

STAPHYLOCOCCUS AUREUS İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON

GENEL ÖZELLİKLER

Micrococcaceae familyasına ait olup, *Staphylococcus* soyu içerisinde yer alır. Enterotoksijenik özelliğe sahiptir. Gram (+) hareketsiz, katalaz pozitif, yuvarlak formu bir bakteri olup, sıvı besi yerlerinden yapılan mikrobiyolojik muayenelerde üzüm formunda görülürler. Koagulaz (+)'lik stafilokoklar için önemli bir patojenite faktörüdür. *S.aureus* gibi enterotoksin oluşturma özelliğinde ve gıda zehirlenmelerine neden olan patojen türlerin yanı sıra *S.carnosus* ve *S.xylosus* gibi fermantasyon teknolojisinde (Ör: Sucuk üretimi) starter kültür olarak kullanılan türlerde bulunmaktadır. Etken 6 - 45 °C arasında üreyebilmektedir. Optimal üreme sıcaklığı 35 - 37 °C'dir. Toksinler en çok 37 °C'de üretilir iken 25 - 30 °C'de de toksin oluşturulmaktadır. Isı uygulaması ile stafilokokların çoğu inaktive edilmektedir.

Optimal pH değeri 7 civarındadır. pH değerleri 4.0 - 10 arasında da üreyebilmektedir. Gıdaların çoğunda stafilokokların pH değeri 5.0 altında genelde toksin oluşturamadıkları bildirilmektedir. Su aktivitesi (a_w değeri) etkenin üremesi için 0.83 iken toksin oluşturmada 0.86'dır. *S.aureus* en çok %20 tuz konsantrasyonunda üreyebilmekte ve % 10'luk tuz konsantrasyonunda toksin oluşturabilmektedir.

Stafilokoklar karışık kültürlerde diğer mikroorganizmalar tarafından kolay baskılanırlar. Özellikle *Enterococcus*, *Lactococcus* ve *Leuconostoc* önemli baskılayıcı bakteriler olarak değerlendirilir. Gram (-) mikroorganizmalardan *E.coli*, *Pseudomonas*, *Serratia* ve *Aerobacter*, *S.aureus*'un gelişimi üzerine baskılayıcı etkiye sahiptir.

S.aureus genelde koagulaz enzimine sahiptir. Mannitol ve çeşitli şekerleri fermente ederek asit oluşturur, ancak gaz oluşturmaz. *S.aureus* ile gıda zehirlenmeleri belirli suşlar tarafından gıdada oluşturulan enterotoksinlerin (A, B, C₁, C₂, C₃, D ve E) sindirim yolu ile alınması sonucu meydana geldiği için, *S.aureus*'un gıdalarla alınmış olması mutlak gerekli değildir. Enterotoksijenik *S.aureus*'ların gıdada 10^2 kob/g, \geq düzeyinde veya daha yüksek olması durumunda yeterli miktarda toksin oluşturabilirler. Duyarlı insanlarda 1 µg toksin intoksikasyon oluşumu için yeterlidir (Genel olarak 1-10 µg toksinin oral yolla alınması gereklidir).

Stafilokokal intoksikasyonlarda sıklıkla sorumlu tutulan gıdalar arasında kontamine süt ve süt ürünleri ilk sırada yer almaktadır. Kremalı pasta, dondurma, sandviç, gibi ısı işlemi görmüş et ürünleri, tavuk eti de stafilokokal gıda zehirlenmelerinde büyük rol oynar.

TANIMLAR

(1) BP (Baird Parker Medium) :

Kazeinin pankreatik parçalanması	10.0 g
Et ekstraktı	5.0 g
Yeast extract	1.0 g
Sodium pyruvate	10.0 g
Glycine	12.0 g
Lithium chloride	5.0 g
Agar	12.0 g – 22.0 g arası
Distile su	950 ml
pH	7.2±0.2 ml

Bileşiminde hazırlanan 121°C de 15 dakika otoklavda sterilize edilen temel besiyeridir.

(2) Egg yolk Tellurite Emulsion :

Temel besiyeri	100.0 ml
Potasyum tellürit çözeltisi	1.0 ml
Yumurta sarısı emülsiyonu	5.0 ml

NOT: Eğer ticarî hazır emülsiyon varsa, kullanılabilir.

(3) Tavşan Plazması

Piyasaya arz edilmiş olan kurutulmuş tavşan plazması kullanılır ve imalatçı firmanın tarifnamesine göre işlem yapılır. Eğer kurutulmuş tavşan plazması piyasadan temin edilemiyorsa, bir hacim taze steril tavşan plazması üç hacim steril su ile seyreltilir.

Islatılmış kuru plazmaya veya seyreltilmiş plazmaya % 0,1 EDTA (etilendiamintetraasetik asit) çözeltisi ilâve edilir. Bu durumda plâzmanın pıhtılaşmasını önleyici olarak^{3'} potasyum sitrat veya sodyum sitrat kullanılır. (Okzalath veya heparinli plâzma için EDTA'ya ihtiyaç duyulmaz)

Kullanmadan önce her seferinde kullanılan plazma, stafilokokların koagülaz-pozitif susu ve koagülaz-negatif susu ile test edilir.

DENEY

(1) 10 g numune hassas terazide tartılarak steril poşet veya kavanoza konulur. 90 ml peptonlu su ile 1 / 10 oranında homojenize edilir.

(2) Her gıda-içecek numunesinin özel şartnamesinde belirtilen sınır kadar dilüsyonlar hazırlanıp en son dilüsyondan BP besiyerine numunenin türüne göre dökme plak (1ml), yayma plak (0.1 ml) veya damla plak (0.05ml) yöntemlerinden birisi seçilerek ekim yapılır.

(3) Ekim işlemi bittikten sonra petri 37 °C'de 24 - 48 saat inkübasyona tabi tutulur. İnkübasyon sonunda tarafından sonuçlar değerlendirilir.

(4) **Kolonilerin Değerlendirilmesi:** Baird-Parker agarda inkübasyondan sonra yuvarlak 2 - 3 mm çapında düzgün kenarlı, konveks, gri/siyah renkli opak bir halka içinde ve etrafında şeffaf bir zon bulunan tipik koloniler oluşturur. Ancak bazı *S.aureus* suşları lesitinaz aktivitesi göstermediğinden (özellikle süt ürünlerinde rastlanır) şeffaf zon görülmeyen atipik kolonilerde oluşturabilir. Besiyerinde gözlenen tipik ve atipik koloniler sayılır. Tipik ve atipik kolonilere örnekleme metodu ile koagülaz testi uygulanmalıdır.

(5) **Koagülaz Testleri:** Baird-Parker agardan izole edilen tipik (Lesitinaz pozitif) ve atipik (Lesitinaz negatif) kolonilerden bir öze yardımı ile içerisinde Brain Heart İnfüzyon (BHI) broth bulunan tüplere geçilerek 37 °C'de 24 saat inkübe edilir. İnkübasyondan sonra BHI'dan 0,1 ml. alınarak içerisinde 0.3 ml tavşan plazması bulunan koagülaz tüpüne konularak, 37 °C'de 4 - 6 saat inkübe edilir. Değerlendirmede 3 (üç) pozitiflikten sonraki dantel formu koagülaz (+) olarak değerlendirilir.