

## 07. *Staphylococcus aureus*

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN  
Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi  
Gıda Mühendisliği Bölümü  
GDM310 Gıda Mikrobiyolojisi II Ders notu 07.

### 07.01. Tanımı

Önceden Micrococcaceae familyası üyesi iken yeni (2009 yılında yayımlanmış olan "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Second Edition, Volume Three) kaynağına göre *Staphylococcaceae* familyası üyesidir. Adını, mikroskopta üzüm salkımı şeklinde görülen kok formu (*Staphylococcus*) ve genel besiyerlerinde altın (*aureus*⇒ Au) renkli koloni oluşturmasından alır. İnsanlarda menenjit, septisemi ve iltihaplı yaralara ve eklem romatizmalarına neden olabilir. Suşlarının çoğu, gıdalarda geliştiğinde enterotoksinlerini salgılayarak tipik intoksikasyon tip gıda kaynaklı hastalıklara neden olur. Gıdalarda ve gıda işletmelerinde bu bakteriye rastlanması hijyen eksikliğinin göstergesi olarak kabul edilir.

*S. aureus*, başta ısıl işlem olmak üzere mikroorganizmaların indirgenmesine yönelik tüm uygulamalara karşı yüksek bir duyarlılık göstermesine rağmen, insanlarda hastalığa neden olan ve yüksek derecede ısı stabilitesi gösteren protein yapısında 5 tip toksin üretir.

### 07.02. Ekolojisi

*S. aureus*, en yaygın olarak burun ve boğaz boşluğunu örten mukoz dokuda yer alır. Deride, yüzde, ellerde ve kollarda insan ve hayvanların dışkılarında, özellikle apseli yaralarda, sivilce ve çibanlarda yoğun olarak bulunmaktadır. Boğaz kültürlerinde ortamın dominant florası arasında *S. aureus* da vardır ve buradan izole edilen suşların % 20'sinin enterotoksin oluşturduğu belirlenmiştir. Bir diğer deyiş ile *S. aureus*'un da dâhil olduğu pek çok stafilokok türü insanların ve hayvanların doğal florasıdır ve bu bakterilerin doğal habitatları insan ve hayvanlardır.

*S. aureus*, süt hayvanlarında mastitis hastalığının en önemli etmenlerinden birisidir. Buna bağlı olarak mastitisli hayvan sütlerinde sıklıkla bulunur. Sağıçıdan da süte *S. aureus* bulaşabilir.

Gıda kaynaklı intoksikasyonlarda *S. aureus*'un gıdaya bulaşmasındaki en önemli etkenin insan olduğu saptanmıştır. İnsanlar taşıyıcı olarak bu bakteriyi diğer insanlara ve gıdalara bulaştırırlar. Benzer şekilde bakterinin hava, toz, lağım ve sudan kolaylıkla izole edilebilmesi gıdaların kontaminasyonu için çok sayıda kaynağın bulunduğunu göstermektedir.

### 07.03. Gelişmesi ve Canlı Kalması

Gram pozitif, sporsuz, hareketsiz, katalaz pozitif, fakültatif anaerob ve mezofil karakterlidir. Gelişme sıcaklığı 6-46 (optimum 30-37) °C iken, toksin oluşturması için gereken sıcaklıklar 10-48 °C'dir. 4,0-9,3 pH sınırları arasında (optimum 7,0-7,5) gelişir, toksin oluşturabilmesi için gereken en düşük pH 4,9-5,1'dir.

Gelişebilmesi için gereken minimum su aktivitesi değeri; aerob gelişme için  $A_s = 0,83-0,86$ ; anaerob gelişme için  $A_s = 0,90$  iken, toksin oluşturabilmeleri için daha yüksek su aktivitesi gerekir. Isıl işleme direnci düşüktür. Sütte belirlenen;  $D_{60} = 3,1-3,4$  dakikadır. Tuz, tellurit, cıva klorür, sodyum azid gibi kimyasallar ile neomisin ve polimiksin gibi bazı antibiyotiklere de dirençlidirler. %10 NaCl varlığında gelişmesini kolaylıkla sürdürür. Bazı suşların %20 NaCl varlığında gelişebildiği saptanmıştır.

Spor oluşturmadığı halde vücut dışında canlılığını uzun süre koruyabilen tek insan patojenidir. Ağır metallere, klinik mikrobiyolojide kullanılan pek çok antimikrobiyeye karşı genetik olarak kazanılmış bir direnç sistemine sahiptir. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), hastane enfeksiyonlarında oldukça önemli bir klinik patojendir.

Tuza dayanıklılıkta en önemli ozmoprotektant maddeler hücre içine biriken glisin, betain ve prolin'dir. Yüksek tuz ortamına maruz bırakıldıktan sonra 3 dakikadan daha kısa bir sürede *S. aureus*'un prolin içeriğinde 21 misli artış olduğu belirlenmiştir. Bu özellikleri nedeni ile tuzlu ve düşük su aktiviteli gıdalarda diğer bakteriler gelişemezken *S. aureus*, bunların rekabetçi etkisinden kurtularak daha rahat bir gelişme gösterir. Benzer şekilde gıdalarda *S. aureus* aranmasında/ sayılmasında yüksek tuz konsantrasyonlu besiyerleri kullanılarak refakatçi floranın gelişimi baskılanır.

#### 07.04. Özellikleri

*S. aureus*'un dört önemli özelliği vardır. Bunlar; lesitinaz aktivitesi, koagülaz üretimi, enterotoksin oluşturması ve termonükleaz aktivitesidir.

-Lesitinaz Aktivitesi: *S. aureus* suşları genellikle fosfolipaz C (= lesitinaz) aktivitesi gösterirler. Buna bağlı olarak, yumurta sarısı emülsiyonu katılan besiyerlerinde tanımlanması sağlanır. Ürettikleri lesitinaz, besiyerinde yumurta sarısı emülsiyonunda bulunan lesitini hidrolize ederek koloni etrafında berrak bir zon oluşmasına neden olur. Koagülaz negatif olan *S. epidermidis* suşlarının fosfolipaz C oluşturma yetenekleri olmadığından yumurta sarısı emülsiyonu katılmış besiyerlerinde zonsuz olarak gelişirler. Ancak böyle besiyerlerinde zonsuz atipik koloni oluşturan *S. aureus* suşlarının da geliştiği saptanmıştır. Süt ürünlerinde atipik *S. aureus* suşlarına sıklıkla rastlanmaktadır.

-Koagülaz Aktivitesi: *S. aureus* suşları, koagülaz enzimi üretirler. Koagülaz, trombin gibi kanda bulunan fibrinojene etki ederek onu fibrine dönüştürür ve koagülasyona neden olur. Bu test, tavşan kanı plazması ile yapılır. Plazmadan bir damla alınarak lam üzerinde *S. aureus* kültürü ile karıştırıldığında "clumping factor" denilen kümeleşme (topaklaşma) meydana gelirse bu hücre duvarına (partiküle) bağlı koagülaz ile plazma fibrinojeninin reaksiyona girdiğini gösterir. Tüpte yine tavşan plazması ile yapılan testte hücrelerin serbest koagülaz enzimlerinin etkisiyle plazmanın koagülasyonu gerçekleşir. *S. aureus* suşlarının tamamı koagülaz üretmediği gibi, *S. aureus* dışında başka *Staphylococcus* türlerinin de partiküle bağlı veya serbest koagülaz ürettikleri belirlenmiştir. Bu nedenle hem "clumping factor" hem de tüpte koagülaz testinin birlikte yapılması önerilir. Koagülaz üretimi ile enterotoksin oluşumu arasında çok yüksek bir korelasyon vardır. Buna bağlı olarak, asıl önemli olan koagülaz pozitif *S. aureus* varlığının veya sayısının belirlenmesidir. Ulusal ve uluslararası nitelikte pek çok standartta koagülaz pozitif *S. aureus* kontrolü yapılır. Baird-Parker Agar besiyerine yumurta sarısı emülsiyonu yerine, doğrudan tavşan kanı plazması katılarak da analiz yapılmaktadır (Rabbit Plasma Fibrinogen Agar; ISO 6888-2).

-Enterotoksinler: *S. aureus* uygun gelişme koşullarında hızla çoğalır ve suşa göre değişmek üzere A, B, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, D, E, G, H toksinlerinden bir ya da birkaçını oluşturabilir. Bunların dışında, F toksini, diğerlerinden şok sendrom adlı önemli bir toksik rahatsızlıkla ayrılır ve "Toksik Şok Sendromu Toksini (TSST-1)" olarak adlandırılır. Bu toksinin etkisi Rhesus maymunlarında araştırılmış ve çok farklı hastalık belirtileri görülmüştür. İshal görülmeyeceği gibi, akciğerlerde su toplanması (ödem), endotel hücrelerinin dejenerasyonu ve böbrek yetmezliği gibi önemli rahatsızlıklar ve şoka sokan bir toksik etki gözlenmiştir. *S. aureus* enterotoksinleri içinde en toksik olanı enterotoksin A'dır. Buna karşılık B de ısıya en dayanıklı olanıdır. Aktif halde bulunan toksinlerin proteolitik enzimlere dirençli oldukları ve parçalanmadıkları belirlenmiştir. Ancak pH 2,0'de pepsine duyarlılıkları artmaktadır. *S. aureus*'tan başka enterotoksin oluşturan suşlar da

vardır. *S. haemolyticus*, *S. cohnii*, *S. xylosus*, *S. equorum*, *S. lentus*, *S. capitis*, *S. intermedius* suşlarının enterotoksin oluşturabildikleri saptanmıştır.

Tersine olarak, *S. aureus*'un bütün suşları da enterotoksin oluşturmaz. Sığır kökenli olanlar ender olarak enterotoksin oluşturabilirler. Baird Parker Agar üzerinde bulunan atipik *S. aureus* kolonilerinin veya koagülaz negatif suşların da enterotoksin oluşturabildikleri görülmüştür. Çeşitli klinik kaynaklardan ve gıdalardan elde edilen ve enterotoksin oluşturdukları saptanan *S. aureus* suşlarının % 93'ü koagülaz pozitif bulunmuştur. Saf enterotoksinler ısıya çok dayanıklıdır. Özellikle B'nin inaktivasyonu için yüksek sıcaklık dereceleri gereklidir. *S. aureus* enterotoksinlerinin inaktivasyonu için gerekli ısı işlem 100 °C'de 1-3 saat veya 120 °C'de 10-40 dakikadır.

-Termonükleaz: *S. aureus* intoksikasyonlarında şüpheli gıdada *S. aureus*'un kültürel yöntemle belirlenmesi ve toksinin gösterilmesi beraberce yapılmalıdır. Toksinin belirlenemediği durumlarda koagülaz pozitif *S. aureus* suşlarının gıdadaki sayısı önemli olmaktadır. Bununla beraber, asitliğin fazla geliştiği veya hafif bir ısı işlem uygulanmış gıdalarda, önceden üremiş ve toksin oluşturmuş *S. aureus* suşları ölmüş olabilir ve ortamdaki varlıkları ya hiç belirlenemez veya çok daha düşük sayıda belirlenir. Ortamda *S. aureus*'un belirlenememesi, gıdada toksin olmadığını göstermez. Gıdada termonükleaz varlığının gösterilmesi, orada stafilokokların en az 10<sup>5</sup> KOB/g düzeyinde çoğaldıktan sonra ortamdan çekildiklerini gösterir. Termonükleaz varlığı stafilokok varlığını kanıtlar ancak, termonükleaz ile enterotoksin oluşumu arasında ilişki yoktur. Diğer bazı bakterilerin de termonükleaz oluşturabilecekleri gözden kaçırılmamalıdır.

#### 07.05. Patojenitesi

*S. aureus*'un neden olduğu intoksikasyon tipi gıda kaynaklı hastalık, dünya çapında en yaygın olarak görülen gastroenteritlerden birisidir. Gıda kaynaklı mikrobiyolojik hastalıklar içinde stafilokokal intoksikasyonu payının ülkelere göre değişmek üzere %15-40 olduğu tahmin edilmektedir.

*Staphylococcus* cinsi içinde insanlarda gastroenteritise neden olan enterotoksin üretme potansiyelinde olan başka türler varsa da hastalık hemen tümüyle *S. aureus* tarafından oluşturulur. Stafilokokal enterotoksinler pirojenik toksin (pyrogenic toxin; PT) olarak adlandırılan geniş bir gruba girerler. *Streptococcus pyogenes* de aynı gruba ait olmak üzere stafilokokal enterotoksin benzeri bir toksin oluşturur.

Gıdanın tüketiminden yaklaşık 4 saat sonra belirtiler görülmeye başlar. Bu süre 0,5-7,0 saat arasında değişebilir. Hastalık belirtileri kusma ve ishaldir. Bulantı, bitkinlik, terleme, hatta vücut sıcaklığının düşüşü de gözlenebilir. A tipi en etkili toksin olduğundan kusturucu dozu çok düşük olup, sadece 1 mg'dir. Hatta 0,1-0,2 mg alınması bile intoksikasyona neden olabilir. B toksini için bu doz, 20-25 mg'dir.

*S. aureus* intoksikasyonlarının görülmesi için bu bakterinin gıda üzerinde çoğalarak hücre sayısını 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup> KOB/g düzeyine veya üzerine çıkarması gerekir. Bu sayıya eriştiğinde; toksin, gıda üzerinde zehirlenmeye neden olabilecek dozda üretilmiş olur. Bunun dışında, stafilokok enteritleri, süt çocuklarında sadece gıdada bulunan enterotoksinin vücuda alınmasıyla değil, bakteri enfeksiyonu ile de kendini göstermektedir.

#### 07.06. İntoksikasyona Aracı Olan Gıdalar

Tüketime hazır hale getirilmiş et ve tavuk ürünleri ile şarküteri ürünleri olarak tanımlanan jambon, dil, salam gibi ısı işlem görmüş veya tütsülenmiş etler, pişmiş yumurta ve yumurta ile hazırlanan ürünler, etli ve ciğerli börekler, süt ve süt ürünleri, özellikle dondurma ve pastacılık

kremaları, sütlaç vb tatlılar, mayonezli salatalar, ezme haline getirilmiş ürünler stafilocokal intoksikasyonlarda aracı gıda olarak görülmüştür. Bu gıdaların ortak yanı çoğunlukla pişirilmiş, elle hazırlanan ve tüketime kadar buzdolabında muhafaza edilmiş olmalarıdır. Et ve et ürünleri ile su ürünleri stafilocokal intoksikasyonda önemli aracı gıdalardır. Mastitisli hayvan sütlerinden çiğ olarak yapılan peynirler de önemli bir aracı gıdadır. Pişirildikten sonra kontaminasyon gerçekleşirse, refakatçi floranın kalktığı ortamda kısa sürede kritik *S. aureus* sayısına ulaşılır.

### 07.07. Toksin Testleri

Gıdalarda koagülaz pozitif *S. aureus* varlığı ya da  $10^5$ - $10^6$  KOB/g düzeyde sayısı belirlense dahi bu bulgu, gıdanın mutlaka stafilocokal intoksikasyona neden olacağı anlamına gelmez. Bakteri varlığı ile toksin salgılama arasındaki ilişki en azından gıdanın bileşimi ve başta sıcaklık olmak üzere korunduğu ortam koşullarına bağlıdır ve bakteri gelişmiş olsa dahi toksin oluşturmamış olabilir.

Tersine ve çok daha önemli olarak analiz edilen gıdada koagülaz pozitif *S. aureus*'a rastlanmamış olması, bu gıdanın stafilocokal toksinler açısından tehlikeli olmadığını göstermez. Örneğin, *S. aureus*, gıdada gelişmiş, toksin salgılamış, daha sonra ısıtma ile öldürülmüş olabilir. Bakteri, ısıtma işlemine dayanıksızdır ancak toksinleri biyolojik stabiliteyi 100 °C'ta 30 dakika ısıtma işlemi uygulamasında koruyabilmektedirler. Bu durumda asıl önemli olanın toksin testleri olduğu anlaşılmaktadır.

Ancak sadece toksin testi yaparak gıdanın güvenli olduğuna karar verilemez. Toksin testi, sadece gıda tüketilmeden çok kısa bir süre içinde yapılırsa anlamlıdır. Aksi halde gıdada bulunan *S. aureus*, gelişerek toksin oluşturabilir.

Uluslararası pek çok standartta gıda güvenliği açısından doğrudan *S. aureus* analizi yapılması yeterlidir. Toksin testi sadece şüpheli gıdada yapılır. Bunun nedeni, bu testlerin analiz maliyetlerinin rutin analizlerde kullanılmayacak kadar yüksek olmasıdır.

2011 yılı sonunda (29 Aralık 21011) yenilenen "Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği", tüketime hazır çeşitli gıdalarda dahi belirli sayılarda koagülaz pozitif *S. aureus* bulunmasına izin vermektedir.

### Yararlanılan ve Okunması Önerilen Kaynaklar

Asperger H. 1998. *Staphylococcus aureus*. Çiğ Sütte Patojen Mikroorganizmalar. 1. Basım. Uluslararası Sütçülük Federasyonu Yayını. Çevirenler Ö. Kınık, S. Gönç, AS Akalın. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları no 527. Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir. 284s.

Aytaç SA, Taban BM. 2010. Gıda Kaynaklı İntoksikasyonlar. Gıda Mikrobiyolojisi Ed O. Erkmn. Eflatun Basım Dağıtım Yayıncılık Ltd., Ankara, 552 s.

Bennett RW, Lance GA. 2001. *Staphylococcus aureus*. in; Bacteriological Analytical Manual; BAM.

<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>

Erol İ. 2007. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Pozitif Matbaacılık Ltd. Şti, Ankara, 392 s

Jablonski LMi Bohach GA. 1997. *Staphylococcus aureus*. Food Microbiology; Fundamentals and Frontiers. Eds. MP Doyle, LR Beuchat, TJ Montville. American Society for Microbiology, Washington, USA, 768 pp.

Sutherland J, Varnam A. 2002. Enterotoxin-Producing *Staphylococcus*, *Shigella*, *Yersinia*, *Vibrio*, *Aeromonas* and *Plesiomonas*. Foodborne Pathogens; Hazard, Risk Analysis and Control. Eds CW Blackburn, PJ McClure. Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, England, 521 s.

Tunail N. 2000. Mikrobiyel Enfeksiyonlar ve İntoksikasyonlar. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Ank. Üniv. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, Genişletilmiş 2. Baskı. Sim Matbaası, Ankara, 522 s.