010.
53. BIRGAND G. Glycopeptide resistant enterococci: What's the problem? *Current Anaesthesia & Critical Care*, 20, 248-250, 2009.
54. MESSI P, GUERRIERI E, NIEDERHAUSERN S, SABIA C, BONDI M. Vancomycin-resistant enterococci (VRE) in meat and environmental samples. *International Journal of Food Microbiology*, 107, 218-222, 2006.
55. TACCONELLI E, CATALDO MA. Vancomycin-resistant enterococci: transmission and control. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 31, 99-106, 2008.
56. JENSEN LB, GARCIA-MIGURA L, VALENZUELA AJS, LOHR M, HASMAN H, AARESTRUP FM. A classification system for plasmids from enterococci and other gram-positive bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 80, 25-43, 2010.
57. JONES S, ENGLAND R, EVANS M, SOO SS, VENKATESAN P. Microbiologically confirmed meningoencephalitis due to *Enterococcus avium*: A first report. *Journal of Infection*, 54, 129-131, 2007.
58. MOHANTY S, KAPIL A, DAS BK, DHAWAN B. *Enterococcus avium* cerebellar abscess. *Neurology India*, 54 (1), 108-109, 2006.
59. LEE P, FERGUSON DA, LAFFAN JJ. Vancomycin-resistant *Enterococcus avium* infections: report of 2 cases and a review of *Enterococcus avium* infections. *Infectious Diseases in Clinical Practice*, 12, (4), 239-244, 2004.
60. AGUILAR FJC, SERRANO DG, LORENTE BP, ANTUNEZ MG, DOREGO AT, MIGUEZ AM. Colonic carcinoma disclosed by endocarditis caused by *Enterococcus gallinarum*. *European Journal of Internal Medicine, Oral Communications*, 19, 1-59, 2008.
61. ALMEIDA B, FERNANDES C, COELHO A. *Enterococcus gallinarum*: EMERGING PATHOGEN. *European Journal of Internal Medicine, Abstracts from 8th Congress of European Federation of Internal Medicine*, 20, 28, 2009.
62. NEVES FPG, RIBEIROA RL, DUARTEB RS, TEIXEIRAB LM, MERQUIOR VLC. Emergence of the *vanA* genotype among *Enterococcus gallinarum* isolates colonising the intestinal tract of patients in a university hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33, 211-215, 2009.
63. STEPANOVIC S, JOVANOVIC M, LAYADINOVIC L, STOSOVIC B, PELEMIS M. *Enterococcus durans* endocarditis in a patient with transposition of the great vessels. *Journal of Medical Microbiology*, 53, 269-261, 2004.
64. KASIMOGLU-DOGRU A, GENÇAY YE, DENİZ AYAZ N. Prevalence and antibiotic resistance profiles of *Enterococcus* species in chicken at slaughter level; absence of *vanA* and *vanB* genes in *E. faecalis* and *E. faecium*. *Research in Veterinary Science*, 89, 153-158, 2010.

