

## Farklı Sıcaklıklarda Muhafazanın Çiğ Köftede *Staphylococcus aureus*'un Gelişimi ve Enterotoksin Üretimi Üzerine Etkisi

Emrullah SAĞUN, Mustafa ALIŞARLI

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Van - TÜRKİYE

Hisamettin DURMAZ

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

Geliş Tarihi: 10.01.2002

**Özet:** Bu çalışmada, A (SEA 10652 FDA 196E), B (SEB 10654 FDA 243), C (SEC 10655 137) ve D tipi (SED 10656 494) enterotoksin oluşturan *Staphylococcus aureus* suşlarının çiğ köftede gelişimi ve toksin oluşturma yeteneği incelenmiştir. Bu amaçla deneysel olarak hazırlanan çiğ köfte örnekleri *S. aureus* suşları ile ayrı ayrı (I. Grup A, II. Grup B, III. Grup C ve IV. Grup D suşu) ve mikts (V. Grup A, B, C ve D suşları birlikte) olarak  $10^5$  kob/g düzeyinde kontamine edilerek 10 °C, oda sıcaklığı (21-23 °C) ve 30 °C'de muhafaza edilmiştir. Muhafaza süresinin 0., 2., 6., 12. ve 24. saatlerinde örnekler alınarak *S. aureus* sayımı ve enterotoksin tayini yapılmıştır.

10 °C'de muhafaza edilen örneklerde *S. aureus* sayılarında bir artış görülmemiş ve toksin saptanmamıştır. Oda sıcaklığında muhafaza edilen örneklerde enterotoksin sadece I. Grup'da (enterotoksin A) 24. saatte tesbit edilmiştir. 30 °C'de muhafaza edilen tüm gruplarda, *S. aureus* suşlarının sayılarında 12. saate kadar bir artış, 12. ve 24. saatler arasında ise bir azalma gözlenmiştir. Bu sıcaklıkta 12. saatte I. Grup (enterotoksin A) ve V. Grup'da (enterotoksin A ve D) da enterotoksin tesbit edilirken, 24. saatte bunlara ilaveten II. Grup (enterotoksin B) ve IV. Grup'da (enterotoksin D) enterotoksin saptanmıştır.

Sonuç olarak, çiğ köftele başlangıçta  $10^5$  kob/g düzeyinde *S. aureus* bulaşması halinde, oda sıcaklığında (21-23 °C) 24 saat ve 30 °C'de 12 saat muhafaza edildiğinde *S. aureus*'un toksin üretebileceği ve halk sağlığı açısından bir risk meydana getirebileceği belirlenmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Çiğ köfte, *Staphylococcus aureus*, enterotoksin.

### The Effect of Different Storage Temperatures on the Growth and Enterotoxin Producing Characteristics of *Staphylococcus aureus* in Çiğ Köfte

**Abstract:** The growing and toxin-producing ability of strains of *Staphylococcus aureus* producing enterotoxin A (SEA 10652 FDA 196E), B (SEB 10654 FDA 243), C (SEC 10655 137) and D (SED 10656 494) were investigated in çiğ köfte (a raw ball prepared by the hand-kneading of lean ground-beef, fine bulgur and a variety of spices). For this purpose, çiğ köfte samples prepared under experimental conditions (Group I containing enterotoxin A, Group II containing enterotoxin B, Group III containing enterotoxin C, Group IV containing enterotoxin D, and Group V (mix) containing enterotoxins A, B, C, and D) were separately contaminated by strains of *S. aureus* at the level of  $10^5$  cfu/g, and the samples were stored at 10 °C, at room temperature (21-23 °C) and at 30 °C. The counting of *S. aureus* colonies and enterotoxin determination in the samples was performed at the initiation of storage, and after 2, 4, 6, 12 and 24 h.

There was no increase in the *S. aureus* count and toxin was not detected in the samples stored at 10 °C. Enterotoxin was only determined in Group I 24 h after storage among samples stored at room temperature. In all the groups stored at 30 °C, the *S. aureus* count increased until 12 h, but decreased between 12 and 24 h. At the same temperature, while enterotoxin was detected only in Groups I (enterotoxin A) and V (enterotoxin A and D) at 12 h; in addition to these groups, enterotoxin was detected in Groups II (enterotoxin B) and IV (enterotoxin D) 24 h after storage.

In conclusion, çiğ köfte contaminated with *S. aureus* at the level of  $10^5$  cfu/g produced enterotoxin and caused a health risk while stored at room temperature (21-23 °C) for 24 h and 30 °C for 12 h.

