

Kremalı Pastalarda *Staphylococcus aureus* Suşlarının Gelişme ve Enterotoksin Oluşturma Özellikleri Üzerine Etki Yapan Faktörler*

Mustafa ALIŞARLI, Emrullah SAĞUN, Süleyman ALEMDAR, Levent AKKAYA
Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Van - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 23.01.2001

Özet: Enterotoksijenik *Staphylococcus aureus* suşlarının kremalı pastalarda gelişme ve toksin oluşturma yeteneklerinin incelendiği bu çalışmada, kremler deneysel ve miks olarak A (SEA 10652 FDA 196E), B (SEB 10654 FDA 243), C (SEC 10655 137) ve D (SED 10656 494) tipi toksin oluşturan *S. aureus* suşları ile 10^3 , 10^4 ve 10^5 kob/g düzeyinde inoküle edilmiştir. Kontamine kremler ile yapılan kremalı pasta örnekleri 4°C, 10°C, 18°C, oda sıcaklığında (23-26°C) ve 30°C'de 48 saat muhafaza edilmiş ve bu süre içerisinde 2, 6, 12, 24 ve 48 saat sonra alınan örnekler mikrobiyolojik, fiziko-kimyasal ve serolojik olarak analiz edilmiştir.

10^3 kob/g düzeyinde kontamine ve 4°C, 10°C, 18°C'de muhafaza edilmiş kremalı pasta örneklerinde hiçbir suş enterotoksin oluşturmazken, 30°C'de A, B, C ve D tipi enterotoksinler aynı sırayla 12, 18, 48 ve 24 saat sonra tespit edilmiştir. Oda sıcaklığında muhafaza edilen örneklerde enterotoksin C belirlenmemiş, enterotoksin A ve D 24 saat ve enterotoksin B ise 48 saat sonra bulunmuştur. 10^4 kob/g düzeyinde kontamine edilerek 18°C'de muhafaza edilmiş kremalı pasta örneklerinde 48 saat sonra sadece enterotoksin A tespit edilmiştir. Oda sıcaklığında muhafaza edilen örneklerde enterotoksin A 12 saat, B 18 saat, D 24 saat ve C 48 saat sonra belirlenmiştir. 30°C'de muhafaza edilen örneklerde enterotoksin A 6 saat, B 12 saat, D 18 saat ve C 24 saat sonra saptanmıştır. 10^5 kob/g düzeyinde kontamine edilmiş örneklerde A tipi toksin 18°C'de 24 saat sonra bulunmuştur. Oda sıcaklığında enterotoksin A ve B 12 saat, C ve D 18 saat sonra tespit edilmiştir. 30°C'de muhafaza edilen örneklerde ise enterotoksin A ve D 6 saat, B ve C 12 saat sonra saptanmıştır.

Sonuç olarak özellikle enterotoksin A oluşturan *S. aureus* suşlarının düşük sıcaklıklarda da toksin oluşturabileceği saptanmıştır. Bu nedenle kremalı pasta ve benzeri ürünlerin soğukta muhafaza edilmelerinin ve enterotoksin oluşturan *S. aureus* suşları ile kontaminasyonların önlenmesi için gerekli önlemlerin alınmasının zorunlu olduğu ve alınacak hijyen önlemlerinin özellikle A tipi enterotoksin oluşturan *S. aureus* suşları dikkate alınarak yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Kremalı pasta, *S. aureus*, Gelişme, Enterotoksin üretimi

A Study on the Factors Affecting the Growth of *Staphylococcus aureus* Strains and Enterotoxin Production in Cream Pastries

Abstract: In this study, the growth and enterotoxin production abilities of enterotoxigenic *S. aureus* strains in cream pastries were investigated. The cream was inoculated with enterotoxigenic *S. aureus* strains, which produce A (SEA 10652 FDA 196E), B (SEB 10654 FDA 243), C (SEC 10655 137) and D (SED 10656 494) type toxins as mixtures at 10^3 , 10^4 and 10^5 cfu/g levels. Cream pastry samples produced with these cream mixtures were stored at 4°C, 10°C, 18°C, room temperature (23-26°C) and 30°C for 48 hours. The samples taken after 2, 6, 12, 24 and 48 hours during this experiment were analysed microbiologically, physico-chemically and serologically.

None of the strains produced enterotoxin in cream pastry samples contaminated at 10^3 cfu/g and stored at 4°C, 10°C and 18°C. Enterotoxin A, B, C and D were determined at 30°C after 12, 18, 48 and 24 hours, respectively. At room temperature enterotoxin C was not detected but enterotoxin A and D were observed after 24 hours, while the observation time was 48 hours for enterotoxin B. In cream pastry samples contaminated at 10^4 cfu/g and stored at 18°C, only enterotoxin A was detected after 48 hours. In the samples stored at room temperature, A, B, D and C were observed after 12, 18, 24 and 48 hours, respectively. At 30°C, enterotoxin A, B, D and C were detected after 6, 12, 18 and 24 hours, respectively. In the other cream pastry samples contaminated at 10^5 cfu/g and stored at 18°C, enterotoxin A was observed after 24 hours. At room temperature enterotoxin A and B were observed after 12 hours and enterotoxin C and D were observed after 18 hours. At 30°C, enterotoxin A and D were detected after 6 hours and enterotoxin B and C were detected after 12 hours.

Therefore, considering that especially *S. aureus* strains producing enterotoxin A can produce toxins at low temperatures, it is very important to store food products containing these types of strain in cold conditions and to take necessary precautions in order to prevent contamination with *S. aureus* strains which produces enterotoxin. Furthermore, necessary hygienic measures should be taken by considering *S. aureus* strains, especially those producing A type enterotoxin.

Key Words: Cream pastry, *S. aureus*, Growth, Enterotoxin production

* Bu çalışma Y.Y.Ü. Araştırma Fonu tarafından 98-VF-072 nolu proje olarak desteklenmiştir.

Giriş

Staphylococcus aureus'un bazı suşları insanlarda intoksikasyon belirtileri gösteren maddeler oluştururlar. Bu maddeler sindirim sisteminde meydana getirdiği olumsuz etkilerinden dolayı enterotoksin olarak isimlendirilirler. *S. aureus* enterotoksinlerinin neden olduğu intoksikasyonlarda inkübasyon süreleri kısa olup alındıktan yaklaşık 2-4 saat sonra klinik semptomlar oluşturmakta ve bu semptomlar 48 saat sonra tekrar kaybolmaktadır (1).

Çeşitli ülkelerdeki rastlanma sıklığı coğrafik koşullara ve beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak değişmektedir. Görülen vakalardaki ölüm oranı düşük ve klinik belirtilerde hafif olmakla birlikte en sık görülen gıda intoksikasyonlarından biri olup, büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır (2,3,4). Yapılan tahminlere göre Amerika Birleşik Devletleri'nde yıllık yaklaşık 1,5 milyar dolarlık bir kayba neden olmaktadır (3). İntoksikasyonların başlıca nedenleri, yetersiz hijyen, uygun olmayan sıcaklıkta muhafaza, organizmanın çevresel koşullara dirençli ve yüksek sıcaklık derecelerine dayanıklı toksinler üretmesidir (5-10). Özellikle mastitisli hayvanlardan sağılan sütler enteropatojenik *S. aureus* suşlarının önemli bir kaynağıdır (11-14). Mastitisli memeden sağılan bir sütte *S. aureus* sayısının $1,5 \times 10^7$ kob/ml'yi geçebileceği bildirilmiştir (15). *S. aureus* insanlarda da vücudun farklı bölgelerinde (örn., burun, cilt, boğaz-yutak) doğal olarak bulunabilmektedir (13,16-19). İnsanların ellerinden, hapşırma ve öksürme ile burun ve boğaz dokusundan gıda maddelerine bulaşma olma olasılığı yüksektir (5,6,7,13,17,20).

Mikroorganizmanın toksin oluşturması için ortam koşulları, vegetatif gelişme isteklerinden biraz farklılık göstermektedir (21,22). Stafilokokkal intoksikasyon tehlikesi, şüphesiz enterotoksijenik stafilokokların gıdalarda en az 10^5 kob/g bakteri sayısına ulaşmasından sonra oluşur (1). İlk bu sayı yüksekliğinden itibaren intoksikasyona neden olan toksin oluşumu dikkate alınmalıdır (23,24). Enterotoksinler genellikle suşa özgü olmakla beraber, bir suş birden fazla toksin üretebilmektedir (22). Serolojik olarak belirlenen 7 toksin (A, B, C, C2, C3, D, E) olduğu belirtilmiş ise de, toksin şok sendromu yapan ve TST-1 olarak adlandırılan bir toksin (F) ve de son zamanlarda belirlenen G ve H toksini ile birlikte toplam 10 çeşit enterotoksin olduğu bildirilmiştir (25). Yapılan araştırmalarda, gıda

intoksikasyonlarında en çok görülen ve en toksik olanı enterotoksin A'dır (17,26). İntoksikasyonun şiddeti alınan toksin miktarına bağlıdır (1). Evenson ve ark. (26)'na göre 100-200 ng enterotoksin A'nın alınması ile gıda intoksikasyonu oluşur. Raj ve Bergdoll (27)'de bunu enterotoksin B için 20-25 µg olarak belirlemişlerdir. Gıda intoksikasyonlarına en çok A toksininin neden olduğu ve bunu B ve D toksininin izlediği birçok araştırmacı tarafından ifade edilmiştir (21,28,29,30). Bu toksinler kremalı pastaların ve benzer ürünlerin tüketilmesi ile ortaya çıkan çok sayıda gıda intoksikasyonunun sebebidirler (5,20,28,31,32,33).

Gıdalarda *S. aureus*'un gelişimi ve stafilokokal enterotoksinlerin oluşumu, gıdanın su aktivitesi, pH'sı, muhafaza sıcaklığı, içeriği ve eşlik eden flora gibi faktörlere bağlıdır (1,21,31,34-40). Kremalı pastalar bileşimleri, su aktiviteleri, pH değerleri nedeniyle özellikle stafilokoklar için ideal bir ortamdır (1,5,20,31,32,41,42).

Bu çalışmanın amacı, kremalı pastalarda enterotoksijenik *S. aureus*'un gelişmesi ve enterotoksin oluşumu için gerekli şartları araştırmaktır. Bu sayede tüketici sağlığı açısından risk oluşturan noktaları tespit ile meydana gelebilecek gıda intoksikasyonlarına karşı koruyucu önlemleri almaktır.

Materyal ve Metot

Test suşları: Çalışmada kremanın deneysel inokülasyonu için enterotoksin oluşturan 4 farklı *Staphylococcus aureus* suşu kullanılmıştır. A, B, C ve D tipi toksin oluşturan SEA 10652 FDA 196E, SEB 10654 FDA 243, SEC 10655 137 ve SED 10656 494 *S. aureus* suşları, Dr. B. Holmes, NCTC (National Collection of Type Cultures Public Health Laboratory Service, Londra)'den temin edilmiştir. *S. aureus* suşları kremaların inokülasyonunda kullanılmadan önce yeterli miktarda enterotoksin oluşturmalarını kesinleştirmek için enterotoksin oluşturma yeteneği yönünden Reversed Passive Latex Agglutination ticari test kiti (OXOID, SET RPLA, TD900) ile test edilmiştir.

Kremalı pasta: Çalışmada kullanılacak kremalı pastanın pasta ve kreması bir pastane işletmesine hazırlanmıştır. Pasta ve krema ayrı kaplarda aseptik koşullarda laboratuvara getirilmiştir. Pastaların ve kremanın başlangıç bakteri yükünü, a_w ve pH değerini belirlemek için inokülasyon öncesi örnek ayrılmıştır.

Pastalara krema sürülmeden önce krema 3 eşit ağırlığa bölünmüş ve her biri gramında aşağıda belirtilen miktarlarda bakteri ihtiva edecek şekilde inoküle edilmiştir. Sonra kremalı pastalar bir porsiyonu yaklaşık 200 gram gelecek şekilde dilimlenmiştir.

İnokulasyon ve miktarının hazırlanması: İnokulasyon ve miktarının hazırlanmasında Nolte (43) ve Alişarlı'nın (38) metotları kullanılmıştır. Kremalı pastaların kreması enterotoksijenik A, B, C, ve D suşları ile miks olarak gramında 10^3 , 10^4 veya 10^5 bakteri ihtiva edecek şekilde kontamine edilmiştir.

Muhafaza koşulları: Deneysel olarak kontamine edilmiş kremalı pasta örnekleri 4°C, 10°C, 18°C, oda sıcaklığında (23-26°C) ve 30°C'de muhafaza edilmiş ve 2, 6, 12, 18, 24 ve 48 saat sonra mikrobiyolojik, fiziko-kimyasal ve serolojik yönden analizleri yapılmıştır.

Mikrobiyolojik analizler: Mikrobiyolojik analizler kapsamında *S. aureus* sayısı yanında, toplam aerob mezofil bakteri, laktobasiller ve enterobakterilerin sayısı da belirlenmiştir (44,45).

Örneklerin alınışı ve dilüsyonun hazırlanması: Mikrobiyolojik yönden analizi yapılacak her bir örnek steril stomacher torbalara (IUL Instrument, CLASSIC 0400 model için) 10'ar g tartılarak üzerine 90'ar ml steril peptonlu fizyolojik tuzlu su (%0.85 NaCl + %0.1 pepton) ilave edilip stomacherde (IUL Instrument, CLASSIC 0400) 2 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Bu şekilde 1:10 sulandırılması sağlanan örneğin homojenizatından desimal olarak 10^{-8} 'e kadar dilüsyonlar hazırlanmıştır.

Besiyerlerine ekim ve sayım: Hazırlanan dilüsyonlardan damla plak yöntemi ile Plate Count Agar'a (PCA, OXOID, CM325), Violet Red Bile Glucose Agar'a (VRBG, OXOID, CM485), Lactobacillus (de Man Rogosa Sharpe) Agar'a (MRS, OXOID, CM361) ve Baird Parker Agar'a (BP, OXOID, CM275) ekim yapılmıştır. Besiyerleri PCA 30°C'de 2-3 gün aerob, VRBG ve MRS 30°C'de 2-3 gün anaerob ve BP 37°C'de 2 gün aerob koşullarda inkübe edilmişlerdir. Plate Count Agar'da üreyen bütün koloniler toplam aerob mezofil bakteri sayısı, Violet Red Bile Glucose Agar'da 1-2 mm çapında, kırmızı ve kırmızı hale oluşturarak üreyen ve oksidaz testi (Identification Sticks Oxidase, OXOID, BR64A) negatif veren tüm koloniler enterobakteri, Laktobacillus Agar'da en az 1mm büyüklüğünde üreyen ve katalaz testi pozitif sonuç veren koloniler laktobasillus ve Baird Parker Agar'da üreyen 1-3 mm çapında parlak, siyah (tellurit reaksiyonu) etrafı bir

hale ile çevrili koloniler (yumurta sarısı veya lesitinaz reaksiyonu) *S. aureus* olarak sayılmıştır. *S. aureus* suşları kremaya karışık olarak inoküle edildiği için, bulunan *S. aureus* sayısı bütün *S. aureus*'ların toplam sayısal değeridir.

Enterotoksin Analizi: Enterotoksin tayini amacı ile kremalı pasta örneklerinin 10 gramı 10 ml serum fizyolojik ile homojenize ve sonra 4°C'de 900 g'de 30 dakika santrifüje (Minifuge RF, Heraeus-Sepatech) edilmiştir. Santrifüj sonrası üstte kalan sıvı membran filtreden (Minisart 0.20 µm, Sartorius) süzölmüş ve berrak olan süzöntüde A, B, C ve D tipi enterotoksinlerin varlığı Reversed Passive Latex Agglutination ticari test kiti (OXOID, SET RPLA, TD900) ile tespit edilmiştir (46).

Fiziko-kimyasal analizler: Tüm örneklerin pH değerleri ölçümü pH metre ile (Nel elektronik, pH890) mikrobiyolojik analizler tamamlandıktan sonra gerçekleştirilmiştir. Kremalı pastanın su aktivitesi (a_w) değeri *S. aureus* inoküle edilmeden önce ölçülmüştür. Su aktivitesi değeri tespitinde Rödel ve ark. (47) tarafından geliştirilen A_w -Wert-Messer (Luft) cihazı kullanılmıştır.

Bulgular

Tablo 1 içerisinde farklı sıcaklıklarda muhafaza edilen kremalı pasta örneklerinde başlangıç itibarıyla var olan ve analizi yapılan eşlik/rekabetçi floranın muhafaza süresince gelişme seyri ve inokulasyon düzeylerine göre *S. aureus*'ların gelişimi, pH seyri ve oluşan toksin tipleri toplu halde verilmiştir. Tablo içerisinde eşlik/rekabetçi flora ve *S. aureus* sayıları logaritmik (\log_{10}) olarak verilmiştir.

İnokulasyon öncesi alınan örneklerde yapılan mikrobiyolojik analiz bulgularına göre; kremalı pastanın krema kısmında, toplam aerob mezofil bakteri, laktobasilluslar ve enterobakterilerin sayısı sırasıyla $3,2 \times 10^4$, $2,4 \times 10^4$ ve $1,2 \times 10^2$ kob/g olarak bulunurken, kek kısmından alınan örneklerde bakteriyel bir gelişme olmamıştır. Her 2 örnekten de Baird Parker Agar'a yapılan ekimlerde stafilokok bakteri gelişmesi olmamıştır.

Kremalı pasta yapılacak kremalarda inokulasyondan hemen sonra *S. aureus*'ların sayısı $6,2 \times 10^3$, $6,6 \times 10^4$ ve $5,8 \times 10^5$ kob/g düzeylerinde bulunmuştur.

Kremalı pastanın başlangıç pH değeri 6,78 olarak bulunmuştur. Muhafaza süresince meydana gelen pH seyri Tablo 1 içerisinde sunulmuştur. Su aktivitesi değeri

Tablo 1. Kremalı pasta örneklerinde rekabetçi floranın ve *S. aureus*'un gelişimi (log10), pH seyri ve oluşan toksin tipleri.

Sıcaklık	Süre	İnokulasyon düzeyi 10 ³ (kob/g)						İnokulasyon düzeyi10 ⁴ (kob/g)						İnokulasyon düzeyi10 ⁵ (kob/g)					
		Amb	Lbs	Entb	<i>S.aureus</i>	pH	Toksin	Amb	Lbs	Entb	<i>S.aureus</i>	pH	Toksin	Amb	Lbs	Entb	<i>S.aureus</i>	pH	Toksin
4°C	2 s	4,45	4,25	2,00	3,83	6,76	-	4,90	4,30	2,20	4,86	6,79	-	5,87	4,34	2,08	5,78	6,55	-
	6 s	4,53	4,15	2,38	3,81	6,70	-	4,89	4,38	2,15	4,83	6,75	-	5,89	4,30	2,15	5,78	6,40	-
	12 s	4,50	4,34	2,34	3,86	6,71	-	4,88	4,30	2,08	4,82	6,80	-	5,92	4,34	2,00	5,75	6,45	-
	18 s	4,58	4,45	2,25	3,83	6,65	-	4,82	4,58	2,30	4,84	6,82	-	5,92	4,48	2,38	5,86	6,51	-
	24 s	4,60	4,48	2,30	3,84	6,70	-	4,83	4,56	2,34	4,83	6,80	-	5,96	4,48	2,41	5,79	6,47	-
	48 s	4,64	4,53	2,38	3,87	6,63	-	4,82	4,62	2,34	4,67	6,64	-	5,95	4,50	2,38	5,81	6,49	-
10°C	2 s	4,73	4,48	2,60	3,70	6,73	-	4,86	4,50	2,53	4,83	6,75	-	5,89	4,45	2,56	5,81	6,66	-
	6 s	4,79	4,50	2,60	3,84	6,74	-	4,93	4,56	2,62	4,87	6,71	-	5,91	4,56	2,62	5,91	6,55	-
	12 s	4,84	4,64	2,66	4,15	6,72	-	4,99	4,58	2,62	4,88	6,69	-	6,20	4,60	2,56	5,95	6,51	-
	18 s	4,87	4,68	2,83	4,58	6,45	-	5,08	4,66	2,78	4,96	6,70	-	6,86	4,68	2,68	6,34	6,50	-
	24 s	4,90	4,89	3,15	4,84	6,40	-	5,96	4,83	3,00	5,34	6,65	-	6,89	4,90	3,25	6,68	6,48	-
	48 s	5,48	5,00	3,60	5,00	6,35	-	5,98	5,00	3,53	5,86	6,60	-	7,50	5,38	3,58	7,34	6,47	-
18°C	2 s	4,78	4,62	2,78	3,78	6,82	-	5,50	4,56	2,72	5,00	6,76	-	5,98	4,48	2,79	5,93	6,50	-
	6 s	4,81	4,81	2,86	3,90	6,79	-	5,92	4,76	2,78	5,86	6,61	-	6,75	4,75	2,88	6,41	6,48	-
	12 s	4,84	4,92	3,38	4,41	6,75	-	6,84	4,93	3,53	6,81	6,32	-	7,00	5,25	3,53	6,96	6,40	-
	18 s	5,72	5,08	3,79	4,62	6,40	-	6,96	5,41	3,82	6,93	6,20	-	7,89	5,62	3,90	7,87	6,10	-
	24 s	5,91	5,78	4,00	5,08	6,28	-	7,62	5,72	4,15	7,08	6,08	-	8,66	5,79	4,50	8,45	5,80	A
	48 s	6,81	5,97	4,38	6,38	6,00	-	7,87	5,93	4,53	7,58	5,98	A	8,91	6,00	4,66	8,72	5,29	A
Oda sıcaklığı 22-26°C	2 s	4,82	4,70	3,62	3,91	6,71	-	5,64	4,60	3,60	5,34	6,65	-	6,50	4,50	3,72	6,00	6,45	-
	6 s	5,15	4,88	3,81	4,38	6,56	-	5,98	4,79	3,72	5,88	6,52	-	7,92	4,81	3,82	7,88	6,12	-
	12 s	5,53	4,99	4,15	4,53	6,45	-	6,93	4,98	4,53	6,84	6,49	A	8,79	4,92	4,00	8,62	6,01	AB
	18 s	6,08	5,50	4,91	5,91	6,32	-	7,15	5,48	4,78	6,97	6,35	AB	8,99	5,08	4,78	8,93	5,80	ABCD
	24 s	6,94	5,86	5,00	6,88	5,90	AD	7,79	5,75	5,00	7,62	6,01	ABD	9,56	5,78	4,89	9,00	5,43	ABCD
	48 s	7,64	6,79	5,50	7,34	5,42	ABD	7,97	6,62	5,34	7,92	5,27	ABCD	9,64	6,79	5,62	9,08	5,20	ABCD
30°C	2 s	4,86	4,79	4,08	4,08	6,65	-	5,73	4,72	4,34	5,38	6,66	-	6,56	4,62	4,25	6,45	6,23	-
	6 s	5,73	4,99	4,83	5,58	6,32	-	6,89	4,89	4,76	6,89	6,38	A	7,73	4,87	4,78	7,62	6,00	AD
	12 s	6,78	5,75	4,93	6,66	6,12	A	7,08	5,70	4,89	7,08	6,04	AB	7,95	5,66	4,82	7,91	5,85	ABCD
	18 s	7,79	6,62	5,62	7,62	5,85	AB	8,89	6,56	5,60	8,89	5,91	ABD	8,86	6,56	5,50	8,94	5,73	ABCD
	24 s	8,89	7,82	6,56	8,82	5,72	ABD	9,08	7,72	6,60	9,08	5,60	ABCD	9,00	7,76	6,75	9,30	5,55	ABCD
	48 s	9,53	8,08	7,34	9,08	5,40	ABCD	9,50	8,00	7,08	9,50	5,45	ABCD	9,66	8,38	7,91	9,66	5,25	ABCD

s: Saat, Amb: Aerob mezofil bakteri, Lbs: Laktobasilluslar, Entb: Enterobakteriler, -: Toksin oluşmadığını gösterir

krema için 0,97 ve kek pasta için ise 0,89 olarak saptanmıştır. Kremalı pastanın (krema + kek) su aktivitesi değeri ise 0,94 olarak tespit edilmiştir.

Tartışma

Gıdalarda *S. aureus*'un gelişmesi ve stafilocok enterotoksinlerinin oluşması bir çok faktöre bağlıdır. Bu faktörler su aktivitesi, pH, sıcaklık ve gıdaların sahip olduğu besin içeriğidir (31,38,48,49). Bununla birlikte eşlik/rekabetçi floranın da engelleyici veya destekleyici etkisi de bulunmaktadır (6,12,21,36,38,50). Kremalı pastalar ve benzer ürünler, sahip oldukları pH, su aktivitesi, yapıları ve besin bileşimleri nedeniyle *S.*

aureus'un gelişmesi ve stafilocok enterotoksinlerinin oluşması için ideal ortamdır (11,20,31,33,38,41, 42,51,52).

Bazı araştırmacılar (43,49,53) *S. aureus*'un 0,87 su aktivitesinde gelişebildiğini bildirirken, Scott (54) 0,86 aw'de de geliştiğini belirtmiştir. Notermans ve ark. (21)'ları toksin oluşumu için *S. aureus*'un gelişiminden daha yüksek su aktivitesine ihtiyaç olduğunu bildirmişlerdir. Toksin oluşturan suşlar arasında da su aktivitesi ihtiyaçları yönünden farklılıklar vardır. A ve B tipi enterotoksinlere göre B ve C tipi enterotoksin oluşumu için daha yüksek su aktivitesine gereksinim vardır (21,38,49,55). Notermans ve Heuvelman (49) yüksek

stafilokok sayısına rağmen 0,93 su aktivitesinde B ve C tipi enterotoksin tespit edememişlerdir. Lotter ve Leistner (53) yaptıkları araştırmada enterotoksin A oluşturan suşların, Ewald ve Notermans (55) ise enterotoksin D oluşturan suşların 0,86 su aktivitesinde toksin oluşturabileceklerini saptamışlardır. Enterotoksin oluşturan suşların gelişmeleri ve toksin oluşturmaları için bu çalışmada kremalı pastanın sahip olduğu aw değeri oldukça uygun olup, kremanın a_w değeri 0,97 ve kek pastanın ise 0,89 olarak bulunmuştur. Kremalı pastanın su aktivitesi değeri 0,94 olmuştur. Minor ve Marth (56) bu gibi ürünlerde kremadaki suyun keke geçerek kremanın su aktivitesinin düştüğünü belirtmişlerdir. Ayrıca Sumner ve ark. (50)'ları bisküvilerin su aktivitesi değerini 0,52-0,69 ve krem pufların 0,89-0,99 olarak bulmuştur.

S. aureus'ların optimal pH değerleri 6 ve 7 arasındadır (57). Bazı araştırmacılar (49,57,58) *S. aureus*'un pH 4-4,5 arasında da gelişebileceğini bildirmişlerdir. pH değerinin azalması suşların gelişmelerinden çok, toksin oluşturmalarını kısıtlamaktadır ve özellikle enterotoksin B ve C daha çok etkilenmektedir (59). Scheusner ve Harmon (60) farklı gıdalarda (vanilyalı puding, kremalı kek vs.) yaptıkları çalışmada enterotoksin oluşturan A, B, C ve D suşlarının pH 5'in altında hem gelişmediklerini ve hem de toksin oluşturmadıklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada ürünün başlangıç pH değeri 6,78 iken bu muhafaza sıcaklığının etkisi ile bakterilerin gelişmelerine bağlı olarak düzenli bir şekilde azalmıştır. Burada laktik asit bakterilerin gelişmeleri yanı sıra kremada mevcut olan şekerin diğer bakteriler tarafından da kullanımı pH'nın düşmesinde etkili olmuştur (38,49,59). Çalışmada tespit edilen en düşük pH değeri 5,25 olarak bulunmuş, ilk toksin oluşan örnekler incelendiğinde (Tablo 1) pH değerlerinin limit değerlerin üzerinde olduğu görülmektedir.

Stafilokokların gelişmesi için gerekli sıcaklık alanı 6,7°C ile 45,7°C arasında değişmekle birlikte (31,61) pH, su aktivitesi ve gıdanın besin bileşimi gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir (62). Sıcaklık değişimi *S. aureus*'un gelişiminden çok toksin oluşumu üzerine etkilidir (63). Toksin oluşumu için gerekli sıcaklık alanı *S. aureus*'un gelişmesi için gerekli olandan daha dardır. Notermans ve ark. (21)'ları enterotoksin C oluşturan *S. aureus* suşlarının sıcaklığa karşı daha duyarlı olduğunu ve 12°C ile 16°C arasında nadir olarak toksin oluştuklarını tespit etmişlerdir. Notermans ve Heuvelman (49) enterotoksin A ve B'yi 12°C'nin altındaki sıcaklıkta bulmuşlardır.

Bu çalışmada, 4°C'de muhafaza edilen kremalı pasta örneklerin hiç birinde *S. aureus*'ların sayısı enterotoksin oluşturabilecek düzeye ulaşmamıştır. 10°C'de özellikle 10^5 kob/g düzeyinde inokule edilen örneklerde muhafaza süresi sonunda *S. aureus*'ların sayısı enterotoksin oluşturacak düzeyde bulunmuş, ancak hiçbir toksin tipine rastlanmamıştır. Keoseyan ve Bennet (64) puding türü bir tatlıyı $5,0 \times 10^2$ kob/g düzeyinde enterotoksin A oluşturan *S. aureus*'la kontamine etmişler ve 5°C'de 24 saat muhafaza ettikleri çalışmada toksin bulamamışlardır. Costanzo-Anunciacao (42) 10^2 'den 10^6 'ya kadar değişen miktarda *S. aureus* suşları ile inokule edilen ve 6°C'de 27 saat muhafaza edilen kremalı pastalarda benzer sonuca ulaşmışlardır. Alışarlı (38) 10^3 ve 10^4 kob/g düzeyinde inokulasyon sonrası 4°C'de 60 saat muhafaza ettiği sütlü tatlılarda enterotoksijenik A, B, C ve D *S. aureus* suşlarının hiçbirisinin toksin oluşturmadığını belirlemiştir. Çalışmanın bulguları, yukarıdaki araştırmacıların bulguları ile benzerlik göstermektedir. 4°C, 10°C'de yüksek inokulasyona ve hatta 10°C'de 48 saat muhafaza sonrası bakteri sayısı $2,2 \times 10^7$ kob/g düzeyinde olmasına rağmen hiçbir suş enterotoksin oluşturmamıştır (Tablo 1).

Çalışmada, artan sıcaklık *S. aureus* suşlarının gelişmelerini ve enterotoksin oluşturmalarını olumlu etkilemiştir (Tablo 1). 18°C'de muhafaza edilen ve inokulasyon düzeyi 10^4 ve 10^5 kob/g olan kremalı pasta örneklerinde sadece enterotoksin A tespit edilmiş ve diğer toksin tipleri belirlenmemiştir. Oda sıcaklığında (23-26°C) enterotoksin A, inokulasyon düzeyi 10^3 kob/g olan örneklerde 24 saat, 10^4 kob/g ve 10^5 kob/g olan örneklerde 12 saat sonra tespit edilirken, enterotoksin B yine aynı inokulasyon sırasına göre 48 saat, 18 saat ve 12 saat sonra bulunmuştur. Enterotoksin C, inokulasyon düzeyi 10^3 kob/g olan örneklerde bulunamazken, 10^4 kob/g olan örneklerde 48 saat ve 10^5 kob/g olan örneklerde 18 saat sonra belirlenmiştir. Enterotoksin D, inokulasyon düzeyi 10^3 ve 10^4 kob/g olan örneklerde 24 saat ve 10^5 kob/g olanlarda 18 saat sonra saptanmıştır. 30°C'de ise enterotoksin A, inokulasyon düzeyi 10^3 kob/g olan örneklerde 12 saat, 10^4 ve 10^5 kob/g olan örneklerde 6 saat sonra saptanırken, enterotoksin B, yine aynı sırayla 18 saat ve 12 saat sonra tespit edilmiştir. Enterotoksin C, inokulasyon düzeyi 10^3 kob/g olan örneklerde 48 saat, 10^4 kob/g olanlarda 24 saat ve 10^5 kob/g olanlarda ise 12 saat sonra belirlenmiştir. Enterotoksin D ise yine aynı sırayla 24 saat, 18 saat ve 12 saat sonra bulunmuştur. Bu bulgular bazı araştırmacıların

bulgularıyla benzerlik (38,60) göstermektedir. Scheusner ve Harmon (60) vanilyalı pudingte enterotoksin A, B, C ve D'nin 19°C ile 45°C arasında oluşabileceklerini tespit etmişlerdir. Alışarlı (38) enterotoksin A, B, C ve D oluşturan *S. aureus* suşları ile 10⁴ kob/g düzeyinde kontamine ettiği muhallebi, keşkül ve sütlaç tatlılarında oda sıcaklığında (21-24°C) ve 30°C'de 48 saat muhafaza sonrası bütün toksinlerin 24 veya 48 saat içerisinde oluştuğunu bildirmiştir. Aynı araştırmacı 10³ kob/g düzeyinde kontamine ettiği sütlaç tatlılarında su aktivitesine bağlı olarak 18°C'de enterotoksin A ve D'yi bulmuştur. 22°C'de yalnız C tipi toksin oluşmamıştır. 30°C'de ise yine sadece C tipi toksin inokulasyon şekline bağlı olarak tespit edilememiştir. Yalnız bu çalışmada 18°C'de D tipi enterotoksin oluşmamıştır. Bu kullanılan suşların farklı olmasından kaynaklanabilir.

Araştırma sonuçları, artan muhafaza sıcaklığının ve inokulasyon miktarının *S. aureus* suşlarının gelişmeleri ve özellikle de toksin oluşturma dinamiği üzerine etkisinin oldukça fazla olduğu göstermektedir. Enterotoksin C'nin diğerlerinden daha az oluşması, onun düşük konsantrasyonlarda rekabetçi özelliğinin az olmasına bağlanabilir (38). *S. aureus* suşlarının yüksek bakteri konsantrasyonuna ulaşması ve enterotoksin oluşturabilmesi için rekabetçi floraya karşı dominant olması gerekir (21,36,38). Tablo 1 incelendiği zaman, artan inokulasyon miktarlarında *S. aureus* suşlarının daha fazla enterotoksin oluşturduğu görülmektedir. Bu, Müller (65)'e göre, eğer *S. aureus*'ların başlangıç sayıları 10⁴ kob/g'den daha büyük olursa rekabetçi floranın *S.*

aureus'un gelişmesi ve enterotoksin oluşturmaya karşı engelleyici etkisinin zayıf olmasındandır. Çalışmada ayrıca dikkat çeken A tipi enterotoksinin bulunma sıklığıdır. Bir çok araştırmacı (21,38,55) enterotoksin A oluşturan *S. aureus* suşların diğer toksin oluşturan *S. aureus* suşlarına göre uygun olmayan şartlar altında da enterotoksin sentezleyebileceğini bildirmektedirler.

Analiz bulgularına göre, gıda intoksikasyonlarından korunmak için koruyucu tedbir olarak soğukta muhafazanın önemli olduğu ortaya çıkmıştır. Gıda hijyeni açısından 5-10°C'in altındaki soğukta muhafaza, gıdaların raf ömrünün uzaması ve bununla birlikte gıda intoksikasyonlarına neden olan bakterilerin gelişmelerini durdurması açısından da etkilidir (66). Kremalı pasta ve benzeri ürünlerin tüketilmesiyle meydana gelen stafilokok intoksikasyonları genellikle ısı işlemi sonrası gerçekleşen kontaminasyonlarla olduğundan (5,13,20,28), bu ürünler üretildikten sonra muhakkak soğukta muhafaza edilmelidir (28,38,42,67).

Sonuç olarak; bu çalışma ile enterotoksin oluşturan *S. aureus* suşlarının kremalı pastalarda kısa sürede toksin sentezleyebilecekleri saptanmıştır. Özellikle enterotoksin A oluşturan *S. aureus* suşlarının düşük sıcaklıklarda da toksin oluşturabileceği dikkate alınarak, bu ve benzeri içerikli ürünlerin kesinlikle soğukta muhafaza edilmeleri ve enterotoksin oluşturan *S. aureus* suşları ile kontaminasyonların önlenmesi için gerekli önlemlerin alınmasının zorunlu olduğu ve alınacak hijyen önlemlerinin özellikle A tipi enterotoksin oluşturan *S. aureus* suşları dikkate alınarak yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

1. Bergdoll, M.S.: *Staphylococcus aureus*. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1991; 74: 706-710.
2. Sudhakar, P., Rao, N., Bhat, R.V., Gupta, C.P.: The economic impact of a foodborne disease outbreak due to *S. aureus*. J. Food Prot. 1988; 51 (11): 898-900.
3. Todd, E.C.D.: Preliminary Estimates of costs of foodborne disease in the United States. J. Food Prot. 1989; 52 (8): 595-601.
4. Mossel, D.A.A., Van Netten, P.: *Staphylococcus aureus* and related staphylococci in foods: Ecology, proliferation, toxinogenesis, control and monitoring. J. Appl. Bacteriol. Symposium Supplement. 1990; 123-145.
5. Bryan, L.F.: Public health aspects of cream-filled pastries. A review. J. Milk Food Technol. 1976; 39: 289-296.
6. Bryan, L.F.: Factors that contribute to outbreaks of foodborne disease. J. Food Prot. 1978; 41: 816-827.
7. Bryan, L.F.: Risk of practices, procedures and processes that lead to outbreaks of foodborne disease. J. Food Prot. 1988; 51: 663-673.
8. Bean, N.H., Griffin, P.M.: Foodborne disease outbreaks in the United States, 1973-1988: Pathogens, Vehicles and Trends. J. Food Prot. 1990; 53: 804-817.
9. Zastrow, K.D., Schönberg, I.: Ausbrüche lebensmittelbedingter Infektionen und mikrobielbedingter Intoxikationen in der Bundesrepublik Deutschland 1991. Gesundh. -Wes. 1993; 55: 250-253.
10. Tekinşen, O.C., Keleş, A.: *Staphylococcus aureus* ve stafiloenterotoksikozis. Türk Vet. Hek. Derg. 1994; 6 (2): 41-44.
11. Hirooka, E.L., Salzberg, S.P.C., Bergdoll, M.S.: Production of staphylococcal enterotoxin A and thermonuclease in cream pies. J. Food Prot. 1987; 50: 952-955.

12. Neumayr, L., Kraemer, J.: Vergleichende Untersuchung zur Bildung von Enterotoxin A und Thermonuclease durch *Staphylococcus aureus* in Sojomilch(-) und Milchprodukten. Arch. Für Lebensmittelhyg. 1989; 40: 3-7.
13. Ecker, C., Lenz, W.: Enterotoxinnachweis und Lysotypie bei *Staphylococcus aureus* in Rahmen der Speiseüberwachung. Arch. Für Lebensmittelhyg. 1990; 41: 120-126.
14. Ünlütürk, A.: Süt ve süt ürünlerinde mikrobiyolojik bozulmalar, patojen mikroorganizmalar ve muhafaza yöntemleri. Gıda Mikrobiyolojisi. (Eds: A. Ünlütürk ve F. Turantaş), Mengi Tan Basım evi, İzmir. 1998: 298-307.
15. Kınık, Ö., Gönç, S., Akalın, A.S.: Çiğ sütte patojen mikroorganizmalar. E.Ü. Zir. Fak. Yayını, İzmir. 1998.
16. Unterman, F.: Zum Vorkommen von enterotoxinbildenden Staphylokokken die Menschen. Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. A. 1972; 22: 18-26.
17. Gilmour, A., Harvey, J.: Staphylococci in milk and milk products. J. Appl. Bacteriol. Symposium Supplement. 1990; 147-166.
18. Spoerri-Peter, V.: Vorkommen und Eigenschaften von *Staphylococcus aureus* in Fleischverarbeitenden Betrieben. 1991; Vet. Med. Diss. Zürich.
19. Kaya, D., Metintaş, S.: Besin işleri ile uğraşan kişilerde *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığı. Türk Hij. Biyol. Derg. 1995; 52 (2) :77-80.
20. Beckers, H.J., Coutinho, R.A., Jansen, J.T., Van Leeuwen, W.J.: Staphylococcal food poisoning by consumption of sterilized vanilla custard. Antonie-van-Leeuwenhoek. 1980; 46: 224-225.
21. Notermans, S., Tips, P., Heuvelman, C.J.: Einfluss der Milieu-Bedingungen auf das Wachstum von *S. aureus* und die Enterotoxinbildung. Fleischwirtsch. 1984; 64: 1490-1496.
22. Halpin-Dohnalek, M., Marth, E.: *S. aureus*: Production of extracellular compounds and behavior in foods. A review, J. Food Prot. 1989; 54(4): 267-282.
23. Hobbs, B.C.: Staphylococcal and *Clostridium welchii* food poisoning. Roy. Soc. Health J. 1960; 80: 267-271.
24. Gilbert, R.J.: Staphylococcal food poisoning and botulism. Postgraduate Medical J. 1974; 50: 603-611.
25. Su, Y.C., Wong, A.C.L.: Current perspectives on detection of Staphylococcal enterotoxins. J. Food Prot. 1997; 60 (2): 195-202.
26. Evenson, M.L., Hinds, M.V., Bernstein, R.S., Bergdoll, M.S.: Estimation of human dose of staphylococcal enterotoxin A from a large outbreak of staphylococcal food poisoning involving chocolate milk. Int. J. Food Microbiol. 1988; 7: 311-316.
27. Raj, H.D., Bergdoll, M.S.: Effect of enterotoxin B on human volunteers. J. Bacteriol. 1969; 98: 833-834.
28. Bergdoll, M.S., do Carmo, L.S., Sikorski, W., de Olivera Filho, M.: Staphylococcal food poisoning in Brazil. 3rd World Congress/Foodborne infections and intoxications 1992 (WHO-FHO). 1992; B35: 320-322.
29. Wieneke, A.A.: Enterotoxin production by strains of *Staphylococcus aureus* isolated from foods and human beings. J. Hyg. Camb. 1974; 73: 255-261.
30. Wieneke, A.A.: Staphylococcal food poisoning in the United Kingdom, 1969-1990. Epidemiol. Infect. 1987; 110: 519-531.
31. Minor, E.T., Marth, H.E.: *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food intoxications. A review: IV. Staphylococci in meat, bakery products and other foods. J. Food Technol. 1972; 34: 228-241.
32. Jeppsen, C., Ewald, S.: *Staphylococcus aureus* and its significance in food toxicology. Dansk. Veterinaertidsskrift. 1983; 66: 921-927.
33. Thurm, V.: Die lebensmittelmikrobiologische Situation auf dem Gebiet der ehemaligen DDR. II. Lebensmittelinfektionen und -intoxikationen: Situation und Ursachen unter besonderer Berücksichtigung der Gemeinschaftsverpflegung. Bundesgesundheitsblatt. 1991; 34: 53-57.
34. MacCoy, D.W., Faber, J.E.: Influence of food microorganisms on staphylococcal growth and enterotoxin production in meat. Appl. Microbiol. 1966; 14: 372-377.
35. Ikram, M., Luedecke, L.O.: Growth and enterotoxin A production by *Staphylococcus aureus* in fluid dairy products. J. Food Prot. 1977; 40: 769-771.
36. Noletto, A.L.S., Malburg, L.M., Bergdoll, M.S.: Production of staphylococcal enterotoxin in mixed cultures. Appl. Environ. Microbiol. 1987; 53: 2271-2274.
37. Gourma, H., Tsai, W.Y.J., Bullerman, L.E.: Growth and production of enterotoxin A and D by *Staphylococcus aureus* in salad bar ingredients and clam chowder. J. Food Prot. 1991; 54: 844-847.
38. Alişarlı, M.: Vermehrung von *Staphylococcus aureus* und Enterotoxinbildung in türkischen Puddingspeisen. 1997; Inaug. Doktora Tezi, Zürich
39. Kısa, Ö., Albay, A., Erol, İ., Sırken, B., Esin, N., Gün, H., Yurtyeri, A., Kremali pastalardan izole edilen koagulaz pozitif stafilocokların enteotoksin oluşturma özelliklerinin vidas yöntemiyle belirlenmesi. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 1996; 43(4): 405-411.
40. Tahtacı, E., Balcı, İ., Erkmen, O.: Gaziantep yöresinde gıda işleme ve pazarlama alanında çalışan bireylerde *S. aureus*'un portörlüğü ve izole edilen suşların bakteriyofaj tiplendirmesi. Gıda tekn. 1996; 1(9): 53-57.
41. Bunnig-Pfaue, H., Timmermans, P., Notermans, S.: Einfache Methode für den Nachweis von Staphylokokken-Enterotoxin B in Vanillapudding mittels ELISA-TEST. Z. Lebensm. Unters.Forsch. 1981; 173: 351-355.
42. Costanzo-Anunciacao, L.L., Linaddi, W.R., do Carmo, L.S., Bergdoll, M.S.: Production of staphylococcal enterotoxin A in cream filled cake. Int. J. Food Microbiol. 1995; 26: 259-263.
43. Nolte, U.: Zum Einfluss der Wasseraktivitaet und Wasserstoffionenkonzentration auf die Enterotoxin- und Thermonucleasebildung bei Staphylokokken-Stämmen. 1982; Vet. Med. Diss., FU. Berlin.