65. WOODFORD N. Biological counterstrike: antibiotic resistance mechanisms of Gram-positive cocci. *Clinical Microbiology and Infection*, 11 (3), 2-21, 2005.
66. SAKAI Y, TSUKAHARA T, USHIDA K. Possibility of vancomycin-resistant enterococci transmission from human to broilers and possibility of using vancomycin-resistant gram-positive cocci as a model in a screening study of vancomycin-resistant enterococci infection in the broiler chick. *Animal Science Journal*, 77, 538-544, 2006.
67. COCCONCELLI PS, CATTIVELLI D, GAZZOLA S. Gene transfer of vancomycin and tetracycline resistances among *Enterococcus faecalis* during cheese and sausage fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 315-323, 2003.
68. ÇETİNKAYA F, ELAL MUŞ T, SOYUTEMİZ GE, ÇIBİK R. Prevalence and antibiotic resistance of vancomycin-resistant enterococci in animal originated foods. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 37, 588-593, 2013.
69. MARTIN B, GARRIGA M, HUGAS M, AYMERICH T. Genetic diversity and safety aspects of enterococci from slightly fermented sausages. *Journal of Applied Microbiology*, 98, 1177-1190, 2005.
70. GOMES BC, ESTEVES CT, PALAZZO ICV, DARINI ALC, FELTS GE, SECHI LA, FRANCO BDGM, DE MARTINIS ECP. Prevalence and characterization of *Enterococcus* spp. isolated from Brazilian foods. *Food Microbiology*, 25, 668-675, 2008.
71. ROBREDO B, SINGH KV, BAQUERO F, MURRAY BE, TORRES C. Vancomycin-resistant enterococci isolated from animals and food. *International Journal of Food Microbiology*, 54, 197-204, 2000.
72. GOULD IM. VRSA-doomsday superbug or damp squib? *The Lancet Infectious Diseases*, 10 (12), 816-818, 2010.
73. NIEDERHAUSERN S, SABIA C, MESSI P, GUERRIERI E, MANICARDI G, BONDI M. Glucosyltransferase-resistance transferability from vancomycin-resistant enterococci of human and animal source to *Listeria* spp. *Letters in Applied Microbiology*, 39, 483-489, 2004.
74. SEMEDO T, SANTOS MA, LOPES MFS, MARQUES JJF, CRESPO MTB, TENEIRO R. Virulence factors in food, clinical and reference Enterococci: A common trait in the genus? *Systematic and Applied Microbiology*, 26, 13-22, 2003.
75. AMYES SGB. Enterococci and streptococci. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 29 (3), 43-52, 2007.
76. KLİBİ N, SAİD LB, JOUİNİ A, SLAMA KB, LOPEZ M, SALLEM RB, BOUDABOUS A, TORRES C. Species distribution, antibiotic resistance and virulence traits in enterococci from meat in Tunisia. *Meat Science*, 93, 675-680, 2013.
77. LOPES MFS, SIMOES AP, TENEIRO R, MARQUES JJF, CRESPO MTB. Activity and expression of a virulence factor, gelatinase, in dairy enterococci. *International Journal of Food Microbiology*, 112, 208-214, 2006.
78. HALLGREN A, CLAESSESON C, SAEEDI B, MONSTEIN HJ, HANBERGER H, NILSSON LE. Molecular detection of aggregation substance, enterococcal surface protein, and cytotoxin genes and in vitro adhesion to urinary catheters of *Enterococcus faecalis* and *E. faecium* of clinical origin. *International Journal of Medical Microbiology*, 299, 323-332, 2009.
79. BILLSTRÖM H, LUND B, SULLIVAN A, NORD CE. Virulence and antimicrobial resistance in clinical *Enterococcus faecium*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 32, 374-377, 2008.
80. YILDIRIM M. Enterokoklar ve enterokoklarla gelişen infeksiyonlar. *Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2, 46-52, 2007.
81. KLEIN G. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 123-131, 2003.

82. BADGLEY BD, THOMAS FIM, HARWOOD VJ. The effects of submerged aquatic vegetation on the persistence of environmental populations of *Enterococcus* spp. *Environmental Microbiology*, 12 (5), 1271-1281, 2010.
83. BADGLEY BD, THOMAS FIM, HARWOOD VJ. Quantifying environmental reservoirs of fecal indicator bacteria associated with sediment and submerged aquatic vegetation. *Environmental Microbiology*, 13 (4), 932-942, 2011.
84. ZEHNDER M, GUGGENHEIM B. The mysterious appearance of enterococci in filled roo canals. *International Endodontic Journal*, 42, 277-287, 2009.
85. GIRAFFA G. Functionality enterococci in dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 215-222, 2003.
86. DAĞDEMİR E, ÖZDEMİR S. Süt ve mamüllerinde enterokoklar. Türkiye 9. Gıda Kongresi Bildiri Kitabı, Bolu, sayfa 903-906, 2006.
87. FRANZ CMAP, STILES ME, SCHLEIFER KH, HOLZAPFEL W. Enterococci in foods - a cocundorum for food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 105-122, 2003.
88. SARANTINOPOULOS P, LEROY F, LEONTOPOULOU E, GEORGALAKI MD, KALANTZOPOULOS G, TSAKALIDOU E, VUYST LD. Bacteriocin production by *Enterococcus faecium* FAIR-E 198 in view of its application as adjunct starter in Greek Feta cheese making. *International Journal of Food Microbiology*, 72, 125-136, 2002.
89. HUGAS M, GARRIGA M, AYMERICH MT. Functionality of enterococci in meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 223-233, 2003.
90. JAHAN M, KRAUSE DO, HOLLEY RA. Antimicrobial resistance of *Enterococcus* species from meat and fermented meat products isolated by a PCR-based rapid screening method. *International Journal of Food Microbiology*, 163, 89-95, 2013.
91. VALENZUELA AS, BENOMAR N, ABRIOUEL H, CANAMERO MM, GALVEZ A. Isolation and identification of *Enterococcus faecium* from seafoods: Antimicrobial resistance and production of bacteriocin-like substances. *Food Microbiology*, 27, 955-961, 2010.
92. SAVAŞAN S, KAYA O, KIRKAN Ş, ÇİFTÇİ A. Balık kökenli *Enterococcus faecalis* suşlarının antibiyotik dirençlilikleri. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 55, 107-110, 2008.
93. PATIR B, DİNÇOĞLU AH, İNANLI AG. Keban Barajı gölü tatlı su ıstakozlarının (*Actacuc leptodactylus* Escholtz 1823) mikrobiyolojik kalitesi ile mikrobiyal florası üzerine araştırmalar. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 19 (1-2), 19-28, 2002.
94. ÇITAK S, GÜNDOĞAN N, KALA E. Ankara ilindeki dondurulmuş et ve sebzelerde koliform ve enterokokların fekal indikatör bakteri olarak değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 66 (4), 145-151, 2009.
95. ANONİM. İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelikte Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik. T.C. Sağlık Bakanlığı, Resmi Gazete, Tarih: 07.03.2013, Sayı: 28580, Ankara.
96. ALEMDAR S, KAHRAMAN T, AĞAOĞLU S, ALIŞARLI M. Bitlis ili içme sularının bazı mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özellikleri. *Ekoloji*, 73, 29-38, 2009.
97. ORYAŞIN E. Çeşitli çevresel kaynaklardan izole edilen enterokokların disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılıklarının tespiti. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Aydın, 2008.
98. MATYAR F, DİNÇER S. Doğu Akdeniz'den izole edilen *Enterococcus faecalis* bakterilerinin antibiyotik ve ağır metal dirençliliği. *SDU Journal of Science (e-journal)*, 5 (2), 172-178, 2010.
99. ROBERTS D, GREENWOOD M. *Practical food microbiology*, Blackwell Publishing, Massachusetts, USA, 3th edition, page 160-161, 2003.

100. ANONİM. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-second informational supplement. M100-S22, Vol.32, No.3 (90-94), Wayne, PA, USA, January 2012.
101. OMAR NB, CASTRO A, LUCAS R, ABRIOUEL H, YOUSIF NMK, FRANZ CMAP, HOLZAPFEL WH, PEREZ-PULIDO R, MARTINEZ-CANAMERO M, GALVEZ A. Functional and safety aspects of enterococci isolated from different Spanish foods. *Systematic and Applied Microbiology*, 27, 118-130, 2004.
102. PESAVENTO G, CALONICO C, DUCCI B, MAGNANINI A, NOSTRO AL. Prevalence and antibiotic resistance of *Enterococcus* spp. isolated from retail cheese, ready-to-eat salads, ham and raw meat. *Food Microbiology*, 41, 1-7, 2014.
103. PETERS J, MAC KIEM, WICHMANN-SCHAUER H, KLEIN G, ELLEBROEK L. Species distribution and antibiotic resistance patterns of enterococci isolated from food of animal origin in Germany. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 311-314, 2003.
104. DEVRIESE LA, POT B, VAN DAMME L, KERSTERS K, HAESEBROUCK F. Identification of *Enterococcus* species isolated from foods of animal origin. *International Journal of Food Microbiology*, 26, 187-197, 1995.
105. MANNU L, PABA A, DAGA E, COMUNIAN R, ZANETTI S, DUPRE I, SECHI LA. Comparison of the incidence of virulence determinants and antibiotic resistance between *Enterococcus faecium* strains of dairy, animal and clinical origin. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 291-304, 2003.
106. MALEK R, EL-ATTAR A, MOHAMED M, ANWAR S, EL-SODA M, BEAL C. Technological and safety properties display biodiversity among enterococci isolated from two Egyptian cheeses, “Ras” and “Domiaty”. *International Journal of Food Microbiology*, 153, 314-322, 2012.
107. JAMET E, AKARY E, POISSON MA, CHAMBA JF, BERTRAND X, SERROR P. Prevalence and characterization of antibiotic resistant *Enterococcus faecalis* in French cheeses. *Food Microbiology*, 31, 191-198, 2012.
108. NIETO-ARRIBAS P, SESENA S, POVEDA JM, CHICON R, CABEZAS L, PALOP L. *Enterococcus* populations in artisanal manchego cheese: Biodiversity, technological and safety aspects. *Food Microbiology*, 28, 891-899, 2011.
109. ARIZCUN C, BARCINA Y, TORRE P. Identification and characterization of proteolytic activity of *Enterococcus* spp. isolated from milk and Roncal and Idiazabal cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 38, 17-24, 1997.
110. ELMALI M, YAMAN H. Microbiological quality of yoghurt consumed in Kars. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 31, 19-24, 2005.
111. ŞİRELİ UT, ÖZDEMİR H. Ankara’da tüketime sunulan meyveli yoğurtların mikrobiyolojik kalitesi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 45, 287-293, 1998.
112. CETINKAYA F, ELAL MUS T. Determination of microbiological and chemical characteristics of kefir consumed in Bursa. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 59, 217-221, 2012.
113. CHAVES-LOPEZ C, SERIO A, MARTUSCELLI M, PAPARELLA A, OSORIO-CADAVID E, SUZZI G. Microbiological characteristics of kumis, a traditional fermented Colombian milk, with particular emphasis on enterococci population. *Food Microbiology*, 28, 1041-1047, 2011.
114. ASLAM M, DIARRA MS, CHECKLEY S, BOHAYCHUK V, MASSON L. Characterization of antimicrobial resistance and virulence genes in *Enterococcus* spp. isolated from retail meats in Alberta, Canada. *International Journal of Food Microbiology*, 156, 222-230, 2012.

