



HAZIR YEMEKLERİN *Staphylococcus aureus* VE ENTEROTOKSİN İÇERİĞİ AÇISINDAN RİSK DEĞERLENDİRMESİ

Özlem ASLAN¹

ÖZET

Hazır yemek sektöründen temin edilen gıdaların tüketiminin artmasıyla birlikte gıda zehirlenme olguları da artış göstermektedir. *Staphylococcus aureus*, enterotoksijenik stafilokoklar içerisindeki en önemli tür olup, enterotoksinleri; bir çok ülkede gıda zehirlenmesi (intoksikasyonu) olgularına neden olan ikinci veya üçüncü patojen olarak dikkat çekmektedir.

Bu çalışmada; hazır yemek sektöründen alınan örnekler (108 numune) *S.aureus* ve enterotoksin içeriği bakımından incelenmiştir. Ayrıca; örnekler işletmenin hijyen durumunu belirlemek amacıyla, koliform ve *E.coli* açısından da irdelenmiştir. Mevsimsel sıcaklık farkının son ürünün mikrobiyal durumuna etkilerini gözlemlemek amacıyla çalışma, 3 farklı zaman diliminde yapılmıştır.

Çalışılan toplam 108 örneğin 15 adedinde *S.aureus*, 21 adedinde koliform bakteri ve 3 adedinde de *E.coli* pozitif olarak saptanmıştır. Örneklerin hiçbirinde enterotoksin varlığı tespit edilmemiştir.

Anahtar Kelimeler: *Staphylococcus aureus*, koliform, gıda zehirlenmeleri, enterotoksin, mikrobiyoloji, hazır yemek, Vidas

DETERMINATION OF RISK FACTORS FOR *Staphylococcus aureus* AND ENTEROTOXIN PRESENCE IN CONVENIENCE FOODS

ABSTRACT

Increased consumption of foods coming from convenience food sector ,results the boom in food poisoning cases. *Staphylococcus aureus* is the most important species in the enterotoxigenic *Staphylococcus*. In many countries its toxins are considered as the second or third factor of food intoxication.

In this study, the samples taken from catering sector (108 units) were analysed for *Staphylococcus aureus* and its toxin agent. In addition, the samples in order to determine the status of the firm hygiene, were analysed in terms of coliform and *E.coli*. Samples were analysed for *Staphylococcus aureus* and its toxins. The effect of seasonal differences on the microbiological conditions of final product were inspected.

According to the analyses results, *S.aureus* in 15 samples, coliform bacteria in 21 samples and *E.coli* in 3 samples were detected. The presence of enterotoxin was not detected in any of the samples

Keywords: *Staphylococcus aureus*, coliform, food poisoning, enterotoxin, microbiology, ready-to-eat food, Vidas

1. GİRİŞ

Sağlıklı, yeterli ve dengeli beslenme; bireylerin büyüme ve hayatlarının idamesi için, hammaddeden başlayarak sağlıklı olarak elde edilen gıda maddelerinin tüketilmesi ile olur. Yemekler önceleri çoğunlukla evlerde hazırlanmaktayken, günümüz koşullarında kentleşme, artan sanayileşme, çalışan kadın nüfusundaki yoğunluk, beraberinde ev dışı ortamlarda hazır yemek tüketimi artışını da getirmiştir. Gıdaların hijyenik olmayan ortam ve koşullarda bekletilerek servise sunulma olasılığının insanlar için önemli bir hastalık riski oluşturabileceği göz ardı edilmemelidir. Dünyada hastalık yükünün önemli bir bölümünü gıda kaynaklı mikrobiyal hastalıklar oluşturmaktadır. Tüm dünya nüfusu içinde her yıl büyük çoğunluğu çocuklar olmak üzere yaklaşık 2,2 milyon kişi gıda ve su kaynaklı hastalıklar nedeniyle yaşamını yitirmektedir ([http://www.phd.org.tr/14 kongresunum](http://www.phd.org.tr/14kongresunum), 2009). CDC'nin (Central for Disease Control and Prevention) verilerine göre 2008 yılında eyaletlerden toplam 1034 gıda kaynaklı hastalık salgını bildirilmiş; bu salgınlarda 23152 hastalık vakası görülmüş, 1276'sı hastaneye yatırılmış ve 22 ölüm meydana gelmiştir (CDC, 2011).

Gıda kaynaklı hastalıkların sonuçları, sadece sağlık sorunları olmayıp, bunun yanında ciddi işgücü kaybı oluşturmakta ve mali bilançosu da yüksek bir biçimde kendini göstermektedir. Amerika'da 1995 yılında 7 farklı patojenin neden olduğu gıda kaynaklı enfeksiyon maliyetinin 6,5- 35 milyon dolar arasında olduğu tahmin edilmektedir. 1996 yılında İngiltere'de 5 farklı gıda salgınının maliyeti ise 300- 700 milyon sterlin olarak kayıtlara geçmiştir ([http://www.phd.org.tr/14 kongresunum](http://www.phd.org.tr/14kongresunum), 2009).

Gıda kaynaklı hastalıkların sebebi genellikle patojenik mikroorganizmalar veya toksinleri ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesidir. Çoğunlukla gastrointestinal semptomlarla kendini gösterirler. Gıda kaynaklı hastalıklar; gıda enfeksiyonu ve intoksikasyonu olmak üzere iki ana koldan incelenmektedir. Gıda enfeksiyonlarında hastalık etmeni; gıda ile alınan patojen hücrenin kendisi, intoksikasyonda ise patojen hücrenin salgıladığı toksindir. Bu nedenle gıda zehirlenmelerinin oluşumunda enterotoksin ihtiva eden besinlerin tüketilmesi önemli rol oynamaktadır (Jay 1992, Rosec ve ark. 1997). Hazır yemek sektöründe üretilen gıdalar; tüketim - servis arası bekleme zorunluluğu, bekleme süresinde uygun koşulların sağlanamaması (4-46°C'lerde bekletme), nakliye ve servis koşullarındaki uygunsuzluklar sebebiyle risk oluşturmaktadır. Tüm üretim koşullarında; mevsimsel değişimler mikrobiyal yük içeriğinde farklı etkiler gösterebilmektedir.

Gıda kaynaklı hastalıklara neden olan mikroorganizmaların başında *Salmonella* türleri, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, enterovirulent *E.coli*, *Campylobacter jejuni* ve *Listeria monocytogenes* gelmektedir. Bununla birlikte bu patojenler, gıda kaynaklı hastalıkların toplam tahmini sayısının ancak %19'dan sorumlu bulunmuştur (Ünlütürk ve Turantaş 2003). *S. aureus* 'un neden olduğu intoksikasyon tipi gıda zehirlenmeleri dünya çapında en yaygın olarak görülen gastroenteritlerden birisi olup; zehirlenmelerde 2. yada 3. sırayı almaktadır (Zhang ve ark. 1998). Gıda kaynaklı mikrobiyolojik hastalıklar içinde stafilokokal gıda zehirlenmeleri payının Amerika'da %14, Macaristan'da % 40 ve Japonya'da %20-25 olduğu tahmin edilmektedir (Tükel ve Doğan 2000).

Micrococcaceae familyasında yer alan *Staphylococcus* cinsinin üyesi olan *S. aureus* insanlarda gıda zehirlenmelerinde en önemli etkenlerden biridir (Tunail 2000). Bu bakteri, insanlarda gıda zehirlenmelerinin yanı sıra septisemi, toksik şok sendromu (TSS), otoimmün hastalıklar ve süt ineklerinde mastitise neden olur (Stevens 2007-Omoe ve ark 2004). *S. aureus* suşları; yüksek toksisiteli, basit protein yapısındaki ve bağırsaklarda etkili olan enterotoksinleri oluşturarak intoksikasyonlara neden olmaktadır. Güven ve ark. et ve süt ürünleri ile yaptığı bir çalışmada; 413 adet örneğin 138'inin *S.aureus* içerdiğini ve tespit edilen suşların %60'ının da bir yada daha fazla toksin oluşturma yeteneğinde olduğunu raporlamışlardır (Güven ve ark. 2010). Başka bir çalışmada ise; farklı gıdalardan izole edilmiş 148 adet *S.aureus* suşunun 101 (%68.2)'inin toksin oluşturacak gen taşıdığı belirtilmiştir (Periera ve ark. 2009). *S. aureus* enterotoksinleri ısıya karşı çok dirençlidir. Tibana ve ark. (1987) tarafından yapılan bir çalışmada; SEA ve SEB toksinlerinin 100°C 90 dak. ya da 120°C 30 dak. ısısal işleme, SEC toksininin de 100°C' de 180 dak. ya da 120°C ' de 60 dak. tamamen inaktif olduğu belirlenmiştir (Tibana ve ark 1987). Sonuç olarak, normal pişirme ve pastörizasyon normları toksin inaktivasyonuna yeterli gelmemektedir ve pişirme öncesi toksin oluşumu önlenememiş ise gıda zehirlenmesi kaçınılmazdır.