44. Baumgart, J.: Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmittel. Behrs Verlag, Hamburg 1993.
45. Pichhardt, K.: Lebensmittelmikrobiologie. 3. Auflage. Springer Verlag, Berlin, New York, Paris, Tokyo, London, Hong Kong, Barcelona, Budapest 1993.
46. Rose, S., Bankes, P., Stringer, M.: Detection of staphylococcal enterotoxins in dairy products by the reserved passive latex agglutination (SET-RPLA) kit. Int. Food Microbiol. 1989; 8: 65-72.
47. Rödel, W., Ponert, H., Leistner, L.: Verbessertes a_w -Wert-Messer zur Bestimmung der Wasseraktivität von Fleisch und Fleischwirtsch. 1975; 4: 557-558.
48. Schmidt, H., Weis, W., Wever, H.: Untersuchungen über den Nachweis von Staphylokokken-Enterotoxinen in Milch und anderen Lebensmitteln. Arch. Für Lebensmittelhyg. 1972; 23: 141-146.
49. Notermans, S., Heuvelman, C.J.: Combined effect of water activity, pH and suboptimal temperature on growth and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus*. J. Food Sci. 1983; 48: 1832-1835.
50. Sumner, S.S., Albrecht, A.L., Peters, D.L.: Occurrence of enterotoxigenic strains of *Staphylococcus aureus* and enterotoxin production in bakery products. J. Food Prot. 1993; 56 (8): 722-724.
51. Notermans, S., van Otterdijk, R.L.M.: Production of enterotoxin A by *Staphylococcus aureus* in food. Int. J. Food Microbiol. 1985; 2: 145-149.
52. Alişarlı, M., Sancak, Y.C., Akkaya, L., Elibol, C.: Bazı sütlü tatlılarda *S. aureus*'un izolasyonu, termonükleaz aktivitesi ve enterotoksijenik özelliklerinin araştırılması. Proje no: TÜBİTAK-VHAG-1452. 2000; (Yayınlanmadı).
53. Lotter, L.P., Leistner, L.: Minimal water activity for enterotoxin A production and growth of *Staphylococcus aureus*. Appl. Environ. Microbiol. 1978; 36: 377-380
54. Scott, W.J.: Water relation of *Staphylococcus aureus* at 30°C. Aust. J. Biol. Sci. 1953; 6: 549-564.
55. Ewald, S., Notermans, S.: Effect of a_w and enterotoxin D production of *S. aureus*. Int. J. Food Microbiol. 1988; 6: 25-30.
56. Minor, E.T., Marth, H.E.: Staphylococci and their significance in foods. Elsevier Scientific Publishing Company, Chapter. 1976; 12: 235-250.
57. Tatini, S.R.: Influence of food environments on growth of *Staphylococcus aureus* and production of various enterotoxins. J. Milk Food Technol. 1973; 36: 559-563.
58. Genigeorgis, C.A., Foda, M.S., Mantis, A., Sadler, W.: Effect of sodium chloride and pH on enterotoxin C production. Appl. Microbiol. 1971; 21: 862-866.
59. Bergdoll, M.S.: *Staphylococcus aureus*. M.P. Doyle (editör): Foodborne Bacterial Pathogens. Marcel Dekker Inc., New York and Basel. 1989; 463-523.
60. Scheusner, D.L., Harmon, L.G.: Growth and enterotoxin production by various strains of *Staphylococcus aureus* in selected foods. J. Food Sci. 1973; 38: 474-476.
61. Angelotti, R., Foter, M.Y., Lewis, K.H.: Time-temperature effects on salmonella and staphylococci in foods: III. Thermal death time studies. Appl. Microbiol. 1961; 9: 308-315.
62. Blackburn, C., Williams, A.P., Gibbs, P.A., Bialkowska, A., Nöel, I.: Validation of predictive models for the growth and survival of food poisoning organisms in food. 3rd World Congress/Foodborne infections and intoxications 1992 (WHO-FHO). 1992; P41: 1142.
63. Smith, J.L., Buchanan, R.L., Palumbo, S.A.: Effect of environment on staphylococcal enterotoxin synthesis: A review. J. Food Prot. 1983; 46: 545-555.
64. Keoseyan, S.A., Bennet, R.W.: The effect of growth conditions on the production of enterotoxin A by *Staphylococcus aureus* in custard. Abst. of the Annual Meeting of the American Society for Microbiol. 1972; 72: 22.
65. Müller, C.: *Staphylococcus aureus*. Kişisel bildiri: Bakterielle Lebensmittel-Infektionen und -Intoxikationen, Kurs Lebensmittelhygiene 3, Zürich: 21-25.3.1994.
66. Schmidt-Lorenz, W.: Mikrobiologisch-hygienische Anforderungen an die küchentechnischen Erhitzungs- und Kühlwaren. Swiss Food. 1979; Nr. 1/2:27-45.
67. Schönauer, T.: Hygienische Aspekte bei Herstellung feiner Backwaren. Getreide, Mehl- und Brot. 1993; 47: 38-41.