

Çiğ süt ve peynirlerde koagulaz pozitif stafilocoklar

Tuba YILDIRIM* Belgin SIRIKEN** Ceren YAVUZ*

Öz: Stafilocokal intoksikasyonlar (SE), pek çok ülkede en sık görülen bakteriyel gıda kaynaklı zehirlenmeler arasında ilk sıralarda yer almaktadır. SE'ler başta *Staphylococcus aureus* olmak üzere bazı koagulaz pozitif stafilocok (KPS) ve diğer stafilocoklar tarafından da oluşturulmaktadır. Bu çalışma, Amasya bölgesinde tüketime sunulan 50 çiğ süt ve 60 peynir örneğinde KPS ile kontaminasyon düzeylerini araştırmak amacıyla yapıldı. Bu kapsamda, mikrokok/stafilocok ve takiben KPS klasik kültür tekniği ile izole edilerek fenotipik yöntemlerle tanımlendi. Analiz bulguları çerçevesinde; 60 peynir örneğin 40'ında toplam mikrokok/stafilocok düzeyi 10^2 - 10^7 kob/g (koloni oluşturan birim) arasında belirlendi. KPS 60 örneğin 18'inden 10^2 ila 10^6 kob/g düzeylerinde saptandı. Kontaminasyon düzeylerinin dağılımı; 2 (%3,33), 5 (%8,33) 3 (%5,00) ve 7 (%11,66) örnekte sırasıyla 10^2 , 10^3 , 10^4 ve 10^5 kob/g, 1(%1,66) örnekte ise 10^6 kob/g idi. Çiğ süt analiz bulguları çerçevesinde, mikrokok/stafilocok 50 örneğin 49'unda 10^2 - 10^6 kob/ml düzeylerinde izole edildi. KPS ise 50 örneğin 32 (%64)'sinden izole edildi. Kontaminasyon düzeylerinin dağılımı; 11 (%22,00), 19 (%38,00) ve 2 (%4,00) örnekte sırasıyla 10^2 , 10^3 ve 10^4 kob/ml idi. Sonuç olarak, 11 (%18,33) peynir ve 2 (%4) çiğ süt örneğinin KPS yönünden

Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen maksimum limitlerin üzerinde olduğu ve kodekse uygun olmadığı saptandı.

Anahtar sözcükler: Çiğ süt, koagulaz pozitif stafilocok, mikrokok/stafilocok, peynir

Coagulase positive staphylococci in raw milk and cheese

Abstract: Staphylococcal intoxication is the most frequently occurred food-poisoning among the food-borne poisoning cases in many countries. Generally the enterotoxin production is associated with *Staphylococcus aureus* apart from other *Staphylococcus* species. Therefore, the aim of the study was to investigate the presence of coagulase positive *Staphylococci* (CPS) in 50 raw milk and 60 varieties of cheese samples consumed in Amasya province, Turkey. For this, micrococci/staphylococci following CPS were isolated using classic culture technique and identified using phenotypic methods. According to the results, total number of micrococci/staphylococci were found to be between 10^2 and 10^7 cfu/g (colony forming unit) in 40 out of 60 cheese samples. Among these, CPS was isolated 18 of 60 cheese samples at levels between 10^2 and 10^6 cfu/g. According to distribution of contamination levels; 2 (3.33%), 5 (8.33%) 3 (5.00%) and 7

*Amasya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İpekköy Yerleşkesi, Amasya, Türkiye

** Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı, Kurupelit Kampüsü, Atakum-Samsun, Türkiye

(11.66%) of the samples contained 10^2 , 10^3 , 10^4 and 10^5 cfu/g CPS. Only 1(1.66%) of the sample contained 10^6 cfu/g CPS. It was also analyzed 50 raw milk samples. In conclusion, micrococci/staphylococci were isolated 49 out of 50 samples at the levels of 10^2 - 10^6 cfu/ml. CPS was also detected in 32 (64.00%) of 50 samples. According to distribution levels, it was detected at the levels of 10^2 , 10^3 and 10^4 cfu/ml in 11 (22.00%) 19 (38.00%) and two (4.00%) of the samples. As a result, 11 (18,33%) of cheese and 2 (4.00%) raw milk samples with regard to CPS were not acceptable according to Turk Food Codex.

Keywords: Cheese, coagulase positive staphylococci, micrococci/staphylococci, raw milk

Giriş

Stafilokoklar ubiquiter özellikte, Gram pozitif, spor oluşturmeyen, katalaz pozitif, fakültatif anaerob bakterilerdir (21, 26). Günümüzde stafilokokların koagülaz üretim potensiyeline bağlı 35 farklı türü bulunmaktadır. Bu cins içinde yer alan *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus* (6), *S. delphin* (22), *S. schleiferi* subsp. *coagulans* ve *S. lutrae* (24) türleri koagülaz pozitif stafilokokları (KPS) oluşturmaktadır.

Gıda kaynaklı stafilokokal intoksikasyonlar, başta *S. aureus* olmak üzere enterotoksijenik KPS'lar tarafından gıdalarda şekillendirdikleri ısıya dayanıklı, süperantijenik yapıda ve pepsin rezistans özellikte stafilokokal enterotoksinlerin (SE) sindirimini takiben 30 dakika ile 8 saat sonra görülür. SE intoksikasyon belirtileri bulantı ve kusma ile karakterize olup, bazen karın ağrısı, diyare, baş ağrısı ve kan basıncında düşme de görülür (3,12,24). SE'ler gıda zehirlenmelerinin yanı

sıra, spesifik olmayan hücre proliferasyonunu uyarma (16), toksik şok benzeri sendrom, artrit, alerjik reaksiyonlar ile otoimmün hastalıklara da neden olurlar (5,18). Stafilokokal intoksikasyonlarda zehirlenme belirtileri, 100 g/ml gıda içerisinde 0,1-10 µg enterotoksin bulunması halinde görülür (11). Bütün dünyada en sıklıkla görülen bakteriyel gıda zehirlenmesi olguları arasında ilk sıralarda yer almasına rağmen (4), enfeksiyona ilişkin hospitalizasyon oranı %6,4 gibi düşük orandadır. Bu durum zehirlenme belirtilerinin nadiren şiddetli olması ile bildirilen kayıtlı olgu sayısının gerçek olgulardan daha düşük olmasına bağlanmaktadır (29).

S. aureus'u da içeren KPS'ler çiğ sütlerden $>10^6$ kob/ml düzeylerinde rahatlıkla izole edilebilir. Ancak, saf kültürlerde enterotoksin üretebilme yeteneklerinin veya enterotoksin gen bölgelerinin saptanması esasına dayanarak yapılan çalışmalarda *S. aureus* başta olmak üzere KPS grubunun ancak %77'lik bir kısmı enterotoksijenik özelliğe sahiptir (24).

Günümüze kadar 13 enterotoksin tipi belirlenmiş olup bunlar; A, B, C (C1, C2, C3), D, E, G, H, I, J ve K tipleri olarak adlandırılmıştır (17). Stafilokokal intoksikasyonların yaklaşık %80'i A tipi toksin tarafından meydana gelir ve bunu SEB ve SED tipleri izler (11).

Stafilokoklar insanlarda ve hayvanlarda enfeksiyonlara ve gıda intoksikasyonlarına neden olduklarından dolayı halk sağlığı açısından önemli mikroorganizmalardandır (6). *S. aureus*'un neden olduğu hayvan hastalıklarından mastitis ilk sırada yer almaktadır. Dolayısıyla bulaşmada en önemli araç özellikle subklinik mastitisli hayvanlardan elde edilen kontamine sütlerdir

(11, 17). Uygun olmayan koşullarda üretilen başta peynir olmak üzere süt ürünleri de riskli gıdalar arasında yer almaktadır. Avrupa'da peynir üretiminin yaklaşık %10'unu çiğ süttten yapılmaktadır (7). Bu durum ülkemiz içinde geçerlidir. Çiğ süttten üretim dışında etkenin tuza karşı toleransının da yüksek olması peynirlerin stafilokokal gıda zehirlenmelerinden sorumlu gıdalar arasında yer almasına neden olmaktadır. Bu nedenle çiğ süttten yapılan peynirler patojen *S. aureus* ve diğer KPS'lar ile ilişkili olarak yüksek riskli gıdalar arasında yer almaktadır (1). Nitekim 16 Avrupa ülkesinde raporlanan stafilokokal gıda kaynaklı zehirlenmelerde süt ve süt ürünlerin rolü %1-9 olarak bildirilmiştir (12). Amerika'da yıllık SE kaynaklı olgu sayısı yaklaşık 241.000 olup, sorumlu gıdalar arasında süt ürünleri ise %2,1 oranındadır (10). Süt orijinli (yağsız süt tozundan yapılmış yoğurt ve düşük yağlı süt) stafilokokal intoksikasyonun neden olduğu en büyük gıda zehirlenmesi Japonya'da 2000 yılında görülmüş, bu olaylarda 13.420 olgu sayısı bildirilmiştir. Bu olayda canlı mikroorganizma izole edilememiş ancak enterotoksin (4 ng/g) saptanmıştır (2,3). Türkiye dahil dünyanın çeşitli ülkelerinde çiğ süt ve çeşitli tip peynirlerde stafilokoklar, KPS, *S. aureus* varlığı ve SE oluşturma özellikleri gibi çalışmalar bulunmaktadır (15, 19, 27, 33). Literatür bilgileri ışığı altında, Amasya bölgesinde ise böyle bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada Amasya'da tüketime sunulan çiğ süt örnekleri ile çeşitli peynir örneklerinde koagulaz pozitif stafilokok varlığı araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Gereç: Amasya ilinde tüketime sunulan toplam 110 örnek (60 peynir ve 50 çiğ süt) mikrokok/stafilokok ve koagulaz pozitif stafilokok varlıkları yönünden analiz edildi. Analiz işlemi Food and Drug Administration (FDA) yöntemine (13)'e göre yapıldı.

Yöntem: Bu çerçevede; 110 adet peynir ve çiğ süt örneği satın alınmayı takiben soğuk zincir altında laboratuara getirilerek aynı gün analiz edildi. Laboratuara getirilen peynir ve çiğ süt örneklerinden steril polietilen poşetlere 10 gram/ mililitre tartıldı ve üzerlerine 90 ml %0,1 tuzlu peptonlu su ilave edildi. Daha sonra karışım homojenizatörde 2 dakika süreyle homojenize edildi. Homojenizasyonu takiben, karışımdan peptonlu su ile gerekli desimal dilüsyonlar yapılarak Baird Parker (BP) Agar (Oxoid CM 0275, egg yolk tellurite suppl. SR 0054) plaklarına damla plak yöntemiyle ekimleri yapıldı. Plaklar 37 °C'de aerob şartlarda, 24-48 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonu takiben paklarda üreyen koloniler sayıldı ve bu koloniler mikrokok/stafilokok olarak değerlendirildi. İnkübasyon sonunda BP agar plaklarda üreyen KPS yönünden şüpheli koloniler (sirküler, dışbukey, nemli, 2-3 mm çapında, gri renkten koyu siyah renge kadar değişebilen, çoğunlukla opak veya tamamen açık renkli yani lesitinaz pozitif veya lesitinaz aktivitesi göstermeyen atipik, öze ile dokunulduğunda tereyağı veya sakız kıvamlı) de sayıldı. Bu kolonilerden en fazla 5 koloni alındı. Bu koloniler şüpheli KPS olarak değerlendirilmek üzere aşağıda belirtilen testler yapıldı.

Fenotipik Yöntemler: İdentifikasyon amacıyla katalaz testi, mikroskobik muayene,

tüpte koagulaz ile biyokimyasal testler (anaerob glukoz kullanımı) yapıldı.

a. Katalaz test: %3 hidrojen peroksit (Merck, 1.07209) kullanılarak yapıldı ve katalaz pozitif koloniler değerlendirmeye alındı.

b. Mikroskopik muayene: Bu amaçla gram boyama yapıldı. Gram pozitif, kok formunda kümeler oluşturan koloniler değerlendirmeye alındı.

c. Koagulaz test: Tipik veya atipik kolonilere koagulaz test uygulandı. Bu

Tablo 1: Analiz edilen peynir örneklerinin mikrokok/stafilokok düzeyleri ve Koagulaz Pozitif Stafilokok türleri ile kontaminasyon düzeyleri (kob/g = koloni oluşturan birim)

Table 1: *Micrococci/staphylococci and coagulase positive staphylococci species levels in analysed cheese samples*

Mikroorganizma türleri	<10 ²	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Mikrokok/stafilokok sayısı (n=60)	20 (33,33)	3 (5,00)	9 (15,00)	6 (10,00)	10 (15,00)	10 (16,66)	2 (3,33)
Koagulaz pozitif stafilokok sayısı (n=18) (%30,00)	42 (70,00)	2 (3,33)	5 (8,33)	3 (5,00)	7 (11,66)	1 (1,66)	0 (0,00)

Tablo 2: Analiz edilen çiğ süt örneklerinin mikrokok/stafilokok düzeyleri ile Koagulaz Pozitif Stafilokok türleri ile kontaminasyon düzeyleri (kob/g = koloni oluşturan birim)

Table 2: *Micrococci/staphylococci and coagulase positive staphylococci species levels in raw milk samples*

Mikroorganizma türleri	<10 ²	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Mikrokok/stafilokok sayısı (n=50)	1 (2,00)	10 (20,00)	25 (50,00)	11 (22,00)	1 (4,00)	2 (4,00)
Koagulaz pozitif stafilokok sayısı (n=32) (%64)	18 (36,00)	11 (22,00)	19 (38,00)	2 (4,00)	0 (0,00)	0 (0,00)

amaçla tavşan plazması ile tüpte koagulasyon testi yapıldı. Koagulaz pozitif koloniler değerlendirmeye alındı.

d. Biyokimyasal test: İzolatların Oksidasyon/fermentasyon (O/F) özelliklerini belirlemek amacıyla %0.5 glukoz içeren purple

broth base (BD Difco, 222710) kullanıldı. Bakteri inokülasyonunu takiben tüpler anaerob ortamda 37 °C'de 5 gün süreyle inkübasyona bırakıldı. Anaerob ortam tüplerin üzeri 25-30 mm kalınlığında parafin konularak sağlandı.