Gıdalarda yüksek *S. aureus* sayısı hem işletmedeki yetersiz sanitasyon koşullarının göstergesi olması sebebiyle, hem de enterotoksin içerme ihtimalinin fazlalığı sebebiyle çok büyük önem arz eder. Pişirilme öncesi gıdaya mevcut bir *S. aureus* kontaminasyonu oluşmuş ve uygun koşulların sağlanması ile 10⁵- 10⁶ kob/g-mL bakteri yüküne ulaşılmış olup toksin sentezlenmiş olabilir. Bu aşamada gıdaya uygulanacak ısısal işlem, inhibitör madde ilavesi ya da su aktivitesini düşürmeye yönelik vb. işlemler üründe mevcut *S. aureus* 'ların ölmesine sebep olmuş olabilir. Ancak gıda içindeki toksinler ısı ile yok edilmezler. Gıdanın tüketimi öncesi yapılacak analizde; gıdada *S. aureus* negatif olarak saptanabilir. Bu noktada temiz olarak değerlendirilen gıda, tüketildiğinde ciddi

intoksikasyonlara sebep olabilir (Ünlütürk ve Turantaş 2003). Dolayısı ile bir gıdanın *S. aureus* açısından incelenmesi durumunda olası koşullar nedeni ile (ısıtım işlemi, soğukta saklanma vb.) mutlaka toksin mevcudiyeti de aranmalıdır.

El ile teması fazla olan, pişirilmiş ve tüketime dek bekleme süresi olan gıdalar *S. aureus* açısından risk teşkil eder. Wieneke'nin (1974) çalışmasında; pişirilmiş gıdada enterotoksijenik suşların bulunma sıklığının çiğ gıdaya kıyasla daha fazla olduğu ispatlanmıştır ve bunun nedeninin de; pişirme işlemi sonrası gıdaya insan kaynaklı bir kontaminasyonun olduğu ve insan kaynaklı suşların hayvan ve çevresel kaynaklara nazaran daha enterotoksijenik özellikte olduğu belirtilmiştir (Wieneke 1974).

Bir işletmede hijyen koşulları değerlendirilirken koliform ve *E. coli* bakteri sayısı en önemli göstergedir. Çünkü; koliform bakterilerin; doğada yaygın olarak bulunması, insan ve hayvan vücudu dışında üreyebilmesi ve bazı suşlarının fekal orjinli olmaması nedeniyle sanitasyon indikatörü olarak bilinirler. Gıdada koliform bakterilerin bulunması; kötü sanitasyon koşullarının, yetersiz ve yanlış pişirme işleminin uygulandığının ya da pişirme sonrası tekrar bulaşma olduğunun göstergesi olarak kabul edilir. Fekal koliform bakteriler ise doğal olarak insan ve sıcak kanlı hayvanların bağırsaklarında yaşarlar. Bu nedenle fekal kontaminasyonu göstermeleri dışında işletmedeki hijyen ve sanitasyon uygulamalarının etkinliğini göstermeleri açısından da önem taşırlar. Fekal koliform grubunun çoğunluğunu *E.coli* oluşturmaktadır. Herhangi bir gıdada yüksek düzeyde *E. coli* varlığı gıdanın uygun olmayan ya da yetersiz hijyen koşullarında üretildiği konusunda kesin bir fikir verir ve aynı zamanda gıdanın patojen ve toksijenik mikroorganizmalarla kontamine olabileceğinin bir göstergesidir.

2.MATERYAL VE METOT:

2.1 Materyal

S. aureus ve toksinleri açısından riskli olabileceği düşünülen 4 yemek türü (ızgara tavuk, köfte, sütlü tatlı ve rus salatası) seçilmiştir. Örnekler 3 farklı zaman diliminde (Temmuz, Aralık, Nisan) alınmış ve *S.aureus* ve enterotoksinleri açısından eşzamanlı incelenmiştir.

2.2 Metot

2.2.1 *S.aureus* sayımı : *S.aureus* aranması FDA,BAM, 2001 (Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manuel) metoduna uygun olarak gerçekleştirilmiştir. 10 g örnek 10^2 - 10^3 adet/mL olacak şekilde dilüsyonları hazırlanmış ve egg yolk tellurite supplementli Baird Parker Agar (BPA, Oxoid CM0275) besiyerine ekim yapılmıştır. Drigalski spatülü ile yayılan petriyerler 35-37°C'de 48 saat inkübasyona (Thermo Hereaus UB20) bırakılmıştır (Halkman 2005).

İnkübasyon süresinin sonunda tipik koloniler sayılmış ve bunlardan gram boyama yapılmıştır. Ayrıca mikroskopik görünüm ile doğrulama yapılmıştır (Halkman 2005). Koagülaz-pozitif *S.aureus* tespiti için tavşan plazma serum testi yapılmıştır. Bu amaçla; 0,3 mL Brainheart infusion broth (Oxoid CM0225) içeren tüplere şüpheli *S. aureus* kolonileri inoküle edilip ve 35°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası elde edilen kültürden 0,1 mL alınarak içerisinde 0,3 mL tavşan plazması (Merck Bactident Coagulase 111306) bulunan küçük test tüpüne aktarılmıştır. Steril Brainheart infusion broth'dan 0,1 mL alınarak aynı işlem negatif kontrol amacıyla uygulanmıştır. Bu tüpler 35-37°C'de 4-6 saat inkübasyon sonrası pıhtılaşma olup olmadığı yönünden kontrol edilmiştir (FDA, BAM, 2001). Biyokimyasal tanımlama için Api (Biomerieux REF20) ya da ViteckII (Biomerieux, 21342) cihazı kullanılmıştır.

2.2.2 *S.aureus* enterotoksinlerinin saptanması: Toksinlerin saptanması için VIDAS Staph enterotoksin II (SET2; biomerieux. REF 30 705) enzim bağlantılı floresans analiz tekniği (AOAC 070404/2007:06) kullanılmıştır. Mevcut toksinlerin saptanması için örneklerin cihaza verilmesinden önce ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. Gıda ekstraksiyonunda kullanılan tampon, kit içinde verilmiş olan çözeltinin steril su ile seyreltilmesiyle hazırlanmıştır.

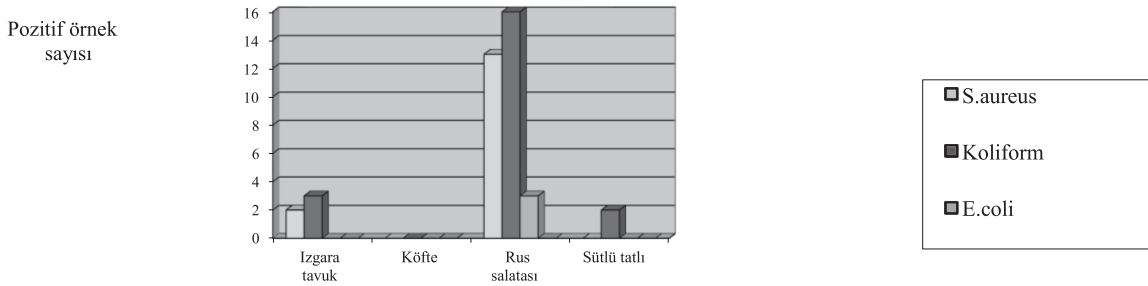
Ekstraksiyon işleminde 25 g örnek stomacher torbası içine alınmış, 25 mL ekstraksiyon tamponu ile seyreltilmiş ve homojen bir süspansiyon elde etmek için bagmiksör (Interscience B6) kullanılarak 3 dakika yüksek hızda karıştırılmıştır. Homojenize hale getirilen gıda süspansiyonu, 15 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 3000-5000g'de 15 dakika santrifüjlenmiştir (Sigma 2 -16). Üst faz, şırınga içine yerleştirilmiş pamuktan geçirilerek süzülmüştür. Filtrat cihaza verilmeden önce, pH değeri 1N NaOH kullanılarak pH metrede (WTW pH330i) 7,5-8,0 arasına ayarlanmıştır. Filtratın 500 µL'si alınarak VIDAS SET2 Reaktif sribinin (10 kuyucuktan oluşmakta ve test için gerekli reaktifleri içermektedir) numune kuyucuguna pipetlenmiştir. Gıda ekstraktının pipetlendiği srib ve katı faz sağlayıcı (SPR) cihaza yerleştirilmiştir. Testin tüm aşamaları cihaz tarafından otomatik olarak gerçekleştirilmiş ve 80 dakika sonra test sonuçları toksin var-yok şeklinde raporlanmıştır.

2.2.3 Koliform sayımı: Koliform analizi FDA, BAM, 2002 (Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual) metoduna uygun olarak gerçekleştirilmiştir. 10 g gıda örneği aseptik koşullarda stomacher poşetine alınıp, üstüne 90 mL buffered pepton water eklenerek stomacherda çalkalanarak, homojenize edilen karışımdan 1'er mL alınıp, 9 mL ile seyreltilerek dilüsyonları hazırlanmıştır. Dilüsyonlardan 1'er mL alınarak Violet Red Bile agara (VRBA) çift katlı dökme plak ekim yapılmıştır. 37°C'de 24-48 saat inkübasyon sonrası kırmızı-viyole zonlu koloniler tipik olarak tespit edilerek ve biyokimyasal tanımlanması yapılmıştır (FDA, BAM 2002).

2.2.4 E.coli sayımı: *E. coli* analizi National standart Methods (2005)' e göre yapılmıştır. Uygun koşullarda dilüsyonu hazırlanmış örnekten TBX (Tryptone Bile X-Glucuronide) agara ekim (0.5 mL yayma plak) yapılarak 30° C' de 4 saat + 44° C' de 24 saat inkübasyonu sonrası yeşil renkli koloniler tipik olarak saptanmıştır. Tipik kolonilerden gram boyama yapıldıktan sonra (pembe renkli basiller), biyokimyasal tanımlama yapılmıştır (National Standart Method-2005).

3.BULGULAR VE TARTIŞMA

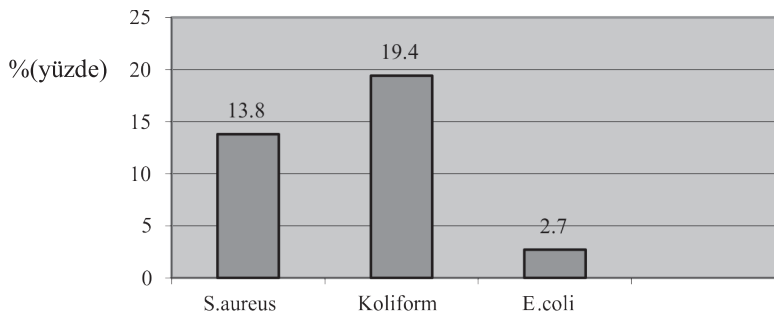
Proje süresince 27 ızgara tavuk, 27 köfte, 27 rus salatası ve 27 sütlü tatlı olmak üzere toplam 108 adet örnek analize alınmıştır. Yapılan analizlerde 15 örnekte *S.aureus* (maksimum $3,0 \times 10^2$ kob/g), 21 örnekte koliform bakteri (maksimum $8,0 \times 10^1$ kob/g) ve 3 örnekte de *E.coli* (maksimum 40 kob/g) varlığı tespit edilmiştir. Örneklerin hiçbirinde enterotoksin varlığı saptanamamıştır. Örneklerdeki *S.aureus* ve enterotoksinleri, koliform, *E.coli* sonuçlarının dağılımları Şekil 1' de sunulmuştur.



Şekil 1. Toplam örnek sayısına göre sonuçların dağılımı

Şekil 1 incelendiğinde çalışılan 4 farklı örnek grubu içinden (ızgara tavuk, köfte, rus salatası, sütlü tatlı) rus salatası örnekleri *S.aureus* (maksimum $3,0 \times 10^2$ kob/g), koliform (maksimum 80 kob/g) ve *E.coli* (maksimum $4,0 \times 10^1$ kob/g) açısından kontaminasyon oranı en fazla olan grubu oluşturmaktadır. Ayrıca *E.coli* (maksimum $4,0 \times 10^1$ kob/g) varlığının tespit edildiği tek örnek grubu da rus salatasıdır. Izgara tavuk örneklerini ise her ne kadar *E.coli* varlığı saptanamamış olsa da *S.aureus* (maksimum 90 kob/g) ve koliform bakteri (maksimum $5,0 \times 10^1$ kob/g) içerikleri ile mikrobiyel kirlilik açısından 2. sırayı almaktadır. Sütlü tatlı örnekleri, sadece 2' sinde koliform (maksimum $7,0 \times 10^1$ kob/g) saptanması dışında diğer parametreler açısından temiz olarak değerlendirilmiştir. Çalışılan köfte örneklerinin hiçbirinde kontaminasyon tespit edilememiştir. Tüm örnekler rus salatası (*E.coli* saptanan 3 adedi) hariç Türk Gıda Kodeksi, Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (29.12.11/28517)' ne göre uygun olarak değerlendirilmiştir.

Şekil 2' de toplam örnek sayısına göre sonuçların yüzde dağılımları verilmiştir.



Şekil 2. Toplam örneklere göre sonuçların yüzde dağılımları

Şekil 2 incelendiğinde; çalışılan toplam 108 örneğin %13,8'inin *S.aureus* (maksimum $3,0 \times 10^2$ kob/g), %19,4' ünün koliform bakteri ($8,0 \times 10^1$ kob/g), %2,7' sinin *E. coli* ($4,0 \times 10^1$ kob/g) ile kontamine olduğu görülmektedir. İzmir'de yapılmış bir çalışmada peynir, kremalı pasta, kıyma, et ürünleri *S. aureus* içeriği açısından incelenmiş ve 45 gıda örneğinden 34' ünün (%75,6) Türk Gıda Kodeksine göre *Staphylococ* ve *S.aureus* içeriği ($1,0 \times 10^2 - 3,0 \times 10^6$ kob/g) bakımından uygunsuz olduğu bildirilmiştir. Gıdalar içinden *S. aureus* içeriği bakımından en fazla kontaminasyon düzeyinin de et grubuna ait olduğu bildirilmiştir (Bilge ve Karaboz 2005). Bir başka çalışmada, Ayçiçek ve ark.(2003) ise inceledikleri çorba örneklerinin % 2,1'inde $10^2 - 10^3$ kob/g seviyelerinde *koagulaz* (+) *S. aureus* bulmuşlardır. Buna benzer bir çalışmada ise üniversite kantinlerinden alınan sandviç ile kremalı tatlı örnekleri incelenmiş ve 135 sandviçin % 11'inde, 30 kremalı tatlının % 12.5' inde *S.aureus* değeri 10^4 kob/g'ın altında saptanmıştır (Kotzeikov 2013). Her 4 çalışmanın verileri ile Şekil 1 ve 2' deki sonuçlar kıyaslandığında çalışılan örnek gruplarındaki ve üretim koşullarındaki farklılık sebebiyle değişik kontaminasyon oran ve düzeylerinin saptandığı görülmektedir.

Ayçiçek ve ark' nın rus salatası, pişmiş köfte, ciğer, lahmacun, hamburger, pizza ve döner gibi ürünleri içeren 512 örneği inceledikleri çalışmalarında ise rus salatası, sebze salatası ve köftenin tüm örnekler içinde en fazla kontamine gıda grubunu oluşturdukları belirtilmiştir (Ayçiçek ve ark. 2003). Şekil 1' deki veriler incelendiğinde rus salatası örneklerindeki pozitiflik oranının (% 12 *S.aureus*) Ayçiçek ve ark(2003)' nin çalışmasıyla (*S.aureus* %25) uyumlu olduğu görülmüştür. Ancak köfte örneklerinin çalışma sonuçları, Ayçiçek ve ark(2003)' nin çalışma sonuçlarıyla tamamen farklı olarak saptanmıştır. Çolak ve ark. (2007) tarafından incelenen 60 çorba örneğinin 3 (%5) adedinde $10^2 - 10^3$ kob/g düzeyinde, 92 yemek örneğinin 16'sında (% 17,4) $10^2 - 10^5$ kob/g düzeyinde *S. aureus* tespit edilmiştir. Hazır yemek grubu içinde ise 25 etli yemeğin 6'sında (%24), 20 adet pilavın 2'sinde (%10), 15 sebze yemeğinin de 2'sinde (%13) *S. aureus* pozitif olarak saptanmıştır. Ortalama kontaminasyon düzeyleri ise; en fazla etli yemeklerde $4,3 \times 10^4$ kob/g olarak sırasıyla pilavda $2,2 \times 10^3$ kob/g ve sebze yemeğinde ise $5,0 \times 10^2$ kob/g şeklinde raporlanmıştır. Çalışmada 54 adet etli yemeğin (27 adet ızgara tavuk ve 27 adet köfte) 2 adedinde (%3,6) *S.aureus* (ortalama $8,0 \times 10^1$ kob/g) saptanmıştır ve bu sonuçlar açısından çalışma Çolak ve ark.(2007)' nin verileriyle uyumlu değildir.

Çalışma planlanırken sıcaklık farklılıklarının örneklerin *S.aureus*, koliform ve *E. coli* içeriklerine etkisini gözlemlemek amacıyla Temmuz, Aralık, Nisan ayları seçilmiştir. Çalışma sonuçlarının aylara göre yüzde pozitiflik dağılımları Çizelge1' de sunulmuştur.

Çizelge 1: Alınan Örneklerle ait Sonuçların aylara göre yüzde pozitiflik dağılımları

	Nisan	Temmuz	Aralık	Toplam Örnek Sayısı
<i>S.aureus</i>	% 2,7	% 7,4	% 3,7	108
Koliform bakteri	% 4,6	% 9,2	% 5,5	108
<i>E.coli</i>	% 0,9	% 0,9	% 0,9	108
<i>S.aureus enterotoksinleri</i>	-----	-----	-----	108

Kontaminasyonun en yoğun olarak Temmuz ayı içinde çalışılan örneklerde (*S.aureus* %7,4, Koliform bakteri %9,2, *E.coli* %0,9) olduğu saptanmış; bunun yanında Aralık (*S.aureus* % 3,7 Koliform bakteri %5,5, *E.coli* %0,9) ve Nisan (*S.aureus* % 2,7, Koliform bakteri %4,6, *E.coli* %0,9) ayları sonuçlarında ise belirgin bir farklılığın olmadığı görülmüştür. Aylar arasındaki sıcaklık değişimi *E.coli* içeriklerinde farklılık oluşturmamıştır. Temmuz ayındaki *S.aureus* pozitiflik oranının (%7,4); Aralık (%3,7) ve Nisan (%2,7) aylarına nazaran daha fazla olduğu saptanmıştır. Temmuz ayındaki yüksek sıcaklığın; gerek hammadde üzerinde, gerekse çalışma ortamının hijyeninin sağlanmasındaki zorluk sebebiyle mikrobiyal kirliliğe daha fazla sebep olduğu düşünülebilir.

Aydın ve ark.(2011) inceledikleri 1070 gıda örneğinden (115 et, 15 et ürünü, 303 çiğ süt, 452 süt ürünü, 44 tüketime hazır gıda, 141 pastacılık ürünü) izole ettikleri 147 *S.aureus* suşunun 92 (%62.5)' sinin enterotoksijenik

özellikte olduğunu raporlamışlardır. (Aydın ve ark. 2011). Kim ve ark.(2011) yaptıkları bir çalışmada; 3293 adet tüketime hazır dondurulmuş gıdanın (suşi ve deniz yosununa sarılmış pilav) 197 adedinde (%5,98) *S. aureus* pozitif olarak saptanmış ve bu suşlarında %49,75'inin toksijenik özellikte olduğu belirtilmiştir. Mevsimsel sıcaklık farklılığının etkisinin gözlemlenmesi amacıyla örnek alma zamanı genişletilerek, *S.aureus* saptanma oranının mevsimsel sıcaklık artışına paralel artış göstereceği beklenmiştir. Ancak sonuçlar doğrultusunda çalışılan örneklerdeki *S. aureus* saptanma oranında sıcaklık farkının etkisinin olmadığı raporlanmıştır (Kim ve ark. 2011). Bizim çalışmamızda, Temmuz ayındaki *S.aureus* saptanma oranındaki farklılık göz önüne alınmazsa diğer aylar arasında belirgin değişim saptanmaması açısından Kim ve ark.(2011) ile uyumlu sonuçlar elde edilmiştir.

S.aureus enterotoksinlerinin, *S.aureus* bakterisini inhibe edebilecek etkilere karşı dirençli olduğu için gıdalarda *S.aureus* negatif olarak saptansa bile toksinini içermeye ihtimali bulunmaktadır. Bu amaçla 108 adet örneğin tamamı *S.aureus* içeriğine bakılmaksızın enterotoksin açısından incelenmiştir. Sonuç olarak hiçbirinde toksin bulunmamıştır. Literatürdeki benzer çalışmalar incelendiğinde genellikle enterotoksin analizinin *S.aureus* sayısı $>10^5$ kob/g olan örnekler için yapılmaktadır. Bilge ve Karaboz (2005) tarafından yapılan bir çalışmada 45 adet örnek (8 adet peynir, 23 adet dana kıyma, 10 adet kremalı pasta, 4 adet tavuk but) incelenmiş ve *S. aureus* saptanma oranının % 84 düzeyinde olduğu belirtilmiştir. *S. aureus* açısından pozitif olan ve sayıları $3,3 \times 10^5$ - $3,0 \times 10^6$ kob/g arasında 12 örnek seçilerek enterotoksin A, B, C, D açısından incelenmiş ve örneklerin hiçbirinde toksin varlığı saptanamamıştır. Tatini ve ark.(1973) ise peynir suyunda $1,0 \times 10^6$ kob/mL olan *S. aureus* varlığında enterotoksin saptayamamışlar ve oluşum için $1,0 \times 10^7$ kob/mL sayısına ulaşması gerektiğini belirtmişlerdir. Moreno ve ark. (1996)'nın yaptığı çalışmada ise restoranlardan temin edilen 345 gıda örneğinde enterotoksijenik stafilokok tespit edememişlerdir.

4. SONUÇ

Çalışma sonuçlarına göre rus salatasının en riskli numune gruplarından olduğu görülmüştür. Üretim koşulları üzerinde mevsim farklılığının etkisini gözlemlemek amacıyla, 3 farklı zaman diliminde (Temmuz, Aralık, Nisan) çalışılmıştır. Zaman dilimi açısından da Temmuz ayı diğer aylara nazaran tüm parametrelerde üremenin daha fazla olduğu görülmüştür. Numunelerin hiçbirinde *S.aureus* enterotoksinleri saptanamamıştır. Çalışmanın temelinde; düşük *S.aureus* içeriklerinde bile toksinin gıdada bulunma ihtimali araştırılmıştır.

Sonuçlar incelendiğinde; proje koşulları altında çalışılan örneklerde düşük *S.aureus* içeriğinde toksin oluşumu saptanamamıştır. Gıdanın toksin içermediği durumda, düşük *S.aureus* sayısının bir risk yaratmayacağı düşünülmektedir. Ancak; gıdanın tüketimine kadar içinde bulunduğu ortam koşulları ve bekleme süresi bilinemediğinden, var olan düşük düzeydeki *S.aureus*'un gelişmesi ve ardından toksin sentezleme ihtimali mevcuttur. Bu çalışma ile tüketime sunulan hazır gıdaların risk analizinin tam anlamıyla yapılabilmesi adına *S.aureus* sayısının enterotoksin içeriğiyle eş zamanlı incelenmesinin daha uygun olacağını kanaatine varılmıştır.

Bu çalışma, mevcut literatür bilgilerini destekler şekilde sonuçlanmıştır. Örnek ve firma çeşitliliği artırılarak düşük *S.aureus* içeriklerinde de toksin varlığının aranmasına yönelik çalışmalar yapılabilir.

5. KAYNAKLAR

Anonymous, 2005. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Ed:A.K.Halkman.Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 181-187

Aydın, A.,Sudagidan, M., Muratoğlu, K.,2011. Prevalence of Staphylococcal enterotoxins genes and genetic-relatedness of foodborne *Staphylococcus aureus* strains isolated in marmara Region of Turkey: Int. Journal of Food Micr. Volume 148, Issue 2: 99-106

Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International 070404/2007:06

Ayçiçek, H.,Cakıroğlu, ve S.,Stevens, H.T., 2003. Incidence of *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat meals from military cafeterias in Ankara,Turkey

Bilge, F., Karaboz, İ., 2005. İzmir'de piyasada açıkta satışı sunulan bazı gıdaların *Staphylococcus aureus* ve enterotoksinleri bakımından incelenmesi

Central Disease Control, 2011. *EID Journal*, Vol: 17, Number 9

- Çolak, H., Hampikyan, H., Ulusoy, B., Bingöl, B. ve Akha, M., 2008.İstanbul'da tüketime sunulan bazı ızgara tipi gıdalar ile salata ve mezelerin mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi: Türk Mikrobiyoloji Cem Derg 38 (2) : 87-94
- Güven, K., Mutlu, B.M., Gülbandılar, A., Çakır, P., 2010. Occurance characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products consumed in Turkey: Journal of Food safety, Volume:30: 197-212
- Feng, P., Weagant, S.D., Grant, M.A., Burkhardt, W.2013.Enumeration of E. coli and Coliform bacteria.Bacteriological anltical Manuel, Food and Drug Administration, [http://fda/food/food science research/ LaboratoryMethods/ucm2006949.htm](http://fda/food/food%20science%20research/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm)
- Jay, JM., 1992.*Staphylococcal* gastroenteritis, In: Modern Food Microbiology. 4th Edition, New York: Avi Book,; 455-471
- Kim, N.H., Yun, A.R., Rhee, M.S,2011. Prevalence and classification of toxigenic *Staphylococcus aures* isolated from refrigerated ready to eat foods (sushi,kimbab,California rolls)in Korea, Journal of Applied Microbiology, ISSN 1364-5072 pp.1456-1464
- Kotzeikov,P.,2013.Microbiological examinations of ready to eat foods and ready to bake frozen pastries from university canteens: Food Microbiology, Vol:34,İssue 2:337-343
- National Standart Method-2005- Direct Enumeration of *E.coli*-F20
- Omoe, K, Imanishi, K., Hu, D.L. and Kato, H. (2004).Biological properties of *Staphylococcal* enterotoxin-like toxin type R. Infection and Immunity; 72(6): 3664-3667
- Pereira, V., Lopes, C., Castro, A., Silva, J., Gibns, P.,Terxwira, P.,2009. Characterization for enterotoksin production virulence factors and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from various foods in Potugal. Food Microbiology, 26: 278-282.
- Rosec, JP, Guiraud, JP, Dalet, J. and Richard, N. 1997. Enterotoxin production by *Staphylococci* isolated from foods in France. Food Microbiol; 35: 213-221
- Stevens, D.L., Ma, Y., Salmi, D.B., Mcindoo, E., Wallace, R.J. and Bryant, A.E., 2007. Impact of antibiotics on expression of virulence- associated exotoxin genes in methicillin-sesitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Infec Dis; 195(15): 202-211
- Tatini,, S.R., 1973.Influence of food environments on growth of *Staphylococcus aueus* and production of various enterotoxins. J. Milk Food Technol.; 36: 559-563
- Tibana, A., Rayman, K., Akthar, M. and Szabo,R., 1987. Thermal stability of enterotoxins A, B, and C in a buffered system. J Food Prot, 50, 239-242
- Tokuç, B.2009.Gıda güvenliği ve Gıda Kaynaklı Hastalıklar,<http://www.phd.org.tr/14kongresunum>
- Tunail, N., 2000. Gıda mikrobiyolojisi ve uygulamaları,2,Baskı.Ankara Üniv.Ziraat Fakültesi Gıda müh.yayını, 81-88, Ankara
- Tükel, Ç., Doğan, H., 2000. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları,2000.Ankara Üniv. Ziraat Fak. Gıda Müh.Böl.yayını, s: 25
- Ünlütürk, A.,Turantaş,F.,2003.Gıda Mikrobiyolojisi,141-145
- Wieneke, A.A., 1974. Enterotoxin production by strains of *Staphylococcus aureus* isolated from foods and human beings. J. Hyg. Camb.; 73: 255-261
- Vidas Staph Enterotoxin II (SET2) Test Kitapçığı, Ref:30705,2008
- Zhang, S.,Jandola,J.J. and Stewart,G.C.,1998. The enterotoxin D plasmid of *Staphylococcus aureus* ancodes a second enterotoxin determinant(sej).FEMS Microbiol.Lett.pp.168,227-233