**Key Words:** Çiğ köfte, *Staphylococcus aureus*, enterotoxin.

## Giriş

Çiğ köfte, başta Doğu ve Güney Doğu Anadolu Bölgesi olmak üzere ülkemizde sevilerek tüketilen geleneksel yiyeceklerimizden birisidir (1). Çiğ köftenin yapımı, bileşimi ve bileşiminde bulunan maddelerin miktarı ile ilgili herhangi bir standart yoktur. Çiğ köfteye katılan katkı maddelerinin miktarı isteğe göre farklılıklar göstermekle birlikte, ince kıyılmış kıymaya bulgur, soğan, sarmısak, salça, maydanoz ve başta biber (isot) olmak üzere çeşitli baharatlar (kırmızı biber, karabiber, tarçın, karanfil, yenibahar, kimyon, nane), buz veya su katılarak elle iyice yoğurulmak suretiyle hazırlanır. Hazırlanan çiğ köfteler tercihen birkaç saat içinde tüketilmelidir (1,2). Ancak lokanta ve benzeri yerlerde (hatta sokakta) ticari olarak üretilen çiğ köftelerin buralarda hijyenik olmayan şartlarda hazırlandığı ve uzun süre bekletildiği de bilinen bir gerçektir.

Çiğ köftenin kalitesi, kullanılan kıymanın ve öteki katkı maddelerinin kalitesi ile birlikte personel hijyeni ve yapım yöntemi ile de yakından ilgilidir (1,3). Üretim esnasındaki personel hijyeninin yetersiz olması ve/veya bileşiminde bulunan maddelerin arzu edilmeyen mikroorganizmalarla kontaminasyonu gıda zehirlenmesi riskini gündeme getirmektedir. Bunlardan *Staphylococcus aureus*, doğal çevrede yaygın olarak bulunan ve oldukça sık rastlanılan gıda zehirlenme etkenlerinden birisidir. Stafilokoklara bağlı gıda zehirlenmelerinin meydana gelişinde gıdaların hazırlanmasında çalışan personel önemli bir kontaminasyon kaynağıdır (3). Çiğ köftenin herhangi bir ısı işlemine tabi tutulmadan çiğ olarak tüketilmesi sağlık riskini daha da artırmaktadır (1).

Çiğ köftenin hijyenik kalitesinde, kullanılan kıyma ve baharatların hijyenik kalitesi çok önemlidir. Yapılan araştırmalarda, ülkemizde tüketime sunulan kıyma ve baharatların çeşitli bakterilerle önemli derecede kontamine olduğu ortaya konmuştur (4-8).

Ülkemizde çiğ köftelerin mikrobiyolojik kalitelerini belirlemek için yapılan sınırlı sayıdaki araştırmada, çiğ köftelerin *S. aureus*, koliform bakteriler, *Escherichia coli* ve fekal streptokokları içerdiği belirlenmiştir (1,9,10).

Erol ve ark. (3) A tipi enterotoksin oluşturan *S. aureus* suşunun (SEA 100) çiğ köftede gelişme ve toksin oluşturma yeteneğini incelemişlerdir. Bu amaçla deneysel olarak hazırladıkları çiğ köfte örneklerini sırasıyla  $10^3$ ,  $10^4$  ve  $10^5$  kob/g düzeyinde *S. aureus* suşu ile kontamine ederek oda sıcaklığında 24 saat muhafaza etmişlerdir.

Muhafaza süresi içerisinde belirli saatlerde inceledikleri örneklerin *S. aureus* sayılarında sınırlı bir azalma gözlerken hiç birisinde toksin saptamamışlardır.

Bu çalışmanın amacı, A, B, C ve D tipi enterotoksin oluşturan *S. aureus* suşları ile  $10^5$  kob/g düzeyinde kontamine edilen çiğ köftelerde farklı sıcaklıklarda 24 saatlik muhafaza süresi içerisinde *S. aureus* suşlarının gelişmesini, toksin oluşturma yeteneğini ve çiğ köftelerin stafilokoklara bağlı gıda zehirlenmeleri yönünden halk sağlığı için bir risk oluşturup oluşturmadığını belirlemektir.

## Materyal ve Metot

**Test suşları:** Çalışmada, enterotoksin oluşturan 4 farklı *S. aureus* suşu çiğ köfte örneklerine deneysel olarak inoküle edilmiştir. 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, London)'den temin edilmiştir. *S. aureus* suşları çiğ köfteye inoküle edilmeden önce enterotoksin oluşturup oluşturmadıklarını belirlemek için Reversed Passive Latex Agglutination ticari test kiti (OXOID, SET RPLA, TD900) ile test edilmiştir.

**Çiğ köfte:** Çalışmada kullanılan çiğ köfte usulüne uygun olarak hazırlanmış ve daha sonra her biri yaklaşık 600'er g olacak şekilde 6 gruba ayrılmıştır. Hazırlanan çiğ köftenin başlangıç bakteri yükü,  $a_w$  ve pH değerini belirlemek için inokülasyon öncesi örnek ayrılmıştır. İlk 5 grup gramında aşağıda belirtilen miktarda bakteri ihtiva edecek şekilde *S. aureus* suşları ile kontamine edilirken VI. Grup kontamine edilmemiş ve negatif kontrol grubu olarak bırakılmıştır.

