

İZMİR İLİNDE SATILAN BAZI PEYNİRLERDE *S. AUREUS* ENTEROTOKSİNLERİNİN ELİSA YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ

DETECTION OF *S. AUREUS* ENTEROTOXINS WITH ELISA METHOD IN VARIOUS CHEESES SOLD AT İZMİR CITY

Nükhet Nilüfer DEMİREL*, Mehmet KARAPINAR

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bornova - İzmir

ÖZET: Uygun olmayan şartlarda üretilen süt ve süt ürünleri gıda zehirlenmeleri ve enfeksiyonlarına neden olan gıda grupları arasında yer almaktadır. Bu hastalıklar arasında yer alan *Staphylococcus* zehirlenmeleri bir yada daha fazla enterotoksin içeren gıdanın tüketilmesi ile ortaya çıkmaktadır. İzmir ilinde satılan bazı peynirlerde *S.aureus* enterotoksinlerinin varlığının araştırıldığı; bu çalışmada çeşitli firma ve mandıraların ürettiği beyaz, kaşar, tulum, örgü ve Van otlı peynirlerinden oluşan toplam 75 örnek incelenmiştir. Örneklerdeki enterotoksin analizi Ridascreen Elisa ticari test kiti ile yapılmıştır. 27 örnekte toksin tespit edilmiştir. Örneklerde en çok tespit edilen enterotoksin tipi SEA (19 örnek; % 67,86) olmuştur. Onu sırasıyla SEB (9 örnek; % 32,14), SEE (7 örnek; % 25,0), SEC (2 örnek; % 7,1) ve SED (1 örnek; %3,6) izlemiştir. Elde edilen sonuçlar bazı peynirlerin *Staphylococcus* intoksikasyonları oluşumunda halk sağlığı açısından risk oluşturabileceğini göstermektedir. Bu nedenle peynir işletmelerinde oluşabilecek bulaşmaların önlenmesi için iyi üretim tekniklerine ve düzenli temizliğe önem verilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Peynir, *S. aureus*, Enterotoksin

ABSTRACT: Dairy products are in the main food commodities that frequently condemned as the source of foodborne infections and intoxications where the non-standardized manufacturing conditions applied. Staphylococcal intoxications are in these foodborne diseases and caused by the ingestion of food that contains one or more enterotoxins. To study presence of *S.aureus* enterotoxins in various cheeses sold at retail markets of İzmir city a total of 75 samples composed of kashar cheese, Erzincan and İzmir tulum cheeses, white cheese (feta cheese), örgü and Van otlı cheeses were analyzed. Enterotoxin analyses were performed with Ridascreen Elisa kits. Enterotoxins were detected in 27 samples and the distribution of toxins were in the order of SEA (19 samples; 67.86 %), SEB (9 samples; 32.14 %), SEE (7 samples; 25.0 %), SEC (2 samples 7.1 %) and SED (1 sample; 3.6 %). Results showed that cheeses especially that made from raw milk would pose a staphylococcal intoxication risk to public health that is why great attention should be given to good manufacturing practices in dairy plants.

Keywords: Cheeses, *S. aureus*, Enterotoxins

GİRİŞ

Enterotoksin üreten *Staphylococcus* türlerinin özellikle *S.aureus*'un neden olduğu zehirlenmeler tüm dünyada en çok görülen gıda zehirlenmeleri arasında yer almaktadır (Le Loir, Baron ve Gautier 2003). *Staphylococcus* gıda zehirlenmelerinin çeşitli ülkelerdeki rastlanma sıklığı coğrafik koşullara ve yemek alışkanlıklarına göre değişmektedir (Sudhakar, Rao, Bhat, ve Gipta, 1988, Mossel and Van Netten1990). Son yıllarda çeşitli ülkelerde farklı gıda gruplarından kaynaklanan *Staphylococcus* gıda zehirlenmeleri rapor edilmiştir (WHO, 2000, De Buyser, Dofour, Maire ve Lafarge 2001, Miwa, Kawamura, Masuda, ve Akiyama 2001; Carmo vd., 2002, Asao vd., 2003). *Staphylococcus* zehirlenmelerinin başlıca nedenleri yetersiz sanitasyon ve uygun ol-

* E-posta : nukhetn@yahoo.com

dayanıklı toksinler üretmesi de bu zehirlenmelerin sık görülmesinin nedenleri arasındadır (Mossel ve Van Notten, 1990, Karapınar ve Gönül 1998).

