

Pastörize Sütlerde ELISA Tekniği ile Stafilokokal Enterotoksin Varlığının Belirlenmesi*

Özlem KÜPLÜLÜ, Belgin SARİMEHMETOĞLU, Şerif KAYMAZ

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 04.03.2001

Özet: Bu çalışma, Ankara'da tüketime sunulan pastörize sütlerin stafilokokal enterotoksin varlığı ile toksin tipinin belirlenmesi amacıyla yapıldı.

Bu çerçevede, Ankara'da satışa sunulan 6 farklı firmaya ait 130'u kutu 120'si şişe ambalajlı toplam 250 süt örneği materyal olarak kullanıldı. Mevsimsel değişiklikleri incelemek amacıyla bir yıl süreyle örnek alındı.

Örneklerden stafilokokal enterotoksin varlığı (Transia Plate, ST 0796) ve tip tayini (RIDASCREEN, R 4101) sandwich ELISA yöntemi ile yapıldı.

Analize alınan 250 pastörize süt örneğinden yaz ve sonbahar dönemine ait, şişe ambalajlı 2 süt örneğinde >0,1 ng/ml düzeyinde SEA bulunduğu saptandı.

Sonuç olarak, pastörize sütlerin stafilokokal intoksikasyonların oluşumunda halk sağlığı için risk oluşturabileceği belirlendi. Başta meme sağlığı olmak üzere sağım hijyenine gereken önemin verilmesinin, subklinik mastitisli ve/veya mastitis şüpheli sütlerin normal sütlere karıştırılmasının önlenmesinin, süt işletmelerinde kritik kontrol noktalarının belirlenerek sürekli denetim altında tutulmasının stafilokokal intoksikasyonların önlenmesinde gerekli olduğu görüşüne varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Stafilokokal enterotoksin, ELISA, Pastörize süt

Detection of Staphylococcal Enterotoxin in Pasteurized Milk with ELISA Technique

Abstract: This study was undertaken to determine the presence of staphylococcal enterotoxin and the type of toxin present in pasteurized milk consumed in Ankara.

For this purpose, a total of 250 milk samples, from 6 different firms with 130 samples coming from box containers and 120 of them in bottles, were used. All were purchased in Ankara. The samples were taken over a period of one year to reflect seasonal variability.

Staphylococcal enterotoxin presence (Transia Plate, ST 0796) and determination of type (RIDASCREEN, R 4101) were done with the sandwich ELISA technique.

SEA was determined to be >0.1 ng/ml level in bottled milk from 2 milk samples. These 2 samples belonged to the summer and autumn.

It was determined that pasteurized milk would pose a risk to public health should staphylococcal intoxications arise. It is suggested that, more importance should be given to milking hygiene, udder health as well as the determination and control of critical control points in firms for the prevention of staphylococcal outbreaks.

Key Words: Staphylococcal enterotoxin, ELISA, pasteurized milk

Giriş

Stafilokokal gıda zehirlenmeleri, enterotoksijenik stafilokok türlerinin gıdalarda üremeleri sırasında sentezledikleri, sindirim sistemi üzerine etkili enterotoksinlerin meydana getirdiği gıda kaynaklı intoksikasyonlardır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar (1,2,3) gıda zehirlenme vak'alarında enterotoksijenik

stafilokokların önemli derecede rol oynadığını, süt ve süt ürünlerinin sorumlu gıdalar arasında ilk sıralarda yer aldığını ortaya koymaktadır. Enterotoksin üreten stafilokok türleri içerisinde gıdalar için en önemli tür *S. aureus*'tur (4,5,6).

Stafilokokal enterotoksinler, molekül ağırlıkları 28 000- 35 000 dalton arasında değişen, basit proteinlerin

*Bu çalışma TÜBİTAK (VHAG-1568) tarafından desteklenmiştir.

suda çözünebilir heterojen grubudur. Serolojik olarak ayrılabilir toksin tipleri içerisinde (A,B,C1,C2,C3,D,E), stafilkokal enterotoksin A (SEA) ve SED'ye daha çok gıda zehirlenmelerinde, SEB'ye klinik izolatlarda, SEC ve SED tiplerine ise mastitisli sütlerde rastlanmaktadır (7,8). SEA, *S. aureus*'un logaritmik üreme fazının ilk döneminde üretildiğinden çevre şartları optimal olmasa dahi intoksikasyon yapacak düzeye ulaşabilmektedir. Bu nedenle, SEA, gıda zehirlenmelerinde sıklıkla rastlanılan toksin tipidir. Termotabil karakterdeki stafilkokal enterotoksinlerin pastörizasyon sıcaklıklarında tahrip olmadığı, SEC'nin SEA ve SEB'den sıcaklığa daha fazla dayanıklı olduğu bildirilmektedir. Yapılan bir çalışmada, SEA'nın 80°C'de 3 dakika, 100°C'de ise 1 dakika ısı uygulamasından sonra, serolojik olarak saptanamadığı belirlenmiştir. (7,9,10). Baird-Parker (11) stafilkokal enterotoksinlerin 121°C'de 3-8 dakikada yıkılmadığını, kurutma, soğutma ve dondurma işlemlerine de dirençli olduğunu bildirmektedir.

Stafilkokal gıda zehirlenmeleri, sindirim sistemi üzerine etkili enterotoksinler tarafından meydana getirildiğinden, semptomların ortaya çıkmasında, enterotoksin içeren gıdanın tüketilmesi önem taşımaktadır. Kontamine gıdanın tüketilmesinden yaklaşık 2-6 saat sonra ortaya çıkan zehirlenme semptomları şiddetli sancı, karın ağrısı, bulantı, kusma ve ishale karakteristiktir. Genellikle ateş görülmez. Yetişkin insanda intoksikasyonun meydana gelmesi için 0,1-1 mg enterotoksinin gıda ile alınması yeterlidir. Kısa inkubasyon süresi, gıda intoksikasyonunun en önemli işaretidir. Akut semptomların süresi genellikle 24 saatten daha kısa olup, ölüm oranı çok düşüktür. Bu nedenle, stafilkokal gıda zehirlenme vak'alarına gereken önem verilmemektedir (12,13,14,15).

Stafilkoklar, insanların üst solunum yolları ve derileri üzerinde doğal florayı oluşturan mikroorganizmalardır. *S. aureus*'un insan vücudunda başlıca rezervuarının burun mukozası olduğu, sağlıklı insanların % 30-40'ının burun mukozasından izole edildiği bildirilmektedir (16). Bu nedenle, gıdaların stafilkoklarla kontaminasyonunda en önemli aracı olarak gıda üretiminde çalışan personel gösterilmektedir. Bunun yanısıra, birçok evcil hayvanın da *S. aureus* kaynağı olduğu bildirilmektedir (9). Süt ineklerinde *S. aureus* önemli mastitis etkenlerindedir. Özellikle subklinik mastitisli ineklerden elde edilen sütlerin, sağlıklı ineklerden elde edilen sütlere karışmış olması süt ve süt

ürünleri için en önemli kontaminasyon kaynağıdır (17,18,19). Bununla birlikte, stafilkoklar çiğ sütte yarışmacı floranın etkisi ile yavaş gelişirler. Pastörize edilen sütlerde ise, pastörizasyon sonrası personel kaynaklı bir kontaminasyon meydana gelmesi durumunda yarışmacı floranın yokluğuna bağlı olarak, uygun olmayan muhafaza koşullarında stafilkoklar hızla gelişerek, enterotoksin oluşturma düzeyleri olan 10^6 kob/ml düzeyine ulaşabilirler (10).

Stafilkokal intoksikasyonların teşhisinde, enterotoksinlerin gıdalarda varlığının belirlenmesi önem taşımaktadır. Yapılan metodolojik çalışmalarda, enterotoksinlerin ve tiplerinin saptanmasında ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), RIA (Radio Immuno Assay) ve RPLA (Reversed Passived Latex Agglutination) tekniklerinin uygulandığı bildirilmektedir. ELISA tekniği, yüksek duyarlılığa sahip, güvenilir, kolay uygulanabilen ve çabuk sonuç veren bir teknik olması nedeniyle önerilmektedir (20,21,22). Bu nedenle, bu çalışmada, pastörize sütlerden enterotoksin tayini, duyarlılığı 0,1 ng/ml olan sandwich ELISA tekniği ile yapılmıştır.

Başta bebekler ve küçük çocuklar olmak üzere, tüm yaş gruplarınca yaygın olarak tüketilen pastörize sütlerin enterotoksijenik stafilkoklarla kontaminasyonunda ve enterotoksin oluşmasında, sütün elde edildiği hayvanın sağlık durumu, çiftliklerde sağlıksız ahır ortamının yol açtığı meme hastalıkları, sağımın hijyenik koşullarda yapılmaması, çiğ sütün soğutulması işlemine gereken önemin verilmemesi gibi hazırlayıcı faktörlerin yanı sıra, sütün ürüne işlenmesi aşamasında çalışan personelin düzenli sağlık kontrollerinin yapılmaması ve hijyen konusunda eğitilmemesi, alet ekipmanın yeterince temizlenip dezenfekte edilmemesi, şişeleme veya paketlenme sırasında hijyen kurallarına yeterince uyulmaması ve üretim sonrası pastörize sütlerin satış noktalarında uygun olmayan koşullarda bekletilmesi gibi etkili pek çok faktör bulunmaktadır. Türkiye'de pastörize süt ve süt ürünlerinin üretiminde hammadde olarak kullanılan çiğ sütün yukarıda belirtilen koşullar altında elde edildiği göz önüne alındığında enterotoksijenik stafilkoklarla kontaminasyonunun kaçınılmaz olduğu düşünülmektedir. Yapılan literatür taramalarında, Türkiye'de, pastörize sütlerde stafilkokal enterotoksinlerin saptanmasına yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma, Ankara'da tüketime sunulan pastörize sütlerde, stafilkokal enterotoksin varlığı ve

toksin tiplerini saptayarak, pastörize sütlerin halk sağlığı açısından risk oluşturup oluşturmadığının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Bu çalışmada, Ankara'nın farklı semtlerinden, farklı tarihlerde, değişik 6 firmaya ait 130'u kutu, 120'si şişe ambalajlı toplam 250 pastörize süt örneği materyal olarak kullanıldı. Örnekler mevsimsel değişiklikler göz önüne alınarak ilkbahar dönemini kapsayan Mart, Nisan, Mayıs aylarında 60, yaz dönemini kapsayan Haziran, Temmuz, Ağustos aylarında 65, sonbahar dönemini kapsayan Eylül, Ekim, Kasım aylarında 65, kış dönemini kapsayan Aralık, Ocak, Şubat aylarında 60 adet temin edildi ve soğuk zincir altında laboratuvara getirilerek aynı gün analizleri yapıldı.

Metot

Örneklerden enterotoksin tayini

Örneklerden stafilocokal enterotoksin tayini sandwich ELISA (Transia Plate, ST 0796) prosedürüne göre yapıldı (23).

Örneklerin analize hazırlanması: Pastörize süt örneklerinden 20 ml alınarak 40 ml distile su ile karıştırıldıktan sonra pH'sı 6 N HCl ile 4-4,5'a ayarlandı ve 1500 g'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatanın pH'sı 6 N NaOH ile 7-7,5'a ayarlandı ve 1500 g de 15 dakika santrifüj edilerek analize hazırlandı.

Enterotoksin tayini: ELISA pleytinin 2 kuyucuğuna 100'er µl 2 negatif kontrol, 1 kuyucuğuna 100 µl pozitif kontrol ve daha önce analize hazırlanan örneklerden, her bir örnek için 1 kuyucuğa 100'er µl örnek konuldu ve 18-25°C'de 600 salınım/dakika olacak şekilde 30 dakika inkube edildi. İnkubasyon sonunda yıkama solusyonu ile 5 kere yıkama işlemi yapıldı. Daha sonra her bir kuyucuğa 100 µl konjugat ilave edilerek pleyt kapatıldı ve 18-25°C'de (600 salınım/ dakika) çalkalanarak 30 dakika inkube edildi. İnkubasyon sonunda 5 kere yıkama solusyonu ile yıkandı ve her bir kuyucuğa 50 µl substrat ve 50 µl kromojen konarak 30 dk. (600 salınım/dakika) 18-25°C'de inkube edildi. Daha sonra her bir kuyucuğa 50 µl stop solusyonu konarak, pleytler 450 nm'de okundu.

Sonuçların Değerlendirilmesi: Analizin yapılışı sırasında hata olup olmadığının kontrolü için pozitif ve

negatif kontrollerin optik dansiteleri (OD) dikkate alındı. Pozitif kontrollerin optik dansitesi (OD) $\geq 0,50$, negatif kontrollerin OD'si $\leq 0,30$ olarak okunduğunda örneğin cutt of (sınır değer) değeri hesaplandı. Bunun için negatif kontroller toplandı ve ortalamaları alındı. Bulunan sonuca 0,20 eklenerek cutt of değeri bulundu. Örneğin OD'si cutt of değerine eşit veya yüksek olduğunda örnek enterotoksin pozitif, düşük olduğunda ise enterotoksin negatif olarak değerlendirildi. Enterotoksin pozitif olarak değerlendirilen örneklerin OD'si, pozitif kontrolün OD'sinden yüksek olduğunda, örnekteki enterotoksin miktarı $>0,1$ ng/ml olarak belirlendi

Örneklerden enterotoksin tip tayini

Pastörize süt örneklerinden stafilocokal enterotoksin tip tayininde sandwich ELISA prosedürü (RIDASCREEN, Set A, B, C, D, E) kullanıldı (24).

Örneklerin analize hazırlanması: Süt örnekleri 10°C'de 3500 g'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra yüzeydeki yağ tabakası alındı. Yağı alınmış süt 1:20 oranında distile su ile sulandırıldı ve oda sıcaklığında 0,2 µm por büyüklüğü olan filtre ile süzülerek analize hazırlandı.

Enterotoksin tip tayini: Spesifik antikorla kaplanmış striplerin bulunduğu kuyucukların içerisine enterotoksin pozitif çıkan örnekten A'dan E'ye kadar 100'er µl ilave edildi. Bu işlem her bir örnek için 1 strip kullanılarak yapıldı. Örneklerin inokule edildiği mikropleytlerin boş olan F ve G kuyucuğuna 100'er µl negatif kontrol, H'ye ise pozitif kontrol ilave edilerek oda sıcaklığında 1 saat inkube edildi. İnkubasyon sonunda kuyucuklardaki sıvı döküldü ve 250 µl yıkama solusyonu ile yıkandı. Bu işlem 3 kez tekrarlandı. Daha sonra kuyucuklara 100'er µl konjugat ilave edilerek oda sıcaklığında 1 saat inkube edildi. Bu işlem de 3 kez tekrar edildi. Yıkama işleminden sonra, her bir kuyucuğa 50 µl substrat ve 50 µl kromojen ilave edildi, karıştırıldı ve karanlıkta oda sıcaklığında 20 dakika inkube edildi. İnkubasyon sonunda her bir kuyucuğa, 100'er µl stop solusyonu eklenerek pleytler 450 nm'de okundu.

Sonuçların değerlendirilmesi: Analizin yapılışı sırasında hata olup olmadığının kontrolü için pozitif ve negatif kontrollerin optik dansiteleri (OD) dikkate alındı. Pozitif kontrollerin optik dansitesi (OD) $\geq 0,50$, negatif kontrollerin OD'si $\leq 0,30$ olarak okunduğunda örneğin cutt of değeri hesaplandı. Bunun için negatif kontrollerin ortalaması alınarak 0,15 değeri ilave edildi ve cutt-of

değeri bulundu. Örneğin OD'si cutt-of değerine eşit veya yüksekse pozitif, cutt-of değerinden düşükse negatif olarak değerlendirildi.

Bulgular

Ankara'nın farklı semtlerinden temin edilen 250 pastörize süt örneği stafilkokal enterotoksin varlığı yönünden analize alındı. Yaz dönemine ait 1 süt örneği ile, sonbahar dönemine ait 1 süt örneği olmak üzere, ambalajı cam şişe olan toplam 2 örnekte stafilkokal enterotoksin saptandı. Yaz dönemine ait pastörize süt örneğinin OD'si 0,89, sonbahar dönemine ait örneğin OD'si ise 0,76 bulundu. Her iki süt örneğinin de OD'si, pozitif kontrolün OD'sinden (sırasıyla 0,54 ve 0,56) yüksek olduğundan, enterotoksin miktarının, kullanılan test kitinin saptama sınırı olan 0,1 ng/ml'den fazla olduğu saptandı. Enterotoksin pozitif bulunan süt örneklerine yapılan tip tayininde, örneklerin her ikisinde de stafilkokal enterotoksin tip A bulunduğu belirlendi (Tablo 1).

Tartışma

Bu çalışmada, Ankara'da 6 farklı firmaya ait 250 pastörize süt örneğinin 2'sinde stafilkokal enterotoksin saptanmıştır. Yapılan tip tayininde süt örneklerinde SEA bulunduğu belirlenmiştir.

Yapılan literatür taramalarında, çalışmamıza benzer şekilde, pastörize sütlerde stafilkokal enterotoksin belirlenmesine yönelik bir çalışmaya rastlanamamıştır. Bununla birlikte, A.B.D.'de 850 çocuğun etkilendiği stafilkokal intoksikasyon vak'asında sorumlu gıda olan çikolatalı sütlerde stafilkokal enterotoksin saptandığı bildirilmektedir (12).