115. BARBOSA J, GIBBS PA, TEIXEIRA P. Virulence factors among enterococci isolated from traditional fermented meat products produced in the North of Portugal. *Food Control*, 21, 651, 656, 2010.
116. ELMALI M, ULUKANLI Z, YAMAN H. Kars'ta satışa sunulan emülsifiye tipi et ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2, 15-21, 2005.
117. APAYDIN G, CEYLAN ZG, KAYA M. Değişik firmalara ait salamların bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27, 1299-1303, 2003.
118. DİNÇER E, KIVANÇ M. Characterization of lactic acid bacteria from Turkish pastırma. *Annals of Microbiology*, 62, 1155-1163, 2012.
119. ATLAN M, İŞLEYİCİ Ö. Van ilinde dondurulmuş olarak satışa sunulan bazı et ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 7, 93-103, 2012.
120. CHOI JM, WOO GJ. Molecular characterization of high-level gentamicin-resistant *Enterococcus faecalis* from chicken meat in Korea. *International Journal of Food Microbiology*, 165, 1-6, 2013.
121. CHAFER-PERİCAS C, MAQUIEIRA A, PUCHADES R. Fast screening methods to detect antibiotic residues in food samples. *Trends in Analytical Chemistry*, 29 (9), 1038-1049, 2010.
122. KHAN SA, NAWAZ MS, KHAN AA, HOPPER SL, JONES RA, CERNIGLIA CE. Molecular characterization of multidrug-resistant *Enterococcus* spp. from poultry and dairy farms: detection of virulence and vancomycin resistance gene markers by PCR. *Molecular and Cellular Probes*, 19, 27-34, 2005.
123. SHEPARD BD, GILMORE MS. Antibiotic-resistant enterococci: the mechanisms and dynamics of drug introduction and resistance. *Microbes and Infection* 4, 215-224, 2002.
124. LOPES MFS, RIBEIRO T, ABRANTES M, MARQUES JJF, TENREIRO R, CRESPO MTB. Antimicrobial resistance profiles of dairy and clinical isolates and type strains of enterococci. *International Journal of Food Microbiology*, 103, 191-198, 2005.
125. TERKURAN M, ERGİNKAYA Z, ÜNAL E, GÖKMEN T, KIZILYILDIRIM S, KÖKSAL F. Comparison of genotypic diversity and vancomycin resistance of enterococci isolated from foods and clinical sources in Adana Region of Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20, 121- 128, 2014.

TEŞEKKÜR

Doktora çalıőmam sűresince beni teővik eden, her aőamasında bana yol gűsteren, her konuda yardımcı olan danıőman hocam Prof. Dr. Figen ÇETİNKAYA'ya, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Baőkanı Prof. Dr. Recep ÇIBIK'a, Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Baőkanlıęı'ndan Uzm. Dr. Hűsniye ŐİMŐEK'e, Doç. Dr. Nilay ÇÖPLÜ'ye ve tűm Anabilim Dalı çalıőanlarına sonsuz Őukranlarımı ve teőekkűrlerimi sunuyorum. Doktoraya baőlamama ve bitirmeme çok bűyűk katkısı olan, bu konuda her tűrlű űzveriyi gűsteren deęerli eőim Bűlent MUŐ'a sevgilerimi ve saygılarımı sunuyorum.

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Bursa'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Bursa'da tamamladım. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 2001 yılında mezun oldum. Mezuniyet sonrası çeşitli özel sektör kuruluşlarında çalıştıktan sonra, 2008 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında doktora başladım. 2009 yılında Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak işe başladım ve 2014 yılına kadar görev yaptım.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TEZ ÇOĞALTMA VE ELEKTRONİK YAYIMLAMA İZİN FORMU

YAZAR ADI SOYADI	Tülay ELAL MUŞ
Tez Adı	Hayvansal Kaynaklı Gıdalarda Enterokokların Varlığı, Tür Düzeyinde İdentifikasyonları ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi
Enstitü	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Besin Hijyeni ve Teknolojisi
Tez Türü	Doktora
Tez Danışma(lar)ı	Prof. Dr. Figen ÇETİNKAYA
Çoğaltma (Fotokopi Çekim)İzni	<input type="checkbox"/> Tezimden fotokopi çekilmesine izin veriyorum. <input type="checkbox"/> Tezimden sadece içindekiler, özet, kaynakça ve içeriğinin %10 bölümünün fotokopi çekilmesine izin veriyorum. <input checked="" type="checkbox"/> Tezimden fotokopi çekilmesine izin vermiyorum.
Yayımlama İzni	<input type="checkbox"/> Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasına izin veriyorum. <input checked="" type="checkbox"/> Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasının ertelenmesini istiyorum. 1 yıl <input type="checkbox"/> 2 yıl <input checked="" type="checkbox"/> 3 yıl <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasına izin vermiyorum.

Hazırlamış olduğum tezimin yukarıda belirttiğim hususlar dikkate alınarak, fikri mülkiyet haklarım saklı kalmak üzere Uludağ Üniversitesi Kütüphane ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı tarafından hizmete sunulmasına izin verdiğimi beyan ederim.

Tarih: 15/07/2014

İmza: