

GIDALARDA STAPHYLOCOCCUS AUREUS ARANMASI VE KOAGÜLAZ TESTİ

Genel Bilgiler

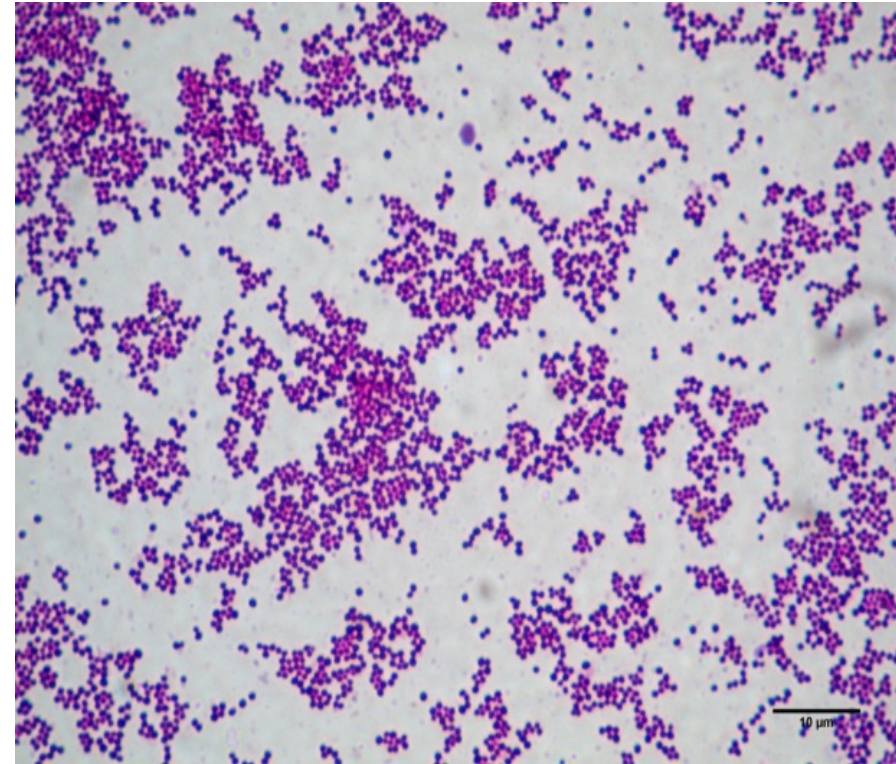
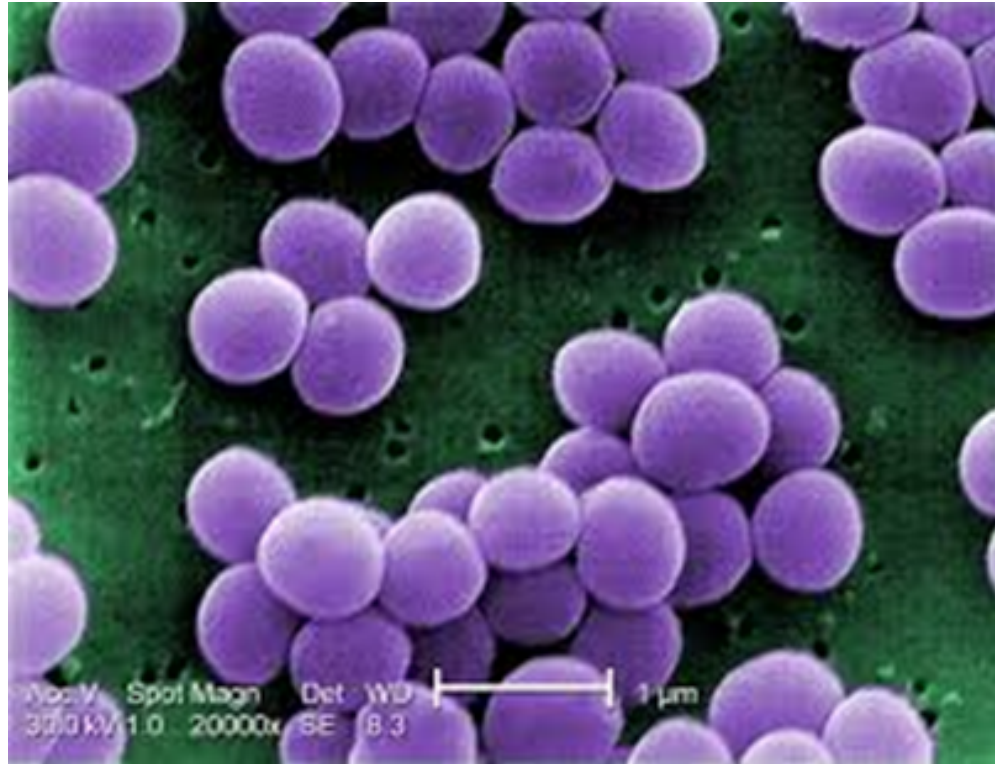
- *Micrococcaceae* familyası üyesi olan *Staphylococcus*'lar, Gram pozitif, aerobik, katalaz pozitif ve fakültatif anaerob'tur.
- *S.aureus*, *Staphylococcus* cinsinin en önemli olan ve gıda teknolojisinde dikkatleri üzerine çeken türüdür.
- *S.aureus* başta ısıtıl işlem olmak üzere mikroorganizmaların bertaraf edilmesine yönelik tüm uygulamalara karşı yüksek bir duyarlılık gösterir.

Genel Bilgiler

- İnsanlarda hastalığa neden olan ve yüksek derecede ısıl stabilitesi gösteren protein yapısında 5 tip toksin üretir.
- Koagülaz ve termostabil nukleaz enzimi üreten *S.aureus*'un suşları genellikle gıdalarda gelişerek ısıl işleme dayanıklı enterotoksin üretir ve gıda zehirlenmelerine neden olur.
- *S.aureus* suşlarının yaklaşık %30'nun enterotoksin ürettiği bildirilmiştir.

Genel Bilgiler

- *S.aureus'* un bazı özel direnç mekanizmaları gıdalarda bulunmasını ve gelişmesini sağlamaktadır. Spor oluşturmadığı halde vücut dışında canlılığını uzun süre koruyabilen tek insan patojenidir.
- Ağır metallere, klinik mikrobiyolojide kullanılan pek çok antimikrobiyal maddeye karşı genetik olarak kazanılmış bir direnç sistemine sahiptir. %15 NaCl ve 0,86 a_w de gelişebilir.
- Bu özellikleri nedeni ile tuzlu ve düşük su aktiviteli gıdalarda gelişirken diğer bakterilerin rekabetçi etkisinden de kurtulmaktadır.



Staphylococcus aureus

Bulunduğu Gıdalar

- Çiğ süt ve süt ürünleri
- Et ve et ürünleri
- Yumurta
- Meyve ve Sebzeler
- Salatalar
- Yüksek tuz konsantrasyonlarında (%15) yaşayabildikleri için beyaz peynirde problem oluşturabilmektedir.
- *Staphylococcus* cinsi bakterilerin bulaşmasında asıl bulaşma kaynağını gıdaların hazırlanması ve işlenmesinde çalışan kişiler teşkil eder ve bulaşma temasla gerçekleşir.

Gıdalarda *Staphylococcus aureus*'un İzolasyonu ve Sayımı

- Katı örnekler standart şekilde homojenize edilir. Sıvı örneklerden doğrudan ekim yapılabilir.
- Eğer gıdadaki *S.aureus* sayısının yüksek olduğu tahmin ediliyorsa farklı dilüsyonlarda ekim yapılmaktadır.
- Analiz edilecek gıda örneğinde *S.aureus* sayısının katı besiyeri kullanılarak sayılmayacak kadar az olduğu tahmin ediliyor ise EMS yöntemi ya da membran filtrasyon yöntemi kullanılabilir.

Gıdalarda *Staphylococcus aureus*'un İzolasyonu ve Sayımı

- Selektif sayımda uluslararası kuruluşlar Baird – Parker Agar kullanılmasını önermektedir.
- Baird – Parker Agar, gıdalardaki koagülaz pozitif *Staphylococcus*'ların teşhis ve sayımlarında yararlanılan selektif bir besiyeridir.
- Koagülaz pozitif *Staphylococcus*'lar besiyerinde 1 – 1,5 mm'den (18 – 24 saatlik kültürler) 3 mm'ye (48 saatlik kültürler) kadar çaplara sahip, gri – siyah parlak renkli, dar beyaz düzgün kenarlı bir şerit ve bunun etrafında da 2,5 mm çapında berrak bir zonla çevrili yuvarlak ve konveks koloniler oluştururlar.



Baird-Parker Medium

Staph. aureus

Deneyin Yapılışı

1. Besiyeri otoklavda 121°C de 15 dk sterilize edilir. Daha sonra besiyeri sıcaklığı $45\text{--}50^{\circ}\text{C}$ ye düşürülür ve üzerine aseptik şartlarda 50 mL egg yolk – tellurit emülsiyonu eklenerek kuvvetlice karıştırılır.
2. 25 g gıda örneği aseptik olarak tartılır.
3. Üzerine 225 mL serum fizyolojik eklendikten sonra homojenize edilir.

Deneyin Yapılışı

4. Böylece 10^{-1} 'lik dilüsyon hazırlanmış olur. Bu dilüsyondan 10^{-2} ve 10^{-3} 'lük dilüsyonlar hazırlanır.
5. Dilüsyonlardan 0,1 mL alınarak Baird- Parker agar besiyerlerine yayma plak yöntemiyle ekim yapılır.
6. Petri kutuları ters çevrilerek $35-37^{\circ}\text{C}$ de 24-48 saat inkübe edilir.

Sonuçların Değerlendirilmesi

- İnkübe edilen Baird- Parker agar plakları incelenir, 30-300 koloni içerenler ayrılır.
- Bu plaklarda etrafında temiz bir zon oluşmuş, kenarlarında ince beyaz kısım olan parlak siyah koloniler (*S.aureus* olma ihtimali yüksek olan koloniler) sayılır.
- Doğrulama testi için Gram boyama ve koagulaz testi yapılabilir. Seçilen kolonilerin öncelikle Gram pozitif koklar olup olmadığı kontrol edilmelidir.
- Mikroskopik incelemede Gram boyama yapılan preparatın viyole renkli üzüm salkımı şeklinde görünmesi gerekmektedir.

Sonuçların Değerlendirilmesi

- *S.aureus* kolonileri lipoliz ve proteoliz sonucunda koloni etrafında berrak zon ve halka oluşturmaları, tellurit in telluriuma indirgenmesi sonucunda siyah koloni oluşturmaları olmak üzere 2 tipik karakteristik özellik ile belirlenirler.
- 37°C'de 24 saat inkübasyon sonucunda *S.aureus* 1 - 1,5 mm çapında parlak siyah koloniler oluşturur. 48 saat inkübasyon sonunda koloni çapı 3 mm'yi bulur.



Sonuçların Değerlendirilmesi

- Besiyerine eklenen glisin, lityum ve tellurit pek çok bakterinin gelişimini inhibe ederek besiyerine seçicilik kazandırmaktadır.
- Koagülaz pozitif *Staphylococcus* ile koagülaz negatif *Staphylococcus*'ların ayırımı ise besiyerine eklenen tellurit ve egg - yolk sayesinde gerçekleştirilebilmektedir.

Sonuçların Değerlendirilmesi

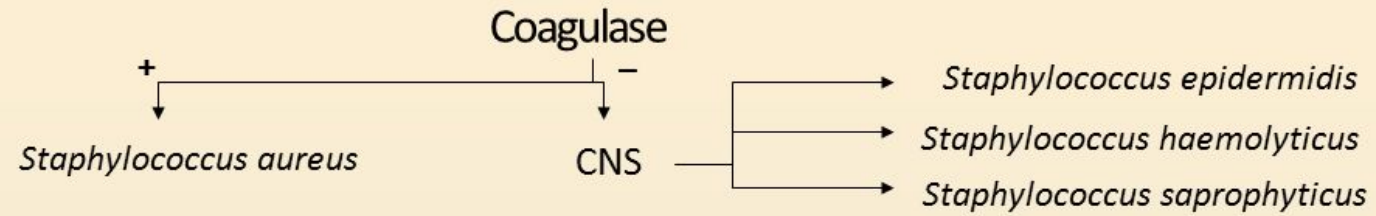
- Koagülaz pozitifler 24 saat inkübasyonda potasyum telluriti siyah renkli elementel tellurite indirgerken (siyah renkli koloniler), egg - yolk proteinleri üzerinde proteolitik özellik gösterir (berrak zon).
- İnkübasyon süresi 24 saatin üstüne çıktığında pek çok *Staphylococcus* suşunun kolonileri etrafında, lipaz aktivitesine bağlı olarak, opak kuşaklar oluşabilmektedir.

Koagülaz Testi

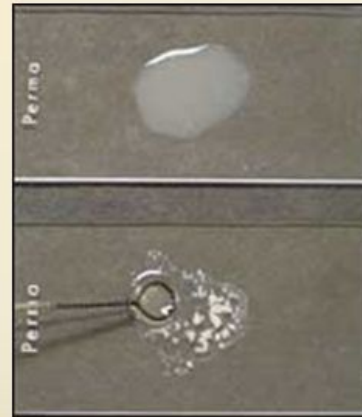
- Koagülaz testinde ideal olarak Brain heart infusion broth kültürü kullanılmalıdır.
- Brain heart agar kültürü kullanılacak ise koloni 1 mL steril desti ile su içersinde süspanse edilerek kullanılabilir.
- Liyofilize tavşan plazması 3 mL steril distile su ile sulandırılıp sterile küçük tüplere 0,3 mL olacak şekilde dağıtılır ve üzerine 0,1 mL kültür ilave edilir 37°C de inkübasyona bırakılır.

Koagülaz Testi

- Her saat t p te pıhtılaşma olup olmadığı tüpü yavaşça eğerek kontrol edilir.
- Ancak bu kontrol sırasında tüpün fazla eğilmemesine ve karıştırılmamasına  zen gösterilmelidir.
- T p te belirgin pıhtı oluşumu (%75 pıhtı) pozitif olarak değerlendirilir.



Negative



Positive

Slide method

Positive

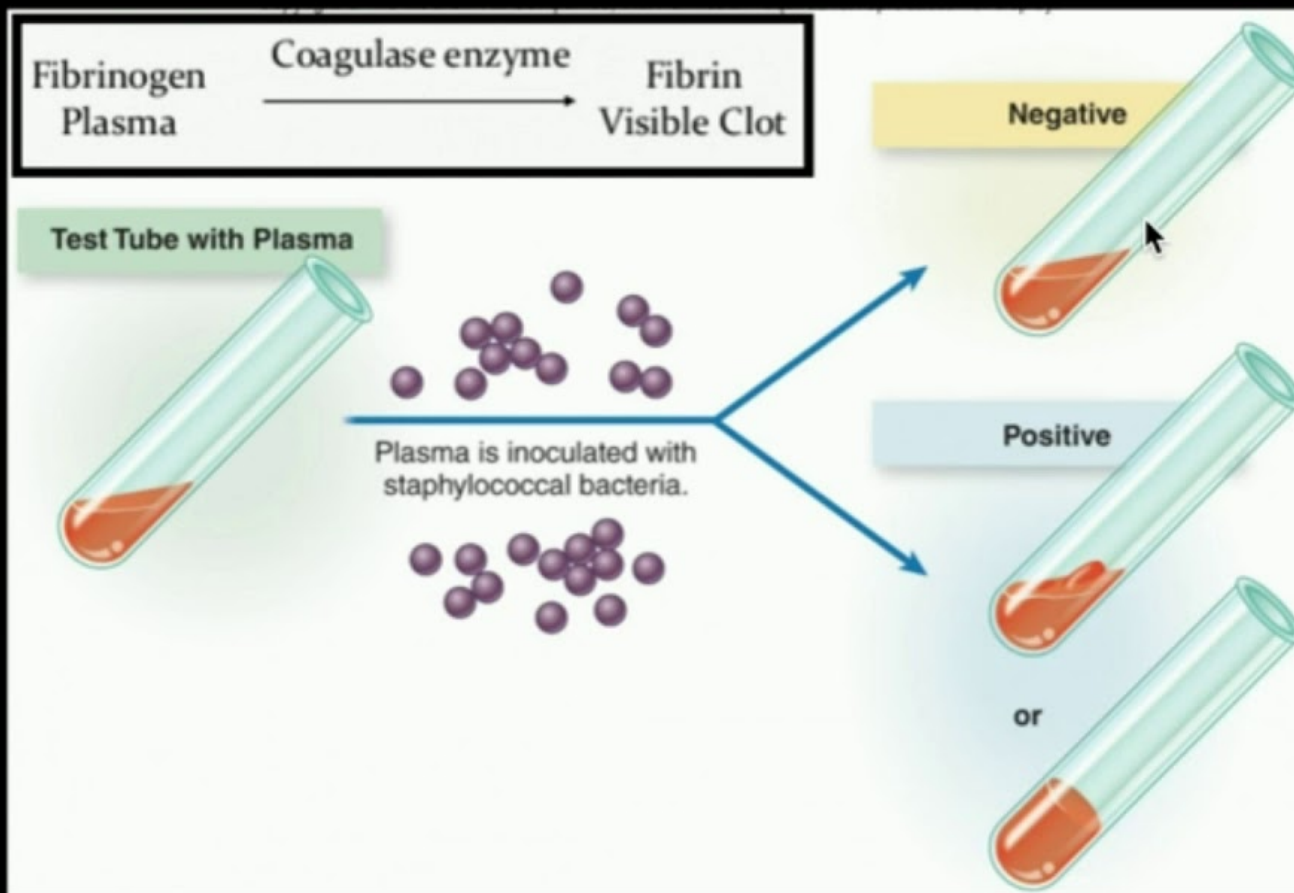


Negative

Tube method

Coagulase test

Coagulase Test



Video

- <https://www.youtube.com/watch?v=DYcyET3KN28&t=3s>

Referanslar

- <http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/210011402.pdf>
- <http://www.mikrobiyoloji.org/TR/yonlendir.aspx?F6E10F8892433CFFA79D6F5E6C1B43FFC7D510DFD423D9CA>
- https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/2405/mod_resource/content/1/GDM310%2007.pdf