**İnokülasyon ve inokulumun hazırlanması:** İnokülasyon ve inokulum miktarının belirlenmesinde Alisharlı'nın (11) modifiye ettiği metot kullanılmıştır. Çiğ köfte enterotoksijenik A, B, C ve D suşları ile ayrı ayrı (I. Grup enterotoksijenik A, II. Grup enterotoksijenik B, III. Grup enterotoksijenik C ve IV. Grup enterotoksijenik D suşu) ve miks (V. Grup enterotoksijenik A, B, C ve D suşları birlikte) olarak gramında  $10^5$  bakteri ihtiva edecek şekilde kontamine edilmiştir.

**Muhafaza koşulları:** Deneysel olarak kontamine edilen çiğ köfte örnekleri  $10^\circ\text{C}$ 'de, oda sıcaklığında ( $21-23^\circ\text{C}$ ) ve  $30^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edilmiş ve 0, 2, 6, 12 ve 24

saat sonra mikrobiyolojik, fiziko-kimyasal ve serolojik yönden analizleri yapılmıştır.

**Mikrobiyolojik analizler:** Mikrobiyolojik analizler kapsamında *S. aureus* sayısı yanında, toplam aerob mezofil bakteri, enterobakteri, enterokok, laktobasil, maya/küf ve pseudomonas sayısı da belirlenmiştir (12,13).

**Örneklerin alınışı ve dilüsyonun hazırlanması:** Mikrobiyolojik yönden analizi yapılacak her bir örnek steril stomacher torbalarına 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 ana dilüsyondan desimal olarak  $10^{-9}$ 'a kadar dilüsyonlar hazırlanmıştır.

**Besi yerlerine 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), Slanetz & Bartley Medium'a (SBA, OXOID, CM377), MRS Agar'a (de Man Rogosa Sharpe, OXOID, CM361), Potato Dextrose Agar'a (PDA, OXOID, CM139), Pseudomonas Agar Base'e (PAB, OXOID, 559) ve Baird Parker Agar'a (BP, OXOID, CM275) ekimler yapılmıştır. PCA, VRBG ve MRS besiyerleri 30 °C'de 2-3 gün aerob, PDA ve PAB besiyerleri 25 °C'de 3-4 gün aerob ve BP ve SBA besiyerleri 37 °C'de 1-2 gün aerob koşullarda inkübe edilmişlerdir. PCA'da üreyen bütün koloniler toplam aerob mezofil bakteri, VRBG'de 1-2 mm çapında, kırmızı ve kırmızı hale oluşturarak üreyen ve oksidaz testi (Identification Sticks Oxidase, OXOID, BR64A) negatif sonuç veren tüm koloniler enterobakteri, SBA'da üreyen 1-2 mm çapından büyük, pembe-kırmızıdan kahverengiye kadar değişen renkteki koloniler enterokok, MRS'de üreyen en az 1 mm büyüklüğünde ve katalaz testi negatif sonuç veren koloniler laktobasil, PAB'de üreyen 1 mm çapından büyük oksidaz testi pozitif sonuç veren tüm koloniler pseudomonas ve PDA'da üreyen tüm koloniler maya/küf olarak değerlendirilmiştir. BP'de üreyen 1-3 mm çapında, parlak, siyah renkli (tellurit reaksiyonu) ve etrafı şeffaf bir hale ile çevrili koloniler (yumurta sarısı veya lesitinaz reaksiyonu) *S. aureus* olarak sayılmıştır. V. Grup çığ köfte örneklerinde gelişen *S. aureus* suşları miks (karışık) olarak inoküle edildiği için, bulunan *S. aureus* sayısı bütün *S. aureus*'ların toplam sayısal değeridir. Gelişen tipik koloniler, Staphytest Plus test kiti (OXOID, DR850M) uygulanarak doğrulanmıştır.

**Enterotoksin Analizi:** Bu amaçla çığ köfte örneklerinden 10 g alınarak 10 ml serum fizyolojik ile homojenize edilmiş ve daha sonra 4 °C'de 900 g'de 30 dakika santrifüje (Minifuge RF, Heraeus-Sepatech) edilmiştir. Santrifüje edildikten sonra üstte kalan sıvı, membran filtreden (Minisart 0,20 µm, Sartorius) süzülmuş ve berrak olan süzüntüde A, B, C ve D tipi enterotoksinlerin varlığı Reversed Passive Latex Agglutination ticari test kiti (OXOID, SET RPLA, TD900) ile tespit edilmiştir (14).

**Fiziko-kimyasal analizler:** Tüm örneklerin pH değerlerinin ölçümü pH metre ile (Nel elektronik, pH890) mikrobiyolojik ekimler için örnek alındıktan hemen sonra gerçekleştirilmiştir. Çığ köftenin su aktivitesi ( $a_w$ ) değeri *S. aureus* inoküle edilmeden önce ve inokülasyon sonrası analiz yapılan son saatte (24. saat) ölçülmüştür. Su aktivitesinin tayininde Rödel ve ark. (15) tarafından geliştirilen  $A_w$ -Wert-Messer (Luft) cihazı kullanılmıştır. Çığ köfte örneklerinin tuz tayini Mohr metodu ile ve rutubet tayini ise kurutma fırınında yapılmıştır (16).