Peynir üretimi sırasında oluşan asitlik ve azalan su aktivitesi gibi faktörler bir çok patojenin bu üründe ki üremesini engellemektedir. Bununla birlikte peynir kaynaklı gıda zehirlenmeleri ve enfeksiyonları da bildirilmektedir (Zottola ve Smith 1999). Peynir kaynaklı *S. aureus* zehirlenmesi riskinin, peynir çeşidine, peynir yapımında çiğ süt/ pastörize süt kullanımına, starter kültür kullanımına ve olgunlaştırma süresine göre değiştiği belirtilmiştir (Bryan 1988).

Ülkemizde çoğu hastanın sağlık kurumuna başvurmaması nedeni ile gıda intoksikasyonları hakkında yeterli veri bulunmamaktadır. Bununla birlikte çeşitli yörelerde satılan peynirler üzerinde yapılan araştırmalar peynirlerde *S.aureus*'un bulunduğunu ve bazı peynirlerde oldukça yüksek seviyelerde olduğunu ortaya koymuştur (Kıvanç 1989a,b, Sert ve Özdemir 1989, Kılınc ve Gönç 1990, Ergün, Bostan ve Sagun 1992, Özdemir, Çelik, Özdemir ve Sert,1998). Bu durum bu peynirlerde *S. aureus* enterotoksinlerinin bulunma riskini artırmaktadır. Bu nedenle araştırmamızda İzmir piyasasında satılan çeşitli peynirlerde *S. aureus* enterotoksinlerinin aranması ve halk sağlığı açısından peynirlerden kaynaklanabilecek riskin ortaya konması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Marketlerde satılan farklı firmaların ürettiği beyaz peynir (15 adet), kaşar peyniri (15 adet), tulum peyniri (5 adet İzmir tulum, 10 adet Erzincan tulum), örgü peyniri (10 adet) ve Van otlı peyniri (5 adet)'nden oluşan toplam 60 peynir örneği analize alınmıştır. Ayrıca semt pazarlarında satılan beyaz peynir (5 adet) kaşar peyniri (5 adet) ve tulum peyniri (3 adet İzmir tulum, 2 adet Erzincan tulum)'nden oluşan 15 peynir örneği de incelenmiştir.

Yöntem

Enterotoksin Analizi

Enterotoksin analizleri Ridascreen Elisa R-401 (R-Biopharm Darmsdart, Germany) ticari test kiti ile yapılmıştır. Peynir örnekleri kit içeriğinde belirtilen yonteme göre hazırlanmış ve reaktiflerin eklenmesi ile oluşan rengin absorbansı Microwell Strip Reader EL 301E (Bio Tek Inst. Inc. USA) ile yapılmıştır. Örneklerdeki toksin varlığı kuyucuklarda okunan aborbans değerlerine göre hesaplanan "cut off" sınır değere göre belirlenmiştir (Anon. 2000).

İstatistiksel Analiz:

Elde edilen sonuçlar non parametrik testler uygulanarak karşılaştırılmış bu amaçla SPSS (PC Version 10) kullanılmıştır.

SONUÇ VE TARTIŞMA

İzmir'in farklı semtlerinden temin edilen toplam 75 peynir örneğinde *S.aureus* enterotoksinleri aranmıştır. Toplam 27 örnekte enterotoksin tespit edilmiştir. Analize alınan peynirlerde en çok tespit edilen enterotoksin tipi SEA (19 örnek, % 67,86) olmuştur. Tespit edilen diğer enