



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2023; 37 (3): 237 - 244
http://www.fusabil.org

Organik Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen *Staphylococcus* spp.'nin Tür Düzeyinde Dağılımı ve Antibiyotiklere Duyarlılığının Belirlenmesi *

Emine TANAMAN^{1, a}
Aydın VURAL^{2, b}

¹ Diyarbakır Gıda Kontrol
Laboratuvar Müdürlüğü,
Diyarbakır, TÜRKİYE

² Dicle Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Besin/Gıda Hijyeni ve
Teknolojisi Anabilim Dalı,
Diyarbakır, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0002-5298-633X

^b ORCID: 0000-0002-6232-2131

Bu çalışmada 104 adet organik süt ve süt ürününde *Staphylococcus* spp.'nin tür düzeyinde tespiti, tespit edilen izolatlarda enterotoksin varlığının, antibiyotik duyarlılığının ve biyofilm oluşumunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Klasik yöntemlerle tespit edilen izolatların tanımlanmasında Vitek 2 kompakt bakteri tanımlama sistemi kullanılmıştır. Staphylococcal enterotoksin varlığının belirlenmesi ELFA yöntemi ile VIDAS cihazında gerçekleştirilmiştir. *Staphylococcus* izolatlarında biyofilm üretiminin belirlenmesinde tüp metodu, antibiyotik duyarlılığının belirlenmesinde disk difüzyon metodu kullanılmıştır. *S. aureus* sadece beyaz peynir örneklerinden izole edilmiştir. Beyaz peynir örneklerinde *S. equorum*, *S. hominis subsp. hominis* ve *S. sciuri*; dil peyniri örneklerinde *S. saprophyticus* ve *S. xylosum*; kaşar peyniri örneklerinde *S. carnosus subsp. carnosus* ve *S. caprae*; keçi peyniri örneklerinde *S. haemolyticus* ve *S. hominis subsp. hominis* türleri bulunmuştur. Süt, yoğurt, tereyağı ve kefir örneklerinde ise KNS varlığı tespit edilememiştir. Tespit edilen izolatlarda %1.92 düzeyinde stafilokokal enterotoksin saptanmıştır. *S. aureus* izolatlarında sefoksitin (metisilin) ve gentamisin direnci %50 ve %25 düzeyinde bulunmuştur. *S. aureus*, *S. sciuri*, *S. carnosus*, *S. hominis* ve *S. xylosum* izolatlarında en az iki ve daha fazla antibiyotiğe karşı direnç (çoklu direnç) saptanmıştır. *S. aureus* izolatlarının zayıf ve orta düzeyde biyofilm oluşturma oranları %75 ve %25 iken; KNS'lerde bu değerler %53.8 ve %46.2'dir. İzolatların hiçbirisi güçlü düzeyde biyofilm oluşturmamıştır. Süt, yoğurt, keçi peyniri, tereyağı ve kefir örneklerinde ise biyofilm oluşumu saptanmamıştır. Bu çalışmada insan sağlığı açısından risk oluşturan *Staphylococcus* spp. ve enterotoksinlerinin organik süt ve ürünlerinde bulunabildiği ortaya konulmuştur. Organik süt ürünlerindeki risk analizlerinde bu sonuçlar kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik duyarlılığı, biyofilm oluşumu, koagülaz negatif *Staphylococcus*, organik süt ürünleri, *S. aureus*

Determination of Species Diversity and Antibiotic Susceptibility of *Staphylococcus* spp. Isolated from Organic Dairy Products

In this study, it was aimed to determine the species level of *Staphylococcus* spp. in 104 organic milk and dairy products, and the presence of their enterotoxins, antibiotic susceptibility and biofilm formation in the isolates. Vitek 2 compact bacteria identification system was used to identify the isolates detected by classical methods. Determination of the presence of staphylococcal enterotoxin was carried out with the ELFA method in the VIDAS device. Tube method was used to determine biofilm production and the disk diffusion method was used to determine antibiotic susceptibility in the isolates. *S. aureus* was isolated only from white cheese samples. *S. equorum*, *S. hominis subsp. hominis* and *S. sciuri* in white cheese samples; *S. saprophyticus* and *S. xylosum* in the dil cheese samples; *S. carnosus subsp. carnosus* and *S. caprae* in kashar cheese; *S. haemolyticus* and *S. hominis subsp. hominis* in goat cheese samples were found. The presence of CNS couldn't be detected in milk, yoghurt, butter and kefir samples. Staphylococcal enterotoxin at the level of 1.92 % were found in the isolates detected. In *S. aureus* isolates cefoxitin (methicillin) and gentamicin resistance were found in 50% and 25%. *S. aureus*, *S. sciuri*, *S. carnosus*, *S. hominis* and *S. xylosum* isolates were resistant to at least two or more antibiotics (multiple resistance). The weak and moderate biofilm formation rates of *S. aureus* isolates were 75% and 25%, respectively; in CNS, these values are 53.8% and 46.2%, respectively. None of the isolates were able to form strong biofilms. No biofilm formation was detected in milk, yoghurt, goat cheese, butter and kefir samples. In this study, it was revealed that *Staphylococcus* spp. and enterotoxins could be found in organic milk and products. These results can be used in risk analysis of organic dairy products.

Key Words: Antibiotic susceptibility, biofilm formation, coagulase negative *Staphylococcus*, organic dairy product, *S. aureus*

Giriş

Son yıllarda sosyo-ekonomik durumun gelişmesi ile paralel olarak tüketicilerin organik gıda tercihlerinde de artış görülmektedir. Organik süt üretiminde bitkisel üretim, hayvan yetiştiriciliği ile sütün işlenmesinde organik yöntemlerin kullanılması; sentetik kimyasallar, hormonlar ve antibiyotiklerin ise kullanılmadan üretim yapılması gerekmektedir (1). Süt ve süt ürünlerinin içerdiği zengin besin öğeleri yararlı ve zararlı birçok mikroorganizmanın gelişimi için uygun bir ortam oluşturmaktadır (2). Hayvan

* Bu çalışma; Emine TANAMAN'ın yüksek lisans tezinden özetlenmiş olup Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından VETERİNER 19.011 proje ile desteklenmiştir.