## Bulgular

İnokülasyon öncesi alınan örneklerde yapılan mikrobiyolojik analiz bulgularına göre; çığ köftede, toplam aerob mezofil bakteri, enterobakteri, enterokok, laktobasil, maya/küf ve pseudomonas sayıları sırasıyla  $3,9 \times 10^5$ ,  $7,9 \times 10^2$ ,  $1,9 \times 10^2$ ,  $1,9 \times 10^3$ ,  $3,9 \times 10^2$  ve  $1,5 \times 10^3$  kob/g olarak bulunmuştur. Baird Parker Agar'a yapılan ekimlerde stafilocok bakteri gelişmesi olmuş ( $2,3 \times 10^2$  kob/g), ancak *S. aureus* izole edilmemiştir. Şekil 1'de eşlik/rekabetçi floranın muhafaza süresince gelişme seyri verilmiştir.

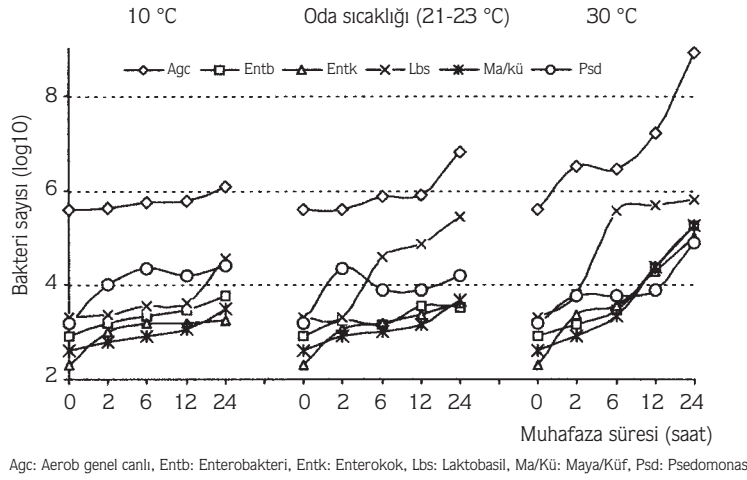
Çığ köfte örneklerinde inokulasyondan hemen sonra (0. saat) *S. aureus* suşlarının sayısı I. Grup'da  $3,6 \times 10^5$ , II. Grup'da  $2,3 \times 10^5$ , III. Grup'da  $3,1 \times 10^5$ , IV. Grup'da  $1,7 \times 10^5$  ve V. Grup'da  $6,7 \times 10^5$  kob/g düzeylerinde bulunmuştur. Şekil 2'de farklı sıcaklıklarda muhafaza edilen çığ köfte örneklerinde *S. aureus* suşlarının gelişimi ve pH seyri sunulmuştur. Oluşan toksin tipleri, enterotoksijenik suşa ait ilgili seyir çizgisi üzerinde siyah daire (●) ile marke edilmiş ve yine ilgili harf ile belirtilmiştir.

10 °C'de muhafaza edilen çığ köfte örneklerinin hiçbirinde toksin saptanmamıştır. Tüm gruplar göz önüne alındığında *S. aureus* suşlarında ciddi bir artış görülmemiş ve muhafaza süresinin sonunda hemen hemen başlangıç

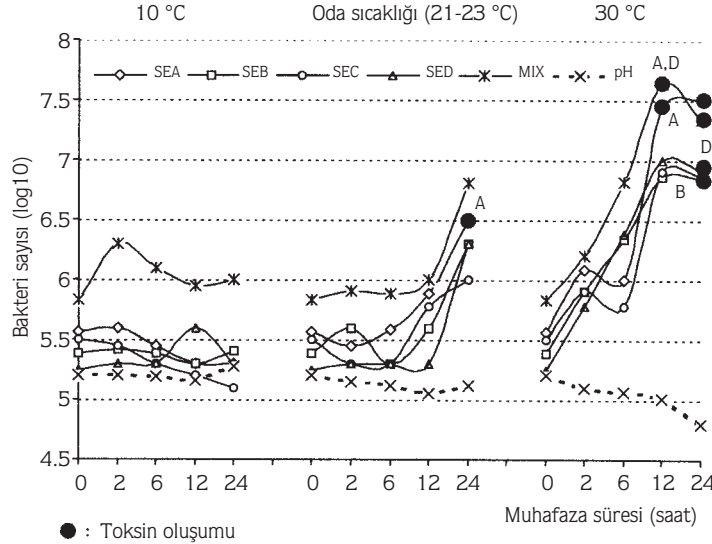
seviyelerinde ( $10^5$  kob/g) kalmıştır. Sadece V. Grup'da (miks) 2. saatte küçük bir artış ( $10^6$  kob/g) olmuştur (Şekil 2).

Oda sıcaklığında muhafaza edilen örneklerde ise sadece I. Grup'da (SEA) enterotoksin A ilk olarak 24 saat sonra saptanmıştır. Enterotoksin A'nın saptandığı saatteki (24. saat) *S. aureus* sayısı  $3,1 \times 10^6$  kob/g'dir. Oda sıcaklığında muhafaza edilen örneklerde, tüm gruplardaki *S. aureus* suşlarının sayıları 0-6. saatler arasında hemen hemen sabit kalmış, 6. saatten 24. saate kadar ise düzenli bir artış görülmüştür (Şekil 2).

30 °C'de muhafaza edilen örneklerde ise, enterotoksin I. Grup (enterotoksin A) ve V. Grup (miks) örneklerde 12 saat sonra bulunmuştur. V. Grup içerisinde saptanan toksinler A ve D tipi toksinlerdir. Enterotoksinin saptandığı saatteki *S. aureus* sayıları I. Grup için  $2,8 \times 10^7$  kob/g ve V. Grup için  $4,3 \times 10^7$  kob/g olarak belirlenmiştir. 30 °C'de muhafaza edilen örneklerde 12. saatte I ve V. Grup'da saptanan enterotoksinlere ilaveten 24. saatte II. Grup (enterotoksin B) ve IV. Grup'da (enterotoksin D) da enterotoksin tesbit edilmiştir. Enterotoksinlerin saptandığı saatteki *S. aureus* sayıları II.



Şekil 1. Farklı sıcaklıklarda muhafaza edilen çiğ köfte örneklerinde rekabetçi floranın gelişimi.



Şekil 2. Farklı sıcaklıklarda muhafaza edilen çiğ köfte örneklerinde *S. aureus* suşlarının gelişimi ve toksin oluşumu.

Grup için  $6,9 \times 10^6$  kob/g ve IV. Grup için  $8,1 \times 10^6$  kob/g olarak belirlenmiştir. 30 °C'de muhafaza edilen örneklerde tüm gruplardaki *S. aureus* sayıları 12. saate kadar düzenli bir artış göstermiştir. Ancak 2-6. saatler arasında I. ve III. Grup'larda hafif bir azalma gözlenmiş, ilerleyen saatlerde bunların sayıları da artmıştır. 12. saat ile 24. saat arasında bütün grupların sayılarında bir azalma gözlenmiştir (Şekil 2).

Çiğ köfte örneklerinin başlangıç pH değeri 5,2 olarak bulunmuş ve muhafaza süresince meydana gelen pH seyri Şekil 2'de verilmiştir. Başlangıçta 0,97 olan su aktivitesi değeri muhafaza süresi sonunda 10 °C'de muhafaza edilen örneklerde 0,95, oda sıcaklığında muhafaza edilen örneklerde 0,97 ve 30 °C'de muhafaza edilen örneklerde ise 0,94 olarak tesbit edilirken, başlangıçta % 58 olan rutubet oranı da 10 °C'de muhafaza edilen örneklerde % 54'e oda ısısında muhafaza edilen örneklerde % 51'e ve 30 °C'de muhafaza edilen örneklerde ise % 45'e düşmüştür. Tuz miktarı ortalama % 2,34 olarak saptanmıştır.

## Tartışma

Bu çalışmada A, B, C ve D tipi toksin oluşturan *S. aureus* suşları ile  $10^5$  kob/g düzeyinde kontamine edilen çiğ köfte örnekleri 10 °C, oda sıcaklığı (21-23 °C) ve 30 °C'de 24 saat süreyle muhafaza edilmiş ve 0, 2, 6, 12, 24 saat sonra örnekler alınarak *S. aureus* suşlarının gelişimi ve toksin oluşturma yetenekleri incelenmiştir.

Gıdalarda *S. aureus*'un gelişmesi ve toksin oluşturmaya bir çok faktöre bağlıdır. Bunlar; *S. aureus* suşu, su aktivitesi, pH, ortam sıcaklığı, tuz miktarı, rutubet, gıdanın özelliği (içerik, çiğ, pişmiş, fermente) ve rekabetçi floradır (17-21). Bununla birlikte gıdada bulunan rekabetçi floranın engelleyici veya destekleyici etkisinin de bulunduğu bildirilmiştir (11,21-26).

Çiğ köfte sahip olduğu pH,  $a_w$  ve besin içeriği yönünden *S. aureus*'un gelişimi için uygun bir ortamdır. *S. aureus*'un (suşlar arasında farklılıklar olmakla birlikte) 0,83 ile 0,99 arasındaki su aktivitesinde geliştiği ve 0,86 ile 0,99 arasındaki su aktivitesinde de (pH, sıcaklık, % NaCl ve % çözünebilir oksijene bağlı olmakla birlikte) toksin oluşturdıkları bildirilmiştir (20). Bu çalışmada incelediğimiz çiğ köfte örneklerindeki su aktivitesi bu sınırlar içerisinde olup 0,95 ile 0,98 arasındadır. *S. aureus*'un geliştiği ve toksin oluşturduğu pH değerinin optimum 6-7 olduğu ve 4,0-10,0 arasında değiştiği

bildirilmiştir (19,20,27). pH değerinin azalması suşların gelişmesinden çok toksin oluşumunu, özellikle de enterotoksin B ve C'yi etkilemektedir (19). Bu çalışmada incelediğimiz çiğ köfte örneklerindeki pH değerleri belirtilen pH sınırları içinde olup 4,8 ile 5,2 arasındadır. Nitekim oda sıcaklığında muhafaza edilen örneklerde enterotoksin A'nın saptandığı 24. saatteki pH değeri 5,12 ve 30 °C'de muhafaza edilen örneklerde ise enterotoksinin olduğu 12. saatte pH 5,01 ve 24. saatte ise 4,8 olarak belirlenmiştir. B tipi toksinin 24. saatte saptanması ve C tipi toksinin ise hiç belirlenmemiş olması, pH değerinin azalmasının B ve C tipi toksin oluşumunu geciktirdiğini ifade eden Notermans ve Heuvelmann (19) ile uyum göstermektedir.