Yukarıda yapılan testler sonucunda Gram pozitif kok görünümlü, katalaz pozitif, O/F pozitif ve koagülaz pozitif koloniler KPS olarak değerlendirildi.

Bulgular

Yapılan bu çalışmada, 60 peynir örneği ile 50 çiğ süt örneği olmak üzere toplam 110 örnek mikrokok/stafilokok ve koagülaz pozitif stafilokok yönünden analiz edildi. Analiz bulgu sonuçları Tablo 1 ve Tablo 2’de gösterilmiştir. Tablo 1 incelendiğinde, analiz edilen toplam 60 peynir örneğinin 40 (%66,66)’ından $\geq 10^2$ kob/g mikrokok/stafilokok izole edildiği, 20 örnekte ise bu bakteriler saptama sınırının altında olduğu görüldü. Örneklerin mikrokok/stafilokoklarla kontaminasyon düzeyleri $< 10^2$ ila 10^7 kob/g arasında değiştiği görülmektedir. KPS’ler ise analiz edilen 60 örneğin 18’inden (%30,00) 10^2 ila 10^6 kob/g düzeylerinde izole edildi. On sekiz örnekten izole edilen KPS’lerin kontaminasyon düzeylerinin dağılımı incelendiğinde; 2 (%3,33) örneğin 10^2 kob/g, 5 (%8,33) örneğin 10^3 kob/g, 3 örneğin (%5,00) 10^4 kob/g, 7 (%11,66) örneğin 10^5 kob/g ve 1 (%1,66) örneğin ise 10^6 kob/g düzeylerinde olduğu saptandı.

Toplam 50 süt örneğinin mikrobiyolojik analiz sonuçları ise Tablo 2’de gösterilmiştir. Analiz bulguları çerçevesinde; 50 süt örneğinin 49 (%98,00)’undan mikrokok/stafilokokların izole edilirken, 1 örnekte ise bu mikroorganizmalar saptama sınırının altında olduğu görüldü. Örneklerin mikrokok/stafilokoklarla

Tartışma ve Sonuç

Stafilokokal intoksikasyonlar pek çok ülkede en yaygın gıda kaynaklı toplu zehirlenme grubunu oluşturmaktadır. Süt

ürünleri ve protein oranı yüksek diğer ürünler *S. aureus*’un üremesi için uygun gıdalardır. Avrupada görülen gıda zehirlenmeleri %1 ila %9 (ortalama %4,8) oranında süt ve süt ürünlerinden kaynaklanmaktadır. Avrupa Birliği ülkelerinde görülen gıda kaynaklı toplu zehirlenme etkenleri arasında *S.aureus* %1,0 ila %13,6 oranlarında sorumlu tutulmuştur. Bu oran İngiltere’de %1, İtalya’da %1,8, Almanya’da %2,8, İspanya’da %4,1 ve Fransa’da ise %13,6 olarak bildirilmiştir. Sayılan Avrupa ülkelerinde görülen gıda kaynaklı stafilokokal intoksikasyonlarından sorumlu tüm şüpheli gıdalar arasında İngiltere’de %3 oranında süt ürünleri, İtalya’da %3,6 oranında peynir ve %2,4 oranında dondurma, Almanya’da %3,9 oranında süt ürünleri ve %0,1 oranında peynir, İspanya’da %1,6 oranında süt ürünleri ve peynir, Fransa’da ise %13,6 oranında süt yer almaktadır. Bu veriler ışığı altında başta süt ve peynir olmak üzere süt ürünleri SE’lerin neden olduğu tipik gıda kaynaklı toplu zehirlenmelerle ilişkili gıdalar arasında yer aldığı görülmektedir (12).

Genel olarak değişik toplu zehirlenmeleri olgularında süt ile kıyaslandığında peynir kökenli gıda intoksikasyonları çok daha fazla görülmektedir. Bu durum çiğ süt ve peynirin sahip olduğu intrinsik ve ekstrinsik faktörlerdeki değişikliklerden kaynaklanabilir. Bizim çalışmamızda peynir örneklerinin gerek mikrokok/stafilokok gerekse KPS ile daha yüksek oranda kontamine olduğu görülmektedir (Tablo 1 ve 2). Örneğin; mikrokok/stafilokok düzeyleri 10 peynir örneğinde 10^6 ve iki örnekte 10^7 kob/g düzeylerinde saptanırken, çiğ süt örneklerinde bu oran bir örnekte 10^5 , iki örnekte ise 10^6 kob/ml düzeylerindedir. Peynir ve çiğ süt örnekleri KPS yönünden karşılaştırıldığında ise; peynir

örneklerinin 7'sinde 10^5 ve bir örnekte 10^6 kob/g düzeylerinde iken, 19 çiğ süt örneğinde KPS 10^3 ve iki örnekte 10^4 kob/ml düzeylerinde idi. İki tip örnek arasındaki kontaminasyon düzeyleri arasındaki farklılık nedenlerinden biri çiğ sütte bulunan muhtemel *S. aureus*'un yüksek düzeydeki yarışmacı mikroflora ile rekabet edememesidir. Nitekim, sütte bulunan bazı amino asitlerin rekabetçi mikrofloradan *Pseudomonas* veya koliform bakteriler tarafından, yine nikotinamid, niasin veya biyotinin streptokoklar tarafından kullanılması *S. aureus*' un gelişmesini geciktirmektedir. Ayrıca, çiğ sütün başlangıç pH değeri *S. aureus* ve diğer stafilocokların üremesine olanak vermekle beraber, uygun olmayan koşullarda mikroorganizma üremeleri pH'nın düşmesine neden olur. Bu durumda *S. aureus* ve diğer stafilocokların üremesi baskılanabilir. Ayrıca, çiğ sütün kendi inhibitörük maddeleri de etkili bir diğer faktörü oluşturur. Diğer bir neden ise peynir içeriğindeki tuz konsantrasyonu olduğu düşünülmektedir. Etken tuza karşı son derece toleranslı olup, %10 hatta %20 tuz konsantrasyonlarında bile üreyebilmektedir. Peynir örneklerinde olduğu gibi tuz konsantrasyonunun artmasının *S. aureus*' un gelişmesini hızlandırdığı, buna karşın rekabetçi florayı baskıladığı bildirilmiştir. Isıl işlem uygulanmış peynirlerde ise rekabetçi floranın elimine olması ve üretim aşamasında çapraz kontaminasyon da nedenler arasında sayılabilir (11, 14, 24, 28, 32). Yapılan çalışmalarda peynir üretimi sırasında *S. aureus*'un peynir yapımının erken aşamasında yüksek konsantrasyona ulaştığı bildirilmiştir. Peynir yapımının erken aşamalarında enterotoksijenik *S. aureus* çok fazla sayıda ürediğinde, enterotoksinler şekillenebilir. Peynirlerin olgunlaşması ve depolanması aşamalarında stafilocok sayılarında bir azalma

meydana gelse bile enterotoksinler kalabilir ve böyle peynirler tüketilebilir. Bu nedenle peynir yapımını takiben iki gün veya daha sonraki günlerde *S. aureus*'un SE yönünden analiz edilmesi önerilmektedir (12, 24).

Peynirlerden kaynaklanan stafilocokal gıda zehirlenmeleri tüm dünyada yaygın olarak karşılaşılan önemli bir sorun olmasının nedenleri arasında yukarıda bildirilen faktörler dışında *S. aureus* içeren sütlerin pastörize edilmeden kullanılması, starter kültür aktivitesinin yetersiz olması, sütün pastörizasyon sonrası kontaminasyonu ve uygun olmayan şartlarda depolanması gibi nedenler de sayılabilir. Peynir yapımında kullanılan starter kültür peynirin asitliğini ilerletmesi ve buna bağlı olarak pH'sını düşürmesi, besin elementlerini tüketmesi ve nisin başta olmak üzere ürettikleri bakteriyosinler *S. aureus* başta olmak üzere stafilocokların üremesini baskılayabilmektedir (14, 28).

Türkiye dahil dünyanın çeşitli ülkelerinde süt ve çeşitli tip peynirlerde *S. aureus* varlığı ve SE oluşturma özellikleri ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmaların birinde Normanno ve ark. (23), 1634 adet et ve süt ürünü örneğinde *S. aureus* ile ilgili çalışmalarında, örneklerin 209'unda (%12,8) *S. aureus*'u izole ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar izolatların 125'inin enterotoksijenik karakterde olduğunu ve izolatların doğal kaynağının %50,4 düzeyinde insan, %23,2'sinin koyun, %7,2'sinin sığır, %1,6'sının kanatlı ve %17,6'sının ise konak spesifik olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar aynı çalışmalarında, *S. aureus* izolatlarından %68,8'inin en az bir antibiyotiğe karşı direnç geliştirdiğini ve insan orijinli izolatların

ise diğer izolatlarla göre çoklu antibiyotik dirençliliği gösterdiklerini tespit etmişlerdir.

Başka bir çalışmada Pereira ve ark. (25), değişik gıdalardan (fermente et ürünleri, çiğ et, peynir, mastitisli süt, çiğ inek sütü vb) izole ettikleri 148 koagülaz pozitif stafilocok izolatlarının %69'unun bir veya birden fazla enterotoksin geni taşıdığını tespit etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar çalışmalarında izolatların %38'inin oksasiline dirençli olduğunu ve %0,68'inin ise *mecA* geni taşıdığını bildirmişlerdir.

Rosec ve ark. (27), değişik gıdalardan izole ettikleri 332 stafilocok izolatında PZR yöntemi ile stafilocokal enterotoksin (*seg, seh, sei, sej*) genlerini %57 oranında saptadıklarını bildirmişlerdir.

Türkiye'de çeşitli peynir örneklerinde bu konu ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların birinde Küplülü ve ark. (20), Ankara'da halkın tüketimine sunulan toplam 214 adet peynirin stafilocokal enterotoksin içeriklerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında, analiz edilen tulum peynirinin %24,3, beyaz peynirin %19,5 ve kaşar peynirinin ise %5,5 oranında enterotoksijenik stafilocok türleri ile kontamine olduğunu tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Demirel ve Karapınar (9) ise İzmir ilinde satışa sunulan çeşitli firma ve mandıralara ait beyaz, kaşar, tulum ve Van otlu peynirlerinde stafilocokal enterotoksin içeriğini incelemişlerdir. Yapılan analizler sonucunda örneklerde en çok tespit edilen enterotoksin tipinin %58,8 oranıyla SEA olduğu, bunu sırasıyla SEB (%41,2), SEC (%11,8) ve SED (%5,9)'in izlediğini bildirmişlerdir.

İzmir'de yapılan başka bir çalışmada ise Bilge ve Karaboz (8), peynir örneklerinde *S. aureus* düzeylerini $<1,0 \times 10^2$ - $1,0 \times 10^3$ kob/g ve

kremalı pasta örneklerinde $<1,0 \times 10^2$ - $4,8 \times 10^5$ kob/g arasında bulunduğu, izole edilen *S. aureus* izolatlarının A, B, C, D enterotoksinleri üretme yeteneğinde olduklarını saptamışlardır.

Yücel ve Anıl (33) Ankara ve çevresinde tüketime sunulan çiğ süt (n=190) ve peynir örneklerinden (n=90) stafilocok türlerinin dağılımı ile çeşitli antibiyotiklere direnç profillerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, örneklerden toplam 330 stafilocok izolatı elde edildiğini, çiğ süttten izole edilen toplam 244 izolatın 157'sini KPS, 87'sini koagülaz negatif stafilocok (KNS) olarak tanımlandığını, peynir örneklerinden izole edilen toplam 87 izolatın ise 79'unu KPS olarak tanımlanmış olduğunu bildirmişlerdir. KPS'leri aynı zamanda tür düzeyinde de tanımlayan araştırmacılar, çiğ süt örneklerinde *S. intermedius*'un (n=63) predominant tür olduğunu, bu türü *S. aureus*'un (n=55) izlediğini, peynir örneklerinde de *S. intermedius*'un predominant serotip olduğunu, bunu *S. hyicus* (n=17) ve *S. aureus*'un (n=16) izlediğini bildirmişlerdir.

Başka bir çalışmada Ünal ve Yıldırım (31) Kırıkkale ve çevresindeki süt işletmelerinden, bu bölgedeki ineklerin meme başı derisi ile burun mukoza örneklerinden izole edilen stafilocok izolatlarının %48'ini *S. aureus* olarak tanımlanmış olduğunu bildirmişlerdir.

Kurşun ve ark. (19) Burdur'da yaptıkları bir çalışmada tüm salamura beyaz peynir örneklerinin mikrobok/stafilocoklarla kontaminasyon oranının 10^3 - 10^6 kob/g arasında değiştiği ve örneklerin % 20'sinde 10^6 kob/g düzeyinde olduğunu bildirmişlerdir. KPSS ise salamura beyaz peynir örneklerinin % 44'ünden tanımlanmış olduğunu bildirmişlerdir.

Gökmen ve ark. (15) Konya'da beyaz peynir üretimi yapan dört firmadan çiğ süt, pastörize süt, beyaz peynir, personel ve farklı ekipmanlardan olmak üzere toplam 640 örneğin analiz edildiğini, elde edilen stafilocok izolatların 144'ünü KPS ve 181'ini KNS olarak tespit edildiğini ve KPS türleri içinde *S. aureus* ve *S. intermedius* baskın tür olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir. Çalışmalarında, personel elinden alınan svap örneklerindeki kontaminasyon düzeyinin, üretimde kullanılan ekipmanlardan daha yüksek olduğu bulunmuştur. Tüm süt ve peynir örneklerinde stafilocok enterotoksin düzeyi tespit edilebilir düzeyin altında bulunmuştur.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde (30) peynir ve süt örneklerinin KPS ile kontaminasyon düzeylerini 10^2 (m) - 10^3 (M) koloni oluşturan birim (kob)/g-ml olarak belirtilmiştir. Analiz edilen örnekler bu yönetmeliğe uygunluk yönünden değerlendirildiğinde 11 (%17,32) peynir örneğinin ve 2 (%4) çiğ süt örneğinin KPS yönünden Türk Gıda Kodeksi'ne belirtilen maksimum kontaminasyon düzeylerinin üzerinde olduğu ve bu açılardan kodekse uygun olmadığı saptanmıştır.

Sonuç olarak, gıda kaynaklı intoksikasyon oluşabilmesi için stafilocokların gıdalarda hem üremesi hem de toksin üretmesi gerekmektedir. Enterotoksin üretimi üremeye oranla daha sınırlıdır. Peynir ve çiğ süt örneklerinde olduğu gibi gıdanın tipine, pH, sıcaklık, su aktivitesi, atmosferik koşullar ve diğer mikroorganizmaların varlığına bağlı olarak farklı tipte SE'ler gıdalarda üretilebilir. Yukarıda yer alan örnekler ve gıda zehirlenme örneklerinde görüldüğü üzere peynir örneklerinde enterotoksin üretme yeteneğine sahip stafilocok türlerinin tespit edilmesi

üretimde sanitasyon eksikliğini ve halk sağlığı içinde bir risk oluşturduğunu göstermektedir. Bu nedenlerle; başta SE'ler olmak üzere pek çok gıda zehirlenmelerinin önlenmesine yönelik tedbirler arasında, peynir üretiminde ham madde olarak ısıtılmış sütlerin kullanılması, starter kültür kullanılması ve üretim aşamasında meydana gelebilecek çapraz kontaminasyonları önlemeye yönelik tedbirler alınmasını sayabiliriz. Bunların yanı sıra, başta çocuklar olmak üzere tüketicilerin çiğ süt tüketmelerinin önlenmesi de önemlidir.

Teşekkür

Bu çalışmaya (FMB-BAP-012-040) maddi destek sağlayan Amasya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. **André MCDPB, Campos MRH, Borges LJ, Kipnis A, Pimenta FC, Serafini ABC** (2008): *Comparison of Staphylococcus aureus isolates from food handlers, raw bovine milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsed-field gel electrophoresis following Smal digestion*. Food Control, **19**, 200–207.
2. **Anonymous** (2001): *Staphylococcus food poisoning in Japan*. IARS, **22**, 185-186. Erişim: www.idsc.nih.go.jp.
3. **Asao T, Kumeda Y, Kawai T, Shibata T, Oda H, Haruki K, Nakazawa H, Kozaki S** (2003): *An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk*. Epidemiol Infect, **130**, 33-40.
4. **Atanassova V, Meindl A, Ring C** (2001): *Prevalence of Staphylococcus aureus and staphylococcal enterotoxins in raw pork and uncooked smoked ham—a comparison of clas-*

sical culturing detection and RFLP-PCR. Int J Food Microb, **68**, 105–113.

5. Balaban N, Rasooly A (2000): *Staphylococcal enterotoxins*. Int J Food Microbiol, **61**, 1-10.

6. Bergdoll MS (1989): *Staphylococcus aureus*. 463-523. In: Doyle MP (Ed): Foodborne bacterial pathogens. Marcel Dekker, Inc., New York.

7. Beuvier E, Buchin S (2004): *Raw milk cheeses*. 319–345. In: Fox PF, McSweeney PLH, Cogan TM, Guinee TP (Eds.) Cheese: chemistry, physics and microbiology. Elsevier Academic Press, Amsterdam.

8. Bilge F, Karaboz İ (2005): *İzmir 'de Piyasada Açıkta Satışa Sunulan bazı Gıdaların Staphylococcus aureus ve Enterotoksinleri Bakımından İncelenmesi*. Orlab On-Line Mik Derg **03(6)**, 6. Erişim: www.mikrobiyoloji.org/pdf/702050601.pdf

9. Demirel NN, Karapınar M (2004): *Incidence of Staphylococcus aureus and its enterotoxins in various cheeses sold at retail markets of Izmir city*. Akademik Gıda, **2** (10), 25-28.

10. Doyle ME, Hartmann FA, Lee Wong AC (2012): *Methicillin-resistant staphylococci: implications for our food supply?* Anim Health Res Rev, **13(2)**, 157-80.

11. Erol İ (2007): *Gıda Hijyeni ve Kontrolü*. Pozitif Matbaacılık Ltd. Şti., Yenimahalle, Ankara. 135-144.

12. European Commission (EC) (2003): *Health & Consumer Protection Directorate-General. Opinion Of The Scientific Committee On Veterinary Measures Relating To Public Health On Staphylococcal Enterotoxins in Milk Products, Particularly Cheeses*. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/out61_en.pdf. Erişim tarihi: 21.01.2016

13. Food and Drug Administration U.S. (FDA) (2001): *Saphylococcus aureus*, Chapter 12. In Bacteriological Analytical Manual Online. <http://www.cfsan.fda.gov>. Erişim Tarihi: 20 Ocak 2009.

14. Gomez-Lucia E, Goyache J, Orden JA, Domonech A, Hernandez JF, Quiteria RJA, Lopez B, Blanco JL, Suarez G (1992): *Growth of Staphylococcus aureus and synthesis of enterotoxin during ripening of experimental Manchego-type cheese*. J Dairy Sci, **75** (1), 19-26.

15. Gökmen M, Gürbüz Ü, Torlak E, İnal M (2013): *Identification of Staphylococcus spp. Isolated in Different Production Stages of White Cheese and Detection of Enterotoxin*. Kocatepe Vet J, **6(2)**, 7-11.

16. Harris TO, Grossman D, Kappler JW, Marrack P, Rich RR (1993): *Lack of complete correlation between emetic and T-cell-stimulatory activities of staphylococcal enterotoxins*. Infect Immun, **61**, 3175-3183.

17. Jay J, Loessner MJ, Golden DA (2005): *Staphylococcal Gastroenteritis*. Seven Edition. Springer Science+Business Media Inc. In: Modern Food Microbiology (Chapter 23)

18. Krakauer T (1999). *Immune response to staphylococcal superantigens*. Immunol Res, **20**, 163-173.

19. Kurşun Ö, Kırdar SS, Akcan Kale AS, Güner A (2008): *Burdur 'da Tüketime Sunulan Beyaz Salamura Peynirlerin Mikrobiyolojik Kalitesinin Belirlenmesi*. Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs, Erzurum, 2008.

20. Küplülü Ö, Sarımehmetoğlu B, Çelik TH (2004): *Determination of the enterotoxigenicity of coagulase positive staphylococci isolated from cheese by ELISA*. Milchwissenschaft, **59** (1/2), 17-19.

21. Le Loir Y, Baron F, Gautier M (2003): *Staphylococcus aureus and food poisoning*. Gen Mol Res, **2**, 63–76.

- 22. Martin SE, Iandolo JJ** (2000): *Staphylococcus*. In: Robinson, R.K., Batt, C.A., Patel, P.D. (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology*. Academic Press, pp. 2062 – 2065.
- 23. Normanno G, Corrente M, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia NC, Parisi A, Greco G, Bellacicco AL, Virgilio S, Celano GV** (2007): *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in foods of animal origin product in Italy*. *Int J Food Microbiol*, **117**, 219-222.
- 24. Paulin S, Horn B, Hudson AJ** (2012): *Factors influencing staphylococcal enterotoxin production in Dairy Products*. New Zealand Ministry for Primary Industries, Wellington. Erişim: <http://www.foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/factors-staphylococcal-enterotoxin-dairy.pdf>
- 25. Pereira V, Lopes C, Castro A, Silva J, Gibbs PT** (2009): *Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of staphylococcus aureus isolates from various foods in portugal*. *Food Microbiol*, **26**, 278-282.
- 26. Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE** (2010): *Staphylococcal enterotoxins*. *Toxins* **2**, 2177–2197.
- 27. Rosec JP, Guiraud JP, Dalet C, Richard N** (1997): *Enterotoxin production by staphylococci isolated from foods in France*. *Int J Food Microbiol*, **35** (3), 213-221.
- 28. Santos EC, Genigeorgis C** (1981): *Survival and growth of Staphylococcus aureus in commercially manufactured Brazilian Minas cheese*. *J Food Protect*, **44** (3), 177-184.
- 29. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM** (2011): *Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens*. *Emerg Infect Dis*, **17**, 7–15.
- 30. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği** (2011): Resmi Gazete Tarihi: 29.12.2011 Resmi Gazete Sayısı: 28157 (3.mükerrer). Erişim: <http://mevzuat.basbakanlik.gov.tr/Metin.aspx?MevzuatKod=7.5.15690&sourceXmlSearch=g%C4%B1da&MevzuatIliski=0>. Erişim Tarihi: 20.01.2016.
- 31. Ünal N, Yıldırım M** (2010): *İneklerin süt, meme başı derisi ve burun mukozalarından izole edilen stafilocok türlerinin antibiyotik direnç profilleri*. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, **16** (3), 389-396.
- 32. Ünlütürk A, Üçüncü M, Turantafl F, Öztürk GF** (1991) *Beyaz peynirlerde Staphylococcus aureus ve Salmonella typhimurium'un canlı kalma olasılığı*. *Ege Üni Müh Fak Derg*, **9** (1), 99-114.
- 33. Yücel N, Anıl Y** (2011): *Çiğ sütve peynir örneklerinden Staphylococcus aureus ve koagulaz negatif stafilocokların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılığı*. *Türk Hij Den Biyol Derg*, **68** (2), 73-78.

Geliş Tarihi: 27.01.2016 / Kabul Tarihi: 29.02.2016

Yazışma adresi:

Prof. Dr. Belgin SIRIKEN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Veteriner Fakültesi

Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı

Kurupelit Kampüs Atakum Samsun, Türkiye

bsiriken@yahoo.com