Çalışmamızda, süt örneklerinde bulunan enterotoksin tipinin SEA olduğu saptanmıştır. Kayihura ve ark. (25) yaptıkları çalışmada 99 pastörize sütün 3'ünde SEA oluşturan *S. aureus* izole etmişlerdir. A.B.D.'de 850

çocuğun etkilendiği stafilkokal intoksikasyon vak'asında ise sorumlu gıda olan çikolatalı sütlerden SEA saptandığı bildirilmektedir (12). SEA'nın gıda zehirlenme vak'alarından en fazla sorumlu olan enterotoksin tipi olduğu bildirilmektedir. Bu durum, çalışmamızın bulgularını destekler niteliktedir. Pastörize sütlerin *S. aureus* ile kontaminasyonunda yetersiz pastörizasyon ile pastörizasyon sonrası kontaminasyon da önemli yer tutmaktadır (26). Yapılan bir çalışmada da (27) pastörize sütlerin % 6'sından ortalama $1,8 \times 10^4$ kob/ml düzeyinde *S. aureus* izole edildiği bildirilmektedir.

Çalışmada, stafilkokal enterotoksin pozitif bulunan pastörize süt örneklerinin ambalajının şişe olduğu belirlenmiştir. Her ne kadar, enterotoksin pozitif sütlerin oranı relatif düşük bulursa da, süt şişelerinin yıkama ve dezenfeksiyonunun yeterince yapılmamasının ve dezenfeksiyon sonrası personelin elleri ile şişelere temasının pastörizasyon sonrası kontaminasyonlara neden olabileceği de gözardı edilmemelidir (16,28). Ayrıca, çalışmada, yaz ve sonbahar dönemine ait olan süt örnekleri enterotoksin pozitif bulunmuştur. Bu durumun, mastitisli süt karıştırılan çiğ sütlerin sıcak mevsimlerde ortam sıcaklığında uzun süre bekletilmesinden, pastörizasyon sonrası sütlerin sıcaklıklarının süratle 10 °C'nin altına düşürülmemesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Termostabil karakterdeki enterotoksinler, süt pastörize edilse dahi yıkılmadığından, pastörize sütlerde de bulunarak tehlike oluşturmaktadır (1,9,10,16).

Çalışmada, SEA saptanan pastörize sütlerdeki enterotoksin miktarının, kullanılan test kitinin saptama sınırı olan 0,1 ng/ml'den fazla olduğu belirlenmiştir. Stafilkokal gıda zehirlenmelerinin meydana gelebilmesi için gıdada 0,1-1 mg enterotoksinin bulunmasının yeterli olduğu, kişisel duyarlılığa göre bu miktarın değiştiği bildirilmektedir (9,10). Evenson ve ark. (12) tarafından, A.B.D.'de 850 çocuğun etkilendiği stafilkokal intoksikasyon vak'asında sorumlu gıda olan çikolatalı sütlerin her bir kutusunda (250 ml) 94-184 ng, ortalama 144 ng düzeyinde SEA bulunduğu belirlenmiştir. Türk

Örneğin alındığı dönem (ay)	Ambalajı	Optik Dansite	Enterotoksin miktarı	Enterotoksin tipi
Yaz (Temmuz)	Şişe	0,89	>0,1 ng/ml	A
Sonbahar (Eylül)	Şişe	0,76	>0,1 ng/ml	A

Tablo 1. Enterotoksin pozitif bulunan süt örnekleri.

Gıda Kodeksi'ne (29) göre gıdalarda stafilocokal enterotoksinlerin ELISA testi ile hiç bulunmaması gerekir. Çalışmada, enterotoksin pozitif bulunan sütlerin ml.'sinde 0,1 ng'dan daha fazla SEA bulunduğu ve pastörize sütün kişi tarafından bir defada 1 ml'den çok daha fazla tüketileceği gözönüne alındığında, enterotoksin pozitif bulunan pastörize sütlerin, stafilocokal intoksikasyonların oluşumunda risk oluşturabileceği görülmektedir (10,11,30,31).

Klinik ve subklinik mastitis etkeni olan *S. aureus*'un, çiğ süttten sıklıkla izole edildiği çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur. Stafilocokal enterotoksinlerin termostabil olduğu ve pastörizasyon sıcaklıklarında yıkımlanmadıkları gözönüne alındığında *S. aureus* ile kontamine çiğ süttten elde edilen pastörize sütlerin potansiyel sağlık riski taşıyabileceği açıktır (15,32). Çiğ süttte koagulaz pozitif stafilocok ile stafilocokal enterotoksin varlığının belirlendiği çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Kasımoğlu (33) tarafından yapılan çalışmada, çiğ süt örneklerinde % 31,9 oranında koagulaz (+) stafilocok izole edilmiştir. Sheikh ve Luedecke (34) Pakistan'da tüketime sunulan 86 süt örneğinin 3'ünden *S. aureus* izole edildiğini bildirmektedirler. Süt ve süt ürünlerinde yapılan bir başka çalışmada, örneklerden izole edilen 75 stafilocok kültürünün 27'sinin (% 36) enterotoksijenik olduğu saptanmıştır (35). Santos ve ark. (27) çiğ süttlerde % 46,9 oranında *S. aureus* izole etmişler ve bu durumu mastitisli süt kullanımı ile süt sağım hijyenine uyulmamasına bağlamışlardır. Umoh ve ark. (19) 42 çiğ inek süttünün 13'ünden (% 31) enterotoksijenik stafilocok izole etmişler ve izolatların 5'inin SEA, 3'ünün ise SED ürettiğini saptamışlardır. Singapur'da, 111 farklı gıda örneğinde koagulaz (+) stafilocokların varlığının incelendiği bir çalışmada, 1 içme süttü örneğinde 10^2 kob/ml düzeyinde enterotoksijenik *S. aureus* izole edildiği bildirilmektedir (36). Bone ve ark. (37) 26 koyun süttü örneğinin 15'inden izole edilen *S. aureus* izolatlarının 2'sinin SEA, 1'inin ise SEC ürettiğini saptamışlardır.

Yaygın olarak tüketilen süt ürünlerinden olan peynir çeşitlerinin de stafilocokal intoksikasyonlara neden olabileceği bildirilmektedir (38,39,40). Özalp ve ark. (38) enterotoksijenik stafilocoklar ve salmonellalar yönünden analize aldıkları 26 Erzincan tulum peyniri örneğinde *S. aureus* izole edilemediğini, bununla birlikte örneklerden birinde enterotoksin saptandığını bildirmektedirler.

Kanada'da yapılan bir çalışmada (39) emmental peynirinde SEB bulunduğu belirlenmiştir. Yavuz (40), Diyarbakır yöresinde üretilen beyaz peynir örneklerinden izole edilen *S. aureus* suşlarının % 23'ünün enterotoksijenik olduğunu saptamıştır.

Enterotoksijenik *S. aureus* suşlarının peynirde üreme ve toksin oluşturma yeteneği ile ilgili deneysel çalışmalar da yapılmıştır. Mutluer ve ark. (41) enterotoksijenik *S. aureus* suşlarının Türk salamura beyaz peynirinin yapım ve olgunlaşma süresindeki üreme ve toksin oluşturma yeteneklerini inceledikleri çalışmalarında, deneysel olarak A, B, C ve D tipi toksin oluşturan *S. aureus* suşları ile 10^5 kob/ml düzeyinde kontamine ettikleri çiğ ve pastörize süttten beyaz peynir yaparak, 4°C'de 60 gün olgunlaştırmışlardır. Bütün peynir örneklerinde *S. aureus* sayısının 30. günün sonunda azaldığını, çiğ süttten yapılan peynirlerde 1. günde sadece SEA varlığının gözleendiğini ve özellikle SEA üreten *S. aureus* ile kontamine çiğ süttten üretilen peynirlerin stafilocokal gıda zehirlenmelerine neden olabileceğini bildirmişlerdir. Vernozy-Rozand ve ark. (42) 10^4 , 10^5 , 10^6 kob/ml düzeyinde SEA üreten *S. aureus* inokule edilen keçi süttlerinden yaptıkları peynirlerde olgunlaşmanın sonunda 0,5-2,5 ng/g SEA bulunabildiğini saptamışlardır.

Süt tozlarında da enterotoksijenik stafilocokların ve enterotoksinlerinin varlığının araştırıldığı çalışmalar yapılmıştır. Özalp ve ark. (43) Türkiye'de üretilen 36 süt tozu örneğinden 1'inde enterotoksijenik *S. aureus* izole edildiğini, 2 örnekte de enterotoksin belirlendiğini bildirmektedirler.

Sonuç olarak, Ankara'da tüketime sunulan 250 pastörize süt örneğinin 2'sinde SEA saptanmış ve bu süttlerin Türk Gıda Kodeksi'ne uygun olmadığı görülmüştür. Bu insidens relatif düşük olsa bile, bebekler ve küçük çocuklar başta olmak üzere tüm yaş gruplarıncaya yaygın olarak tüketilen pastörize süttler, halk sağlığı açısından potansiyel risk oluşturabilecektir. Meme sağlığı başta olmak üzere sağım koşullarının hijyenik olmasının, sağım sonrası ve pastörizasyon sonrası süttün 10°C'nin altında muhafaza edilmesinin, süt işletmesinde kritik kontrol noktalarının (HACCP) belirlenerek sürekli denetim altında tutulmasının, personel hijyenine ve eğitimine gereken önemin verilmesinin pastörize süttlerde stafilocokal enterotoksin oluşma riskini en aza indireceği görüşüne varılmıştır.

Kaynaklar

1. Bryan, F.L.: Risks associated with vehicles of foodborne pathogens and toxins. *J. Food Prot.* 1988; 51: 498-508.
2. Todd, C.D.: Foodborne and waterborne disease in Canada – 1980 annual summary. *J. Food Prot.* 1987; 50, (5): 420-428.
3. Wieneke, A.A., Roberts, D., Gilbert, R.J.: Staphylococcal food poisoning in the United Kingdom, 1969-1990. *Epidemiol. Infect.* 1993; 110: 519-531.
4. Bryan, F.L.: Epidemiology of milk-borne diseases. *J. Food Prot.* 1983; 46, (7): 637-649.
5. Davey, G.R.: Food poisoning in New South Wales: 1977-1984. *Food Technol. Austr.* 1985; 37, (10): 453-456.
6. Roberts, D.: Sources of infection: Food. *Lancet* 1990; 36: 859-861.
7. Halpin-Dahnalek, M.I., Marth, E.H.: *Staphylococcus aureus*: Production of extracellular compounds and behaviour in foods. A review. *J. Food Prot.*, 1989; 52, (4): 267-282.
8. Holmberg, S., Blake, P.A.: Staphylococcal food poisoning in the United States. *J. Am. Med. Assoc.* 1984; 251, (4): 487-489.
9. Jay, J.M.: Staphylococcal gastroenteritis. In: *Modern Food microbiology*. Fourth ed. Avi Book, New York, Pp: 455-471, 1992.
10. Bergdoll, M.S.: *Staphylococcus aureus*. In: M. P. Doyle (Ed.) *Foodborne Bacterial Pathogens*, Marcel Dekker Inc. NY and Basel, Pp: 463-513, 1989.
11. Baird-Parker, A.C.: The Staphylococci: an Introduction, *J. Appl. Bacteriol. Symp. Suppl.* 1990; 1 S-8 S.
12. Evenson, M.L., Hinds, M.W., 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. In: Jay, J.M., *Staphylococcal gastroenteritis*. In: *Modern Food microbiology*. Fourth ed. Avi Book, New York, Pp: 470-471, 1992.
13. Frazier, W.C., Westhoff, D.C.: Foodborne illness: Bacterial. 412-419. In: Dollinger E. (Ed): *Food Microbiology*. Mc Graw-Hill Book Co., Singapore, 1988.
14. Ryser, E.T.: Public Health Concerns. In: Marth, E.H., Steele, J.L. (Eds). *Applied Dairy Microbiology*. Marcel Decker Inc., New York, Pp: 343-352, 1998.
15. Tranter, H.S.: Foodborne staphylococcal illness. *Lancet* 1990; 33: 1044-1047.
16. Hayes, P.R.: *Food Microbiology and Hygiene*. Chapman & Hall, Pp. 44-48, 344-387, 434-443, 1995.
17. Ameh, J.A., Edgbe-Nwiyi, T., Zaria, L.T.: Prevalence of bovine mastitis in Maiduguri, Borno State, Nigeria. *Veterinarski Arhiv.* 1999; 69, (2): 87-95.
18. Gross, F.M., Weizman, Z., Picard, E., Mates, A., Sheinman, R., Platzner, N., Wolff, A.: Milkborne gastroenteritis due to *Staphylococcus aureus* enterotoxin B from a goat with mastitis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1988; 39, (1): 103-104.
19. Umoh, V.J., Adesiyun, A.A., Comwalk, N.E.: Enterotoxigenicity of staphylococci isolated from raw milk obtained from settled and nomadic herds around Zaria, Nigeria. *Revue Med. Vet.* 1990; 43, (1): 43-47.
20. Park, C.E., Akhtar, M., Rayman, M.K.: Evaluation of a commercial enzyme immunoassay kit (RIDASCREEN) for detection of staphylococcal enterotoxins A, B, C, D and E in foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 1994; 60, (2): 677-681.
21. Su, Y., Wong, A. C. L.: Current perspectives on detection of Staphylococcal enterotoxins. *J. Food Prot.* 1997; 60, (2): 195-202.
22. Wieneke, A.A.: Comparison of four kits for the detection of staphylococcal enterotoxin in foods from outbreaks of food poisoning. *Int. J. Food Microbiol.* 1991; 14: 305-312.
23. Anon.: Staphylococcal Enterotoxins. Transia Plate. Reference: ST 0796, 1998.
24. Anon.: RIDASCREEN SET A, B, C, D, E. Enzyme Immunoassay for the detection of staphylococcus enterotoxins A, B, C, D, and E. r-biopharm. Art. No: R 4101, 2000.
25. Kayihura, M., Kaburia, H.F.A., Arimi, S.M., Lindquist, K.J.: Staphylococcal enterotoxin "A" in raw and pasteurized milk. *East. Afr. Med. J.* 1987; 64, (3): 177-182 Erişim: <http://emed2.global.epnet.com>. Erişim Tarihi: 12. 12. 2000.
26. Sharp, J.C.M., Paterson, G.M., Barrett, N.J.: Pasteurization and the control of milkborne infection in Britain. *Br. Med. J.* 1985; 291: 463-464.
27. Santos, E.C., Genigeorgis, C., Frauer, T.B.: Prevalence of *S. aureus* in raw and pasteurized milk used for commercial manufacturing of Brazilian Minas cheese. *J. Food Prot.* 1981; 44: 172-176.
28. Byrne, R.D., Bishop, J.R.: Control of Microorganisms in Dairy Processing: Dairy Product Safety Systems. In: *Dairy Microbiology*. Ed. Marth, E.H., Steele, J.L. Marcel Dekker, New York. Pp: 406-430, 1998.
29. Sağlık, Ö.F.: Türk Gıda Kodeksi, AB Ofset, Ankara, p: 399, 1999.
30. Adams, M.R., Moss, M.O.: Bacterial Agents of Foodborne Illness. In: *Food Microbiology*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1995, Pp: 204-209.
31. Arbuthnott, J.P., Coleman, D.J., De Azavedo, J.S.: Staphylococcal Toxins in Human Disease. *J. Appl. Bacteriol. Symp.*, 1990; 101 S-107 S.
32. Umoh, V.J., Adesiyun, A.A., Comwalk, N.E.: Enterotoxin production by staphylococcal isolates from Nigerian fermented milk products. *J. Food Prot.* 1988; 51, (7): 534-537.
33. Kasımoğlu, N.: Elazığ bölgesinde üretilen sütlerde ve peynirlerde Staphylococ araştırması (Uzmanlık tezi), A. Ü. Veteriner Fakültesi, 1978.
34. Sheikh, M.I., Luedecke, L.O.: *Staphylococcus aureus* in commercially processed fluid dairy and non-dairy products. *J. Milk Food Technol.* 1974; 37, (6): 329-332.

35. Ahmed, A.A., Terplan, G., Simon, E.: Enterotoxigenicity of staphylococcal strains isolated from milk and dairy products. Arch. Lebensmittelhyg. 1978; 29: 212-214.
36. Ng, D.L. K., Tay, L.: Enterotoxigenic strains of coagulase-positive *S. aureus* in drinks and ready-to-eat foods. Food Microbiol. 1993; 10: 317-320.
37. Bone, F.S., Bogie, D., Morgan-Jones, S.C.: Staphylococcal food poisoning from sheep milk cheese. Epidemiol. Infect. 1989; 103: 449-458.
38. Özalp, E., Kaymaz, Ş., Akşehirli, E.: Erzincan tulum peynirlerinde enterotoksijenik stafilocoklar ve salmonellalar yönünden araştırma. A. Ü. Vet. Fak. Derg. 1978; 25, (1): 55-61.
39. Todd, E., Szabo, R., Roborn, N., Gleeson, T., Park, C., Clark, D. S.: Variation in counts, enterotoxin levels and TNase in Swiss-type cheese contaminated with *S. aureus*. J. Food Prot. 1981; 44: 939.
40. Yavuz, S.: Diyarbakır yöresinde imal edilen salamura beyaz peynir ve eritme peynirlerinde enterotoksijenik stafilocoklarla enterotoksin varlığı üzerinde araştırmalar. (Uzmanlık tezi), A. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1979.
41. Mutluer, B., Erol, I., Kaymaz, Ş. ve Akgün S.: Enterotoksijenik *S. aureus* suşlarının beyaz peynirde üretim ve olgunlaşma sırasındaki üreme ve enterotoksin oluşturma yetenekleri. A. Ü. Vet. Fak. Derg., 1993; 40, (3): 413-426.
42. Vernozy-Rozand, C., Meyrand, A., Mazuy, C., Delignette-Mulle, M.L., Jaubert, G., Perrin, G., Lapeyre, C., Richard, Y.: Behaviour and enterotoxin production by *S. aureus* during the manufacture and ripening of raw goats milk lactic cheeses. J. Dairy Res. 1998; 65, (2): 273-281.
43. Özalp, E., Kaymaz, Ş., İnan, T.: Süt tozlarında enterotoksijenik stafilocoklar ve enterotoksin varlığı üzerinde araştırmalar. A. Ü. Vet. Fak. Derg. 1978; 25, (1): 48-54.