*S. aureus*'un gelişme aralığı 7,0 °C ile 47,8 °C (ortalama 37 °C) ve toksin üretme aralığı 10 °C ile 46 °C (ortalama 40-45 °C) arasında olmakla birlikte (20), bunun pH, su aktivitesi ve gıdanın besin bileşimi gibi faktörlere bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir (28). 5-10 °C'in altındaki soğukta muhafaza, gıdaların raf ömrünün uzaması ve bununla birlikte gıda intoksikasyonlarına neden olan bakterilerin gelişmelerini durdurması açısından da etkilidir (29). Bu çalışmada, 10 °C'de muhafaza edilen örneklerde *S. aureus* sayılarında bir artış görülmemiş ve toksin saptanmamıştır. Oda sıcaklığında muhafaza edilen örneklerde sadece enterotoksin A (I. Grup) 24. saatte tesbit edilmiştir. 30 °C'de 12. saatte I. Grup (enterotoksin A) ve V. Grup'da (enterotoksin A ve D) enterotoksin belirlenirken, 24. saatte bunlara ilaveten II. Grup (enterotoksin B) ve IV. Grup'da (enterotoksin D) da enterotoksin saptanmıştır.

Tatini (20) *S. aureus*'un gıdalarda % 0-20 arasındaki tuz konsantrasyonlarında gelişebildiğini ve % 0-10 arasındaki tuz konsantrasyonlarında ise toksin oluşturduğunu bildirilmiştir. Bu çalışmada çiğ köfte örneklerindeki ortalama tuz miktarı % 2,34 olarak tesbit edilmiş olup araştırmacının bildirdiği değerler arasındadır.

*S. aureus*'un gıdalarda gelişmesi ve toksin oluşturmaya üzerine rekabetçi floranın etkisinin olduğu bir çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (11,21-24). *S. aureus*'un yüksek bakteri konsantrasyonuna ulaşması ve enterotoksin oluşturabilmesi için rekabetçi floraya karşı dominant durumda olması gerekir. (11,21,24). Ayrıca *S. aureus*'un toksin oluşturabilmesi için sayının  $10^6$ - $10^7$  kob/g olması ve dominant durumda olması gerektiği bildirilmiştir (21). Wieneke ve ark. (30), İngiltere'de 1969-1990 yılları arasında gıda zehirlenmelerine sebep

olarak gösterilen gıdalardaki *S. aureus* sayısının 0'dan  $1,2 \times 10^{10}$  kob/g'a kadar değiştiğini (ortalama  $3,0 \times 10^7$ ) ve *S. aureus* sayısının gıdaların % 77'sinde  $10^6$  kob/g'in üzerinde olduğunu belirtmiştir. Bu çalışmada, oda sıcaklığında muhafaza edilen örneklerde enterotoksinin olduğu 24. saatteki *S. aureus* sayısı enterotoksin A oluşturan suş için  $3,1 \times 10^6$  kob/g ve  $30^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edilen örneklerde enterotoksinin olduğu 12. saatteki *S. aureus* sayıları,  $2,8 \times 10^7$  kob/g (I. Grup) ve  $4,3 \times 10^7$  kob/g (V. Grup), 24. saatte ise  $6,9 \times 10^6$  kob/g (II. Grup) ve  $8,1 \times 10^6$  kob/g (IV. Grup) olup dominant durumdadırlar. Bulduğumuz değerler yukarıda bildirilen değerlerle uyumludur.

Konuyla ilgili olarak yapılan bir çalışmada Erol ve ark. (3) A tipi enterotoksin oluşturan *S. aureus* suşu ile farklı düzeylerde ( $10^3, 10^4, 10^5$  kob/g) kontamine ettikleri ve oda sıcaklığında (sıcaklık belirtilmemiş) 24 saat muhafaza ettikleri çiğ köfte örneklerinde *S. aureus* sayısının muhafaza süresi içinde sınırlı bir azalma gösterdiğini, ayrıca grupların hiç birisinde enterotoksin saptanmadığını bildirmişlerdir. Göktan ve Tunçel (1) çiğ köftede katkı maddelerinin *Salmonella typhimurium*'un üremesi üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada, çiğ köfte örneklerinin florasında başlangıçta  $2,0 \times 10^2$  kob/g olan *S. aureus* sayısının 48 saat sonra sınırlı ölçüde azalarak  $0,8 \times 10^2$  kob/g'a düştüğünü bildirmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ile yukarıdaki araştırmacıların bulguları uyum göstermemektedir. Bu uyumsuzluk muhafaza sıcaklığının, çiğ köfte içeriğinin, başlangıç *S. aureus* sayısının, kullanılan suşların ve rekabetçi floranın farklılığından kaynaklanmış olabilir.  $10^5$  kob/g seviyesinde kontamine edilen ve oda sıcaklığında muhafaza edilen örneklerle kıyasladığımızda Erol ve ark.'nın (3) sonuçları da bizim sonuçlarımızla uyum göstermemektedir. Sözü edilen çalışmada araştırmacılar oda sıcaklığında muhafaza ettikleri örneklerde toksin saptayamazken bu çalışmada aynı şartlarda A tipi enterotoksine 24. saatte rastlanmıştır. Araştırmacılar toksin bulamamalarının nedenini *S. aureus*'un toksin oluşturacağı  $>10^6-10^7$  kob/g seviyesine ulaşmamasına bağlamışlardır. Halbuki bu çalışmada  $10^5$  kob/g düzeyinde kontamine edilen ve oda sıcaklığında muhafaza edilen örneklerde A tipi enterotoksinin saptandığı 24. saatteki *S. aureus* sayısı  $3,1 \times 10^6$  kob/g olarak belirlenmiştir. *S. aureus* sayılarındaki farklılık ve toksin oluşumu, kullanılan suşun farklılığından, rekabetçi floranın değişik olmasından, muhafaza sıcaklığının ve çiğ köftelerin bileşimindeki maddelerin

farklılığından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca Müller (31), eğer *S. aureus*'ların başlangıç sayıları  $10^4$  kob/g'den daha büyük olursa rekabetçi floranın *S. aureus*'un gelişmesi ve enterotoksin oluşturmaya karşı engelleyici etkisinin çok zayıf olabileceğini bildirmiştir.

Bir çok araştırmacı (11,24,32) enterotoksin A oluşturan *S. aureus* suşlarının diğer toksin oluşturan *S. aureus* suşlarına göre uygun olmayan şartlar altında da enterotoksin üretebileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca Wieneke ve ark. (30) İngiltere'de 1969-1990 yılları arasında görülen stafilokokal gıda zehirlenmelerinde gıdaların % 57'sinde enterotoksin A'yı, % 15'inde enterotoksin A + D'yi ve % 8'inde enterotoksin C + D'yi saptamışlardır. Bu araştırmada da gerek oda sıcaklığında muhafaza edilen (24. saatte) gerekse  $30^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edilen örneklerde (12. saatte) A tipi enterotoksin saptanmış, onu  $30^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edilen örneklerde (12. ve 24. saatte) enterotoksin D izlemiştir.

Araştırma sonuçları, çiğ köfteye başlangıç olarak  $10^5$  kob/g düzeyinde *S. aureus* bulaşması halinde, oda sıcaklığında ( $21-23^\circ\text{C}$ ) 24 saat (12 ile 24 saat arasında) ve  $30^\circ\text{C}$ 'de 12 saat (6 ile 12 saat arasında) muhafaza edilmesi halinde *S. aureus*'un toksin oluşturabileceğini göstermektedir (Şekil 2). Çiğ köfte hazırlandıktan sonra kısa süre içerisinde tüketilmektedir. Ancak artan kısmı atılmayıp daha sonra tüketilebilmektedir. Ayrıca ticari olarak üretilen çiğ köfteler üretildikleri lokanta ve benzeri yerlerde (hatta sokakta) hijyenik olmayan şartlarda hazırlanmakta ve uzun süre bekletilmektedir.

Sonuç olarak, çiğ köfte hijyenik olmayan şartlarda hazırlanırsa, personel sağlığına ve hijyenine (hazırlayan işçi ellerinde irinli yara, kesik vs.) özen gösterilmezse ve hazırlandıktan sonra hemen tüketilmeyen çiğ köfteler uygun olmayan sıcaklıklarda uzun süre bekletilirse enterotoksin oluşabileceği ortaya çıkmıştır. Araştırma sonuçlarına göre, çiğ köfteye bağlı stafilokok intoksikasyonlarından korunmak için, hijyen kurallarına ilaveten koruyucu tedbir olarak soğukta muhafazanın önemli olduğu anlaşılmıştır.

## Teşekkür

Şanlıurfa usulü çiğ köftenin yoğurulması ve malzeme teminindeki katkılarından dolayı Doç. Dr. Suphi Deniz ve Dr. Nihat Denek'e teşekkür ederiz.