Geliş Tarihi : 27.06.2023

Kabul Tarihi : 21.07.2023

Yazışma Adresi Correspondence

Aydın VURAL
Dicle Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Gıda Hijyeni ve Teknolojisi
Ana Bilim Dalı
Diyarbakır – TÜRKİYE

avural@dicle.edu.tr

sağlığına yeterince önem verilmemesi, sağım, depolama, süte uygulanan işlemler, işletme ortamı ile üretim aşamalarında gerekli hijyen kurallarına uyulmaması durumunda süt ve süt ürünleri mikroorganizmalar ile kontamine olabilmektedir (3, 4).

Staphylococcus spp. çeşitli enfeksiyonlara ve gıda kaynaklı zehirlenmelere neden olabilen halk sağlığı açısından önemli mikroorganizmalardır. Staphylococcal gıda zehirlenmeleri daha çok ana etken olarak görülen *Staphylococcus aureus* tarafından sentezlenen ve sindirim sistemi üzerine etkili olan enterotoksinler ile ortaya çıkmaktadır (5, 6). *S. aureus* aynı zamanda önemli bir mastitis etkenidir (7). Yaygın olarak gıda zehirlenmesi ile ilişkilendirilen *S. aureus* sıklıkla süt ve süt ürünlerinden tespit edilmektedir (8, 9). Uzun yıllar gıda zehirlenmelerinin esas etkeni olarak sadece *S. aureus* sorumlu tutulmasına rağmen *S. hyicus* ve *S. intermedius* gibi diğer koagülaz pozitif *Staphylococcus* (KPS) ile *S. epidermidis* ve *S. xylosus* gibi koagülaz negatif *Staphylococcus* (KNS) türlerinin de enterotoksin ürettiği bildirilmektedir (10-12).

Süt hayvancılığında tedavi veya koruma amacıyla yaygın ve kimi zaman kontrolsüz olarak kullanılan antibiyotikler patojenler ve diğer birçok bakteri türünde antibiyotiklere karşı direnç kazanılmasına neden olmaktadır. Antibiyotik direnç genlerini taşıyan patojen veya biotada yer alan bakteriler gıda aracılığıyla insan biotasında da kolonize olarak meydana gelen direncin insana aktarılmasında aracı rol oynamaktadır (6).

Bazı bakteriler biyofilm olarak tanımlanan biyotik veya abiyotik yüzeylere tutunarak kendi ürettikleri bir matris içine alınmış yapısal bakteri hücre toplulukları oluşturabilirler. Biyofilmler konakçı savunması, antibiyotik ve dezenfektanların bakterisidal konsantrasyonları gibi elimine edici ajanlara karşı koruyucu işlev sağlamaktadır. Biyofilm oluşumu birçok bakteriyel patojende önemli bir virülans faktörüdür (13, 14).

Bu çalışma; organik ürün marketlerinde satışı sunulan organik süt ve süt ürünlerinde bulunması muhtemel *Staphylococcus* spp.'nin tür düzeyinde tespiti, enterotoksin varlığı, antibiyotik direnci ve biyofilm oluşturma yeteneklerinin belirlenmesi amacıyla planlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Numunelerin Toplanması: Bu çalışmada İstanbul merkezli organik ürün satan marketlerden satın alınan farklı firmalara ait orijinal ambalajlarındaki 13'er adet süt, kefir, yoğurt, beyaz peynir, kaşar peyniri, dil peyniri, keçi peyniri ve tereyağından oluşan toplam 104 adet örnek materyal olarak kullanılmıştır. Orijinal ambalajı içinde strafor kolilerde ve soğuk zincir koşullarında (4-8°C'de) taşınan örnekler laboratuvara teslim edildiği gün analize alınmıştır.

Örneklerin Hazırlanması: *Staphylococcus* spp. tespiti için aseptik koşullarda süt ve kefir örneklerinden 10'ar mL; yoğurt, peynir ve tereyağı örneklerinden ise 10'ar g tartılarak, üzerlerine 90 mL Maximum Recovery

Diluent (MRD, Merck, Almanya) ilave edilmiştir. Homojenizasyon sonrası (2 dk) 1:10'luk düzende steril MRD içeren 9 mL'lik tüplerde seri dilüsyonlar yapılmıştır.

Staphylococcus-Micrococcus Sayısının Belirlenmesi: Süt ve kefir örneklerinden direkt olarak, diğer örneklerin ise uygun dilüsyonlarından Egg Yolk Tellürit (Merck, Almanya) ilave edilerek Baird Parker Agar'a (BPA, Merck, Almanya) 0.3-0.3-0.4 mL (toplamda 1 mL) miktarında yayma plak yöntemi ile ekimi yapılmıştır. 37°C'de 24-48 saat inkübasyon sonunda 1-3 mm çapında siyah veya gri renkte, parlak ve dış büyük şeffaf zonlu olan siyah koloniler *Staphylococcus-Micrococcus* spp. olarak kabul edilmiştir (15). Bu koloniler Tryptone Soya agar (TSA, Merck, Almanya) besiyerine pasajlanarak Gram boyama (16), katalaz (17) ve koagülaz testleri (15, 18) gerçekleştirilmiştir.

Staphylococcus İzolatlarının Tür Düzeyinde Tespiti: Gram pozitif, katalaz pozitif, koagülaz pozitif/negatif olan izolatların tür düzeyinde tespiti VİTEK 2 (BioMerieux, Fransa) bakteriyel identifikasyon cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. TSA besiyerinde saflaştırılan koloniler, kanlı agar besiyerinde 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiş (19) ve taze koloniler elde edilmiştir. Koloniler 3 mL fizyolojik tuzlu su olan tüplere aktarılarak hazırlanan süspansiyon, üretici firma tarafından önerildiği şekilde Gram pozitif bakteriler için önerilen 0.5-0.63 McFarland (McF) konsantrasyonuna ayarlanarak ve Gram pozitif (GP) (Biomerieux, Fransa) kartlar kullanılarak identifikasyon gerçekleştirilmiştir (20).

Staphylococcal Enterotoksin Varlığının Belirlenmesi: Mini VIDAS cihazı (Biomerieux, Fransa) ile enterotoksin varlığının araştırılması için her örnekten aseptik koşullarda 25'er g (veya mililitre) alınarak üzerine 40 mL demineralize su ilave edilmiştir. Karışım stomacher cihazında 3 dk süreyle homojenize edildikten sonra homojenizat 18-25°C'de 15 ile 30 dk bekletilmiştir. pH değeri kontrol edilerek 5N HCl ile pH 3.5-4.0'a ayarlanmıştır. Süspansiyon 18-25°C'de, 3000-5000 devirde 15 dk santrifüjlendikten sonra süzme işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen filtrat VIDAS SET 2 (VIDAS Set II Staph Enterotoxin, Biomerieux, Fransa) analiz cihazına otomatik pipet ile reaktif stribinin numune kuyucuğuna 0.5 mL olacak şekilde eklenmiştir. Örnekler cihaz tarafından yaklaşık 2-4 saat içerisinde değerlendirilmiştir. Cihaz ≥ 0.13 eşik değerinin üstündeki değerleri pozitif olarak kabul etmiştir (21).

Antibiyotik Duyarlılığının Belirlenmesi: Tespit edilen izolatlarda antibiyotiklere karşı duyarlılık Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile amoksisilin+klavulanik asit (20+10 µg, Oxoid, İngiltere), trimetoprim+sulfametoksazol (1.25+23.75 µg, Oxoid, İngiltere), ampisilin (10 µg, Oxoid, İngiltere), eritromisin (15 µg, Oxoid, İngiltere), tetrasiklin (30 µg, Oxoid, İngiltere), klindamisin (2 µg, Bioanalyse, Türkiye), siprofloksasin (5 µg, Bioanalyse, Türkiye), gentamisin (10 µg, Bioanalyse, Türkiye), oksasilin (1 µg, Bioanalyse, Türkiye) ve sefoksitin (30 µg, Bioanalyse, Türkiye) antibiyotik diskleri kullanılarak araştırılmıştır. Brain Heart Infusion Broth (Oxoid, İngiltere) içerisinde 18-24 saat inkübe edilen izolatlar 0.5 McF bulanıklığına

ayarlanmıştır. Bu süspansiyondan Mueller Hinton Agar (Oxoid, İngiltere) besiyeri yüzeyine steril eküvyon ile ekim yapılarak plakların yüzeyinin kuruması beklenmiştir. Farklı antibiyotik diskleri 3'er cm ara ile MHA besiyeri içeren petrilere yerleştirilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda disk çevresinde oluşan zon çapları duyarlı, orta dirençli ve dirençli olarak değerlendirilmiştir. *S. aureus* ve KNS izolatlarında sefoksitin antibiyotiğine olan direnç metisilin direnci olarak değerlendirilmiştir. Antibiyotik disklerinin seçiminde ve duyarlılığın belirlenmesinde CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, ABD) standartları ve benzer araştırmalar temel alınmıştır (22-24).

Biyofilm Oluşumunun Saptanması: Biyofilm oluşumunu tespit etmek için Christensen tüp metodu kullanılmıştır (25, 26). Şüpheli koloniler %1 glikoz içeren 10 mL Tryptose Soy Broth (Merck, Almanya) içerisine bir öze ile inoküle edildikten sonra 37°C'de 24 saat aerobik koşullarda bekletilmiştir. Daha sonra tüpler boşaltılarak Phosphate Buffer Saline (pH 7.2) ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Kuruma sonrası tüplere %0.1'lik kristal viyole eklenerek bir süre bekletilmiş ve sonrasında tüpler deiyonize su ile yıkanarak ters pozisyonda kurutulmuştur. Deney üç kez tekrarlanmıştır. Tüplerin iç çeperinde renkli tabakanın varlığı pozitif olarak, rengin koyuluk derecesi ise 1-zayıf, 2-orta ve 3-yüksek olarak değerlendirilmiştir.

Mevzuata Uygunluğun Değerlendirilmesi: Analiz edilen örneklerin *Staphylococcus-Micrococcus* Sayısı ve *Staphylococcal* Enterotoksin (SE) Varlığı yönünden Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'ne uygunluğu değerlendirilmiştir (27).

Bulgular

Bu çalışmada toplam 104 adet organik süt ve süt ürünü *Staphylococcus-Micrococcus* sayısı, *S. aureus*, KNS ve *Staphylococcal* enterotoksin varlığı ile saptanan izolatların antibiyotik duyarlılığı ve biyofilm oluşumu yönünden incelenmiştir.

***Staphylococcus-Micrococcus* Sayısı:** Analiz edilen 19 adet (%18.27) peynir örneğinde *Staphylococcus-Micrococcus* tespit edilmiştir. En yüksek oran %53.85 (7 örnek) ile keçi peynirlerinde tespit edilirken, bunu sırasıyla dil peyniri (%46.15, 6 örnek), kaşar peyniri (%30.77, 4 örnek) ve beyaz peynirin (%15.38, 2 örnek) takip ettiği saptanmıştır. Süt, yoğurt, tereyağı ve kefir örneklerinde ise *Staphylococcus-Micrococcus* bulunamamıştır. Peynir örneklerindeki ortalama *Staphylococcus-Micrococcus* sayısı 4.49 log₁₀ kob/g olarak tespit edilmiştir.

Stafilokok İzolatlarının Tür Düzeyinde Dağılımı: Analiz edilen örnekler içerisinde sadece 2 adet beyaz peynir örneğinde *S. aureus* varlığı saptanmıştır. *S. aureus* kontaminasyonu beyaz peynir örneklerinde %15.38, tüm peynirlerde %3.85 ve analiz edilen tüm örnekler içerisinde ise %1.92 olarak belirlenmiştir. İncelenen 2 beyaz peynir örneğinde *S. aureus* sayısı 2 log₁₀ kob/g ve 2.48 log₁₀ kob/g olarak tespit edilmiştir.

Beyaz peynir (3 örnekte 5 izolat), kaşar peyniri (3 örnekte 6 izolat), dil peyniri (4 örnekte 12 izolat) ve keçi peyniri (3 örnekte 6 izolat) örneklerinde KNS türleri bulunmuştur. *S. saprophyticus* ve *S. hominis* subsp. *hominis* 3'er örnekte (%2.88) tespit edilmiştir. Beyaz peynir örneklerinde *S. equorum*, *S. hominis* subsp. *hominis* ve *S. sciuri*; dil peyniri örneklerinde *S. saprophyticus* ve *S. xylosus*; kaşar peyniri örneklerinde *S. carnosus* subsp. *carnosus* ve *S. caprae*; keçi peyniri örneklerinde *S. haemolyticus* ve *S. hominis* subsp. *hominis* türleri saptanmıştır. Süt, yoğurt, tereyağı ve kefir örneklerinde ise KNS varlığı tespit edilememiştir.

Staphylococcal Enterotoksin (SE) Varlığı: Sadece 2 adet beyaz peynir örneğinde SE varlığı saptanmıştır (%15.38).

Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları: Bu çalışmada *S. aureus* ve KNS olarak tanımlanan ve antibiyotik duyarlılıkları incelenen izolatların verileri Tablo 1'de gösterilmiştir.

S. aureus izolatlarının (n:4) ampisilin, tetrasiklin, trimetoprim+sulfametoksazol ve oksasiline duyarlı, amoksisilin+klavulanik aside ise dirençli olduğu tespit edilmiştir. *S. aureus* izolatlarında sefoksitin (metisilin) direnci %50 ve gentamisin direnci %25 düzeyinde bulunmuştur. Aynı izolatlar eritromisin ve siprofloksasin'e sırasıyla %25 dirençli ve %75 orta dirençli iken; klindamisine %25 düzeyinde orta dirençli olarak tespit edilmiştir.

Tüm KNS izolatlarının trimetoprim+sulfametoksazol, siprofloksasin, tetrasiklin (*S. sciuri* hariç), sefoksitin (*S. hominis* hariç), amoksisilin+klavulanik asit (*S. xylosus* ve *S. sciuri* hariç), gentamisin (*S. sciuri* hariç) ve oksasiline (*S. hominis* hariç) %100 duyarlı olduğu belirlenmiştir. *S. xylosus* izolatlarının tamamı amoksisilin+klavulanik asite (%100), *S. caprae* izolatlarının ampisiline (%100), *S. sciuri* izolatlarının ise amoksisilin+klavulanik asit, ampisilin, eritromisin, tetrasiklin ve klindamisine (%100) dirençli olduğu saptanmıştır. *S. hominis* izolatlarının %33.3 düzeyinde sefoksitine (metisilin) dirençli ve klindamisine orta dirençli olduğu tespit edilmiştir. *S. haemolyticus* izolatlarının eritromisin ve klindamisine %100 düzeyinde orta dirençli olduğu belirlenmiştir. *S. hominis* hariç diğer KNS izolatlarının hiçbirinin metisiline direnç göstermediği gözlenmiştir.

S. aureus, *S. sciuri*, *S. carnosus*, *S. hominis* ve *S. xylosus* izolatlarında en az iki ve daha fazla antibiyotiğe karşı direnç (çoklu direnç) saptanmıştır.

Stafilokoklarda Biyofilm Oluşturma: Bu araştırmada 17 Stafilokok izolatının zayıf ve orta düzeyde biyofilm oluşturduğu belirlenmiştir. Beyaz peynir örneklerinde bulunan *S. aureus*, kaşar peyniri örneklerinde bulunan *S. carnosus* subsp. *carnosus*, dil peyniri örneklerinde saptanan *S. saprophyticus* ve *S. xylosus* türlerinin çeşitli düzeyde biyofilm oluşturdukları tespit edilmiştir. Süt, yoğurt, keçi peyniri, tereyağı ve kefir örneklerinde ise biyofilm oluşumu saptanmamıştır.

Tablo 1. Organik süt ve süt ürünlerinden izole edilen *S. aureus* ve bazı KNS'lerde antibiyotik direnci

ANTİBİYOTİK	<i>S. aureus</i> (n:4) (%)			<i>S. caprae</i> (n:2) (%)			<i>S. carnosus</i> (n:4) (%)			<i>S. sciuri</i> (n:1) (%)			<i>S. haemolyticus</i> (n:1) (%)			<i>S. hominis</i> (n:6) (%)			<i>S. saprophyticus</i> (n:9) (%)			<i>S. xylosus</i> (n:3) (%)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Amoksisilin+Klavulanikasit 20 µg +10 µg	0	0	100	100	0	0	100	0	0	0	0	100	100	0	0	100	0	0	100	0	0	0	0	100
Ampisilin 10 µg	100	0	0	0	0	100	75	0	25	0	0	100	100	0	0	100	0	0	100	0	0	66.7	0	33.3
Eritromisin 15 µg	0	75	25	0	100	0	75	25	0	0	0	100	0	100	0	83.3	16.7	0	66.7	33.3	0	100	0	0
Tetrasiklin 30 µg	100	0	0	100	0	0	100	0	0	0	0	100	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
Trimetoprim + Sulfametoksazol 1.25+23.75 µg	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
Klindamisin 2 µg	75	25	0	0	100	0	25	0	75	0	0	100	0	100	0	66.7	33.3	0	100	0	0	100	0	0
Siprofloksasin 5 µg	0	75	25	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
Sefoksitin 30 µg	50	0	50	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	66.7	0	33.3	100	0	0	100	0	0
Gentamisin 10 µg	75	0	25	100	0	0	100	0	0	0	100	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
Oksasilin 1µg	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	83.3	0	16.7	100	0	0	100	0	0

S: Duyarlı, I: Orta, R: Dirençli

Biyofilm oluşturan *Staphylococcus* izolatlarının %58.82'si zayıf, %41.18'i orta düzeyde biyofilm oluştururken, hiçbirinin yüksek/güçlü biyofilm oluşturmadığı belirlenmiştir. *S. aureus* izolatlarının zayıf ve orta biyofilm oluşturma oranları sırasıyla %75 ve %25 iken; KNS'lerin zayıf ve orta biyofilm oluşturma oranları ise sırasıyla %53.8 ve %46.2'dir.

Tartışma

Staphylococcus-Micrococcus Sayısı ile S. aureus Varlığının Yorumlanması Mevzuata Uygunluğunun Değerlendirilmesi: Süt, bileşiminin zengin olması nedeniyle süt ürünlerine işlenmediği ya da muhafaza şartlarına dikkat edilmediği durumlarda kolaylıkla birçok mikroorganizma tarafından kontamine olmakta ve bozulmaktadır. Hijyenik koşullara uyulmadan üretilen süt ve süt ürünlerinde *Staphylococcus* varlığı halk sağlığı açısından risk oluşturan salgınlara neden olabilmektedir. Saadat ve ark. (28) organik süt ve peynir örneklerini inceledikleri çalışmalarında tüm örneklerdeki *S. aureus* varlığını %27, sea geni içeren örnek oranını % 12.96, *S. aureus* sayısını 10^2 - 10^6 kob/g-mL düzeyinde bulmuştur. Karimihachehsoo (29) incelemiş oldukları 63 beyaz ve tulum peynir örneğinin 12'sinde toplam 24 adet *S. aureus* suşunu izole etmişlerdir. Peynir örneklerinin yalnızca 1'nin (%1.6) SEA sentezleyebilecek *S. aureus* ile kontamine olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte 3 adet (% 4.8) peynir örneğinde *S. aureus* sayısı 5×10^5 kob/g'dan yüksek bulunmuş ancak bu örneklerin hiçbirinde SE varlığına rastlanılmadığı bildirilmiştir. Martins ve ark. (28) 104 örnekte KPS ve KNS düzeyini sırasıyla 3.7-6.25 \log_{10} kob/g ve *Micrococcus* düzeyini 1.7-5.58 \log_{10} kob/g aralığında bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada saptanan *S. aureus* kontaminasyonu diğer araştırmacıların daha düşük bulunmuştur (28, 29). *Staphylococcus-Micrococcus* sayısı Martins ve ark. (30)'nın, *S. aureus* sayısı Saadat ve ark. (28)'nin bildirdikleri aralıkta saptanmıştır. Araştırma sonuçlarındaki farklılıkların nedeni olarak soğutma, muhafaza ve işleme sırasında hijyen koşulları görülebilir. Yetersiz soğutma, sütün uygun olmayan koşullarda bekletilmesi, kötü hijyen koşulları ve işleme sonrası kontaminasyonlar *Staphylococcus* spp. gelişimi ve enterotoksin üretimi ile ilişkilendirilebilir. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'ne göre *Staphylococcus-Micrococcus* Sayısı yönünden tüm örnekler mevzuata uygundur (27).

KNS Varlığının Yorumlanması: KNS'ler neden olduğu enfeksiyonların çeşitliliği, sıklıkları, teşhis ve tedavilerinin son derece zor olması nedeniyle halk sağlığı sistemi için ciddi bir yük oluşturmada ve hastaların yaşam kalitesi üzerinde ciddi sonuçlar doğurmaktadır (31).

Sampimon ve ark. (32) sığır sütü örneklerinden izole edilen 170 KNS izolatu içerisinde mevcut çalışmadaki bulgulara benzer şekilde, *S. saprophyticus*, *S. hominis*, *S. equorum*, *S. haemolyticus* ve *S. xylosus* türlerini tanımlamışlardır. Ruaro ve ark. (33) çiğ süt ve peynir örneklerinde *S. equorum* (%12), *S. lentus* (%12), *S. simulans* (%12), *S. sciuri* (%10) ve *S. xylosus* (%9) türlerini; Coton ve ark. (34) Fransa'da inek sütü, peynir

ve çevre örneklerinde *S. equorum* (%23.3), *S. xylosus* (%20.3), *S. saprophyticus* (%10.1) ve *S. succinus* (%10.6) türlerini bulmuştur. Pehlivanlar Önen ve Aygün (35) yaptıkları çalışmada keçi sütünde %55 ve keçi peynirlerinde %57.5 düzeyinde KNS varlığı tespit etmiştir. *S. carnosus* 2 örnekte (%5), *S. equorum* 3 örnekte (%7.5), *S. saprophyticus* 16 örnekte (% 40), *S. xylosus* 4 örnekte (%10), *S. caprae* 2 örnekte (%5), *S. haemolyticus* 2 örnekte (%5) ve *S. sciuri* 1 örnekte (%2.5) bulunurken, *S. hominis* ise hiçbir örnekte bulunamamıştır. Bu çalışmada tespit edilen KNS türleri mevcut çalışma ile benzerlik göstermektedir. KNS türlerinin farklılığı hayvanın türü, coğrafya, süt sağım ve işleme koşulları ile kontaminasyon noktalarının farklılıkları ile açıklanabilir.

Enterotoksin Varlığı Sonuçlarının Yorumlanması: Mevcut çalışmada SE varlığı (%1.92) iki farklı beyaz peynir örneğinde saptanmış ancak hangi *Staphylococcus* türü tarafından oluşturulduğu tespit edilememiştir. Küplülü ve ark. (36) tarafından yapılan çalışmada, Ankara'da satışa sunulan toplam 214 adet peynirden 41 adet enterotoksijenik koagülaz pozitif Stafilokok izolatu elde edildiği bildirilmiştir. İncelemeye alınan tulum peynirinin %24.3, beyaz peynirin %19.5 ve kaşar peynirinin ise %5.5 oranında enterotoksijenik Stafilokok türleri ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. Enterotoksijenik Stafilokok izolatının enterotoksin tipleri; SEA (25), SEB (4), SEC (6), SEA+SEC (5) ve SEA+SED (1) olarak bulunmuştur. Demirel ve ark. (37) İzmir ilinde satışa sunulan 75 beyaz, kaşar, tulum ve Van otlu peynir örneğinin 27 adetinde enterotoksin tespit ettiklerini bildirmiştir. Örneklerde en çok tespit edilen enterotoksin tipinin SEA olduğu (19 örnek; %67.86), bunu sırasıyla SEB (9 örnek; %32.14), SEE (7 örnek; %25), SEC (2 örnek; %7.1) ve SED (1 örnek; %3.6)'nin takip ettiği bildirilmiştir. Pehlivanlar Önen ve Aygün (35) ise keçi sütü ve peynirlerinde KNS izolatları içerisinde enterotoksin oluşturanların varlığını % 4 düzeyinde bulmuştur. Enterotoksin varlığındaki farklılıklar kontaminasyon kaynaklarının veya incelenen örneklerin farklılığı ile açıklanabilir. Mevcut çalışmada *S. aureus* tespit edilen 2 adet beyaz peynir örneğinde SE'ye rastlanmamıştır. Bu durum suşların enterotoksin üreten genlere sahip olmaması veya etken sayısının az olmasından kaynaklanmış olabilir. Buna karşın SE varlığı 2 adet beyaz peynir örneğinde saptanmış ancak etken tespit edilmemiştir. Bu durum uygulanan ısı işleminin bu örneklerde bakteriyi öldürdüğü ancak daha önce enterotoksin oluşturduğu ve bunun uygulanan ısı işlem derecelerinden etkilenmediği ile açıklanabilir. SE saptanan iki adet beyaz peynir örneği *Staphylococcal* Enterotoksin (SE) varlığı yönünden mevzuata uygun değildir (27).

Antibiyotik Duyarlılık Sonuçlarının Yorumlanması: Süt ve süt ürünlerinden izole edilen KNS izolatlarının antibiyotik direnci birçok çalışmada çalışılmıştır (6, 24, 35). Yücel ve Anıl (6) tarafından çiğ süt örneklerinden elde edilen KNS izolatları metisilin ve penisiline %39 dirençli bulunmuştur. Peynirden izole edilen KNS izolatlarının ampisiline %42.8; metisilin, penisilin ve eritromisine ise %28.5 dirençli olduğu

belirlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen KNS metisilin direnci mevcut çalışmada saptanan *S. hominis*'te görülen %33.3 metisilin direnci ile paralel iken diğer KNS türlerinde metisilin direnci görülmediğinden farklılık taşımaktadır. Zdolec ve ark. (38) yaptıkları bir çalışmada taze peynirler, peynir salamurası, sert peynirler ve tereyağı örneklerinden 78 KNS ve 30 laktik asit bakterisi izolatı elde etmiştir. CLSI ve disk difüzyon yöntemine göre, tüm izolatlar klindamisin, amikasin, amoksisilin+klavulanik asit, enrofloksasin, vankomisin, kloramfenikol ve siprofloksasine duyarlı olarak tespit edilmiştir. Otuz adet Stafilokok izolatı eritromisine (%38.46), 18'i penisiline (%23.07), 4'ü tetrasikline (%5.12) ve bir izolat trimetoprim, tobramisin ve trimetoprim+sülfametoksazole (%1.28) dirençli bulunmuştur. Bu çalışma sonuçları mevcut çalışmada saptanan KNS izolatlarındaki siprofloksasin, sefoksitin (*S. hominis* hariç) ve amoksisilin+klavulanik asit (*S. xylosus* ve *S. sciuri* hariç) sonuçları ile uyumlu iken; klindamisinde farklı olarak duyarlılık oranı mevcut çalışma sonuçlarından daha düşüktür. Tetrasiklin ve eritromisine direnç sonuçları ise bu çalışma sonuçları ile paralellik göstermektedir. Kürekçi (24) 72 peynir örneğinden elde edilen 17 KNS izolatının sırasıyla penisilin (%76.5), eritromisin (% 35.3), tetrasiklin (%29.4) ve trimetoprim-sülfametoksazol (%17.6) antibiyotiklerine dirençli olduğunu ancak bu izolatların tamamının vankomisin, streptomisin, linezolid ve gentamisine karşı duyarlı olduğunu bildirmiştir. KNS suşlarının her birinin en az bir antibiyotiğe dirençli olduğu (%88, 15/17) görülmüştür. Bu çalışmadaki KNS izolatlarındaki gentamisin duyarlılığı (*S. sciuri* hariç) benzerlik göstermektedir. Mevcut çalışmada bu çalışmadan farklı olarak yalnızca *S. sciuri* izolatlarında trimetoprim-sülfametoksazol, eritromisin ve tetrasikline karşı %100 direnç tespit edilmiştir. Pehlivanlar Önen ve Aygün (35) tarafından peynir örneklerinden elde edilen KNS izolatlarının oksasiline (%22.9), tetrasikline (%12.5), eritromisine (%10.4), klindamisine (%4.1) ve siprofloksasine (%2) karşı dirençli olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada tespit edilen izolatların ampisilin ve gentamisine karşı dirençli olmadığı tespit edilirken mevcut çalışmada ampisilin ve gentamisine karşı farklı düzeylerde dirençli izolatlar saptanmıştır. Bu çalışmada mevcut çalışmaya paralel şekilde trimetoprim+sülfametoksazol'e dirençli izolat saptanamamıştır. Araştırma sonuçları KNS türlerinin antibiyotiklere farklı düzeylerde dirençli olduğunu göstermiştir. İzolatların antibiyotiklere dirençleri arasındaki farklılıkların izolatların kaynağı, genetik yapısı, üretim şekilleri, coğrafi bölge ve antibiyotik çeşidinden kaynaklanması muhtemeldir.

Stafilokoklarda Biyofilm Sonuçlarının Yorumlanması: Bazı suşların biyofilm oluşturma yeteneği, önemli bir virülans faktörü olarak kabul görmektedir. Yerleşik biyofilmler antimikrobiyal ajanları tolere edebilmekte ve bu nedenle bakterinin yok edilmesi son derece zorlaşmaktadır (39).

Gajewska ve Chajęcka-Wierzchowska (40) Polonya'da 30 çiğ süt örneğinden elde edilen 54 izolatın 42'sini KNS ve 12'sini *S. aureus* olarak tespit etmiştir.

KNS'ler; *S. haemolyticus*, *S. simulans*, *S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. chromogenes*, *S. hominis*, *S. sciuri*, *S. capitis*, *S. xylosus* ve *S. saprophyticus* türleri olarak belirlenmiştir. Elde edilen izolatların hepsi biyofilm oluşturabilmiştir. Suşların %79.6'unun güçlü bir biyofilm, %5.6'sının orta düzeyde biyofilm ve %14.8'inin zayıf bir biyofilm ürettiği belirlenmiştir. Güçlü bir biyofilm oluşturma yeteneği *S. aureus*'a göre KNS'de daha sık gözlemlenmiştir (%58.3'ye karşı %85.7). Mevcut çalışmada bu çalışmadan farklı olarak *Staphylococcus* izolatları zayıf ve orta düzeyde biyofilm oluşturmuştur.

Bertelloni ve ark. (41) yaptıkları bir çalışmada Toskana'da (Orta İtalya) tank sütünden *S. xylosus* (%28.4), *S. chromogenes* (%20.3), *S. sciuri* (%12.2), *S. hominis* (%9.4), *S. hemolyticus* (%6.8), *S. capitis* (%5.4), *S. cohnii* subsp. *cohnii* (%4.1), *S. saprophyticus* (%4.1), *S. simulans* (%4.1), *S. caprae* (%1.3), *S. epidermidis* (%1.3), *S. lentus* (%1.3) ve *S. warneri* (%1.3) türlerini tespit etmiştir. PCR ile biyofilm için *icaA* ve *icaD* geni bakılmıştır. *S. capitis*, *S. hominis*, *S. saprophyticus*, *S. sciuri* ve *S. xylosus* türlerine ait olan on beş izolatın (%20.3) biyofilm üretimini kodlayan genleri taşıdığı belirlenmiştir. Mevcut çalışmada *S. saprophyticus* ve *S. xylosus* türlerinin zayıf ve orta düzeyde biyofilm oluşturduğu tespit edilmiştir.

Mevcut çalışmada incelenen örneklerde *S. aureus*, KNS ve SE'nin varlığının bulunması organik ürünlerin de halk sağlığı riskleri taşıyabileceğini göstermektedir. SE içeren gıda maddelerinin tüketilmemeleri gerekir. Diğer taraftan mevzuatlarda henüz yer almayan ve insanlar için sağlık riski oluşturabilecekleri bilimsel çalışmalarla ortaya konulan KNS'lerin bulunması ve izolatlarda bazı antibiyotiklere direnç/çoklu direncin tespit edilmesi risk değerlendirilmelerinde dikkate alınmalıdır. Peynir üretiminde ürünün işlendiği hammadde çiğ sütün mikrobiyolojik kalitesinin yüksek olması, sütün pastörizasyonu, çiğ süten yapılan peynirlerde üretimin diğer aşamalarında (eritme gibi) pastörizasyona eşdeğer ısıya ulaşılması, tüm üretim zinciri boyunca Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları (Hazard Analysis Critical Control Point-HACCP) gibi gıda güvenliği programlarının uygulanması gereklidir. Peynirlerin çeşidine uygun olgunlaştırma süresini tamamladıktan sonra pazarlanması ve satış noktalarında hijyen uygulamalarının devam ettirilmesi gerekmektedir. Tüm üretim zinciri boyunca iyi üretim (GMP) ve iyi hijyen (GHP) uygulamalarına riayet edilmesi ve kontaminasyonun önlenmesi önem taşımaktadır. Muhtemel *Staphylococcus* kontaminasyonuna ve enterotoksin üretimine karşı özellikle personel kaynaklı bulaşmaların önlenmesi, gıda maddesinin yapısına uygun ambalajlama yapılması ve soğuk zincirinin korunması gerekir.

Analiz edilen organik süt ürünlerinden izole edilen *S. aureus* ve KNS türlerinde değişen düzeylerde antibiyotik direnci tespit edilmiştir. Bu durumun gıda üretimi için yetiştirilen hayvanlarda antibiyotiklerin kontrolsüz kullanımından kaynaklı olabileceği veya antibiyotiklerin yanlış kullanımından dolayı bakterilerin dirençli suşlar geliştirebileceği dikkate alınmalıdır.

Biyofilmler bakterilerin antimikrobiyal uygulamalara direnç, patojen kontaminasyonunu kolaylaştırma ve gıda bozulması yapma potansiyellerinden dolayı gıda endüstrisinde endişe yaratmaktadır. Mevcut çalışmada

zayıf/orta düzeyde biyofilm oluşturan *S. aureus* ve KNS'ler bulunduğu organik ürünlerinin işleme ortamlarında sanitasyon ve hijyen uygulamalarına dikkat edilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Kırdar SS, Eren S. "Organik Süt". <http://sutdunyasi.com/organik-sut/> 20.04.2021.
- Duyuk G. Çiğ Sütlerde *Staphylococcus aureus* ve Stafilokokal Enterotoksin Varlığının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2015.
- Keyvan E. Çiğ süt örneklerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* izolatlarında antibiyotik direnç özelliklerinin tespiti. *Vet Hek Der Derg* 2019; 90: 9-14.
- Baz E, Gülmez M, Güven A, Sezer Ç, Duman B. Kars ilinde satışa sunulan çiğ süt ve taze beyaz peynirlerin koliform grubu bakteri, *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 yönünden incelenmesi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2003; 9: 65-167.
- Bergdoll MS. *Staphylococcus aureus*. In: Doyle MP (eds). *Foodborne Bacterial Pathogens*. Marcel Dekker Inc. New York, USA 1989: 463-523.
- Yücel N, Anıl Y. Çiğ süt ve peynir örneklerinden *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilokokların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılığı. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2011; 68: 73-78.
- Kümmel J, Stessl B, Gonano M, et al. *Staphylococcus aureus* Entrance into the dairy chain: Tracking *S. aureus* from dairy cow to cheese. *Front Microbiol* 2016; 7: 1603.
- Carfora V, Caprioli A, Marri N, et al. Enterotoxin genes, enterotoxin production, and methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* Isolated from milk and dairy products in central Italy. *Int Dairy J* 2015; 42: 10-15.
- Jamali H, Paydar M, Radmehr B, Ismail S, Dadrasnia A. Prevalence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. *Food Contr* 2015; 54: 384-388.
- Zell C, Resch M, Rosenstein R, et al. Characterization of toxin production of coagulase negative Staphylococci isolated from food and starter cultures. *Int J Food Microbiol* 2008; 49: 1577-1593.
- Chajęcka-Wierzchowska W, Zadernowska A, Gajewska J. *Staphylococcus epidermidis* strains from artisanal cheese made from unpasteurized milk in Poland-genetic characterization of antimicrobial resistance and virulence determinants. *Int J Food Microbiol* 2019; 294: 55-59.
- Costanzo N, Ceniti C, Santoro A, Clausi MT, Casalnuovo F. Foodborne pathogen assessment in raw milk cheeses. *Hindawi Int J Food Sci* 2020; 13: 1-5.
- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. *Science* 1999; 284: 1318-1322.
- Tremblay YDN, Lamarche D, Chever P, H et al. Characterization of the ability of coagulase-negative staphylococci isolated from the Milk of Canadian farms to form biofilms. *J Dairy Sci* 2013; 96: 234-246.
- Anonim. "Gıda ve hayvan yemlerinin mikrobiyolojisi. koagülaz pozitif Stafilokokların (*Staphylococcus aureus* ve diğer türler) sayımı için yatay metod: Baird-parker agar besiyeri kullanarak". Türk Standartları Enstitüsü, TS EN ISO 6888-A2, 2018, Ankara, Türkiye.
- Cebeci T. Gıdalarda Stafilokokal Enterotoksin Varlığının ve Antibiyotik Dirençliliğinin Araştırılması. Doktora Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2015.
- Windria S, Widianingrum DC, Oktavia Salasia SI. Identification of *S. aureus* and coagulase negative Staphylococci isolates from mastitis milk of Etawa Crossbred Goat. *Res J Microbiol* 2016; 11: 11-19.
- Coagulase test. "Liofilchem lyophilic citrate rabbit plasma for coagulase test". http://www.liofilchem.net/login/pdf/pi/88030_P1.pdf/ 16.11.2022.
- Ektik N. Balıkesir İlinde Süt ve Süt Ürünlerindeki Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus*'un Prevalansı ve Antibiyotik Dirençliliği. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir: Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2015.
- Pincus DH. "VİTEK Microbiology Reference Manual". https://store.pda.org/TableOfContents/ERMM_V2_Ch01.pdf/ 16.11.2022.
- "VIDAS Staph Enterotoxin II (SET2)". https://www.biomerieux-usa.com/sites/subsidiary_us/files/doc/staph_poster-1.pdf/ 16.11.2022.
- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 27th informational Supplement. CLSI Document M100-S27. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA, 2017.
- Pamuk Ş, Eker E, Yıldırım Y. Antibiotic resistance of coagulase negative Staphylococci isolated from buffalo milk and some milk products. *Kocatepe Vet Derg* 2010; 3: 7-12.
- Kürekçi C. Prevalence, antimicrobial resistance and resistant traits of coagulase-negative Staphylococci isolated from cheese samples in Turkey. *J Dairy Sci* 2016; 99: 2675-2679.
- Hassan A, Usman J, Kaleem F, et al. Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *Braz J Infect Dis* 2011; 15: 305-311.
- Temel A, Eraç B. Bakteriye biyofilmler: saptama yöntemleri ve antibiyotik direncindeki rolü. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2018; 48: 1-13.
- Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. Resmi gazete tarih: 29.11.2011, sayı: 28157. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Ankara, 2011.
- Saadat YR, Fooladi AA, Shapouri R, Hosseini MM, Khiabani ZD. Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in organic milk and cheese in Tabriz, Iran. *Iranian J Microbiol* 2014; 6: 345-349.
- Karimihachehsoo S. Ankara Piyasasında Açıkta Satılan Beyaz ve Tulum Peynirlerinde *Staphylococcus aureus* Varlığının Belirlenmesi ve Belirlenen Suşlarda Bazı Klasik Enterotoksijenik Özelliklerin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Pzr) ile Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2016.

30. Martins IS, Dirce Kabuki Y, Miya NTN, Pereira JL. Occurrence and characterization of enterotoxigenic potential of *Staphylococcus* isolated from dairy products. J Food Safety 2014; 34: 185-192.
31. França A, Gaio V, Lopes N, Melo LDR. Virulence factors in coagulase-negative Staphylococci. Pathogens 2011; 10: 170.
32. Sampimon OC, Lam TJGM, Mevius DJ, Schukken YH, Zadoks RN. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative Staphylococci isolated from bovine milk samples. Vet Microbiol 2011; 150: 173-179.
33. Ruaro A, Andrighetto C, Torriani S, Lombardi A. Biodiversity and characterization of indigenous coagulase-negative Staphylococci isolated from raw milk and cheese of north Italy. Food Microbiol 2013; 34: 106-111.
34. Coton E, Desmonts MH, Leroy S, et al. Biodiversity of coagulase-negative Staphylococci in French Cheeses, dry fermented sausages, processing environments and clinical samples. Int J Food Microbiol 2010; 137: 221-229.
35. Pehlivanlar Onen S, Aygun O. Enterotoxin producing ability and antimicrobial susceptibility of coagulase negative Staphylococci isolated from goat milk, cheese and salted yoghurt in Turkey. Int J Sci Technol Res 2017; 6: 10.
36. Küplülü Ö, Sarımehtemoğlu B, Kaymaz Ş. Pastörize sütlerde elisa tekniği ile Stafilkokal enterotoksin varlığının belirlenmesi. Turk J Vet Anim Sci 2002; 26: 631-637.
37. Demirel NN, Karapınar M. İzmir ilinde satılan bazı peynirlerde *S. aureus* enterotoksinlerinin elisa yöntemi ile belirlenmesi. Gıda 2006; 31(1): 37-41. stress management in poultry. J Anim Physiol Anim Nutr 2021; 31: 37-41.
38. Zdolec N, Dobranic V, Zdolec G, Durici D. Antimicrobial resistance of coagulase-negative Staphylococci and lactic acid bacteria from industrially produced dairy products. Mljekarstvo 2013; 63: 30-35.
39. Basanisi MG, La Bella G, Nobili G, Franconieri I, La Salandra G. Genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from milk and dairy products in south Italy. Food Microbiol 2017; 62: 141-146.
40. Gajewska J, Chajęcka-Wierzchowska W. Biofilm formation ability and presence of adhesion genes among coagulase-negative and coagulase-positive Staphylococci isolates from raw cow's milk. Pathogens 2020; 9: 654.
41. Bertelloni F, Fratini F, Ebani VV, et al. Detection of genes encoding for enterotoxins, tsst-1 and biofilm production in coagulase-negative Staphylococci from bovine bulk tank milk. Dairy Sci Technol 2015; 95: 341-352.