## Kaynaklar

- Göktan, D., Tunçel, G.: Effect of ingredients on quantitative recovery of salmonella in raw meat balls. *Meat Sci.* 1988; 22: 155-160.
- Öcal, H.M.: Özellikleri ve güzellikleriyle çiğ köftemiz. *Özlem Kitabevi, Ş. Urfa.* 27-70, 1997.
- Erol, İ., Mutluer, B., Vatansver, L.: A tipi enterotoksin oluşturan *S. aureus*'un çiğ köftede üreme ve toksin oluşturma yeteneğinin belirlenmesi. *Gıda* 1993; 18: 315-318.
- Tekinşen, O.C., Yurtyeri, A., Mutluer, B.: Ankara'da satılan hazır kıymaların bakteriyolojik kalitesi. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* 1980; 27: 45-63.
- Sancak, Y.C., Boynukara, B., Ağaoğlu, S.: Van'da tüketime sunulan kıymaların mikrobiyolojik kalitesi. *Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg.* 1993; 4: 73-76.
- Sağun, E., Sancak, Y.C., Durmaz, H., Ekici, K.: Van'da tüketime sunulan bazı baharatların mikrobiyolojik kalitesi. *Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg.* 1997; 8: 1-5.
- Güven, A., Gülmez, M., Kamber, U.: Kars ilinde tüketime sunulan kıymalarda bazı patojen mikroorganizmaların araştırılması ve kıymaların mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi. *Kafkas Ü. Vet. Fak. Derg.* 1997; 3: 57-65.
- Tekinşen, O.C., Sarıgöl, C.: Elazığ yöresinde tüketime sunulan bazı öğütülmüş baharatın mikrobiyel florası. *F.Ü. Vet. Fak. Derg.* 1982; 7: 149-162.
- Arslan, A., Güven, A., Saltan, S., Patır, B.: Elazığ'da tüketime sunulan çiğ köftelerin mikrobiyolojik kalitesi. *F.Ü. Sağlık Bil. Derg.* 1992; 6: 13-18.
- Sağun, E., Sancak, Y.C., Durmaz, H., Akkaya, L.: Van'da tüketime sunulan çiğ köftelerin hijyenik kaliteleri üzerine bir araştırma. *Y.Y.Ü. Sağlık Bil. Derg.* 1997; 3: 64-67.
- Alışarlı, M.: Vermehrung von *Staphylococcus aureus* und Enterotoxinbildung in türkischen puddingspeisen. Inaug. Doktora Tezi, Zürich, 1997.
- Baumgart, J.: Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmittel. Behrs Verlag, Hamburg, 1993.
- Pichhardt, K.: Lebensmittelmikrobiologie. 3. Auflage. Springer Verlag, Berlin, 1993.
- 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.
- Rödel, W., Panert, H., Leistner, L.: Verbessertes aw-Wert-Messer zur Bestimmung der Wasseraktivität von Fleisch und Fleisch Waren. *Fleischwirtschaft.* 1975; 4: 557-558.
- TSE: Türk sucuğu T.S.: 1070. Türk Standartları Enstitüsü. Ankara. 1984.
- Minor, E.T., Marth, E.H.: *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food intoxications. A review: IV. Staphylococci in meat, bakery products and other foods. *J. Food Technol.* 1972; 34: 228-241.
- 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.
- Notermans, S., Heuvelmann, 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.
- 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.
- Noletto, A.L.S., Malburg, L.M., Bergdoll, M.S.: Production of staphylococcal enterotoxin in mixed cultures. *Appl. Environ. Microbiol.* 1987; 53: 2271-2274.
- McCoy, C.W., Farber, J.E.: Influence of food microorganisms on staphylococcal growth and enterotoxin production in meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 1966; 14: 372-377.
- 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.
- Notermans, S., Tips, P., Heuvelmann, C.J.: Einfluss der Milieu-Bedingungen auf das Wachstum von *S. aureus* und die Enterotoxinbildung. *Fleischwirtsch.* 1984; 64: 1490-1496.
- Alışarlı, M., Sağun, E., Alemdar, S., Akkaya, L.: Kremalı pastalarda *S. aureus* suşlarının gelişme ve enterotoksin oluşturma özellikleri üzerine etki yapan faktörler. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 2002; 26: 535-542.
- Minor, E.T., Marth, E.H.: *S. aureus* and staphylococcal food intoxications. A Review: I. The staphylococci: characteristics, isolation and behavior in artificial media. *J. Milk Food Technol.* 1971; 34: 557-564.
- Genigeorgis, C., Sadler, W.W.: Effect of sodium chloride and pH on enterotoxin B production. *J. Bacteriol.* 1966; 92: 1383-1387.
- 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.
- Schmidt-Lorenz W.: Mikrobiologisch-hygienische Anforderungen an die küchentechnischen Erhitzungs- und Kühlwaren. *Swiss Food Nr.* 1979; 1/2: 27-45.
- Wieneke, A.A., Roberts, D., Gilbert, R.J.: Staphylococcal food poisoning in the United Kingdom, 1969-90. *Epidemiol. Infect.* 1993; 110: 519-531.
- Müller C.: *Staphylococcus aureus*. Kişisel bildiri: Bakterielle Lebensmittel-Infektionen und -Intoxikationen, 3. Kurs Lebensmittelhygiene. Zürich: 1994.
- Ewald, S., Notermans, S.: Effect of water activity on growth and enterotoxin D production of *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Food Microbiol.* 1988; 6: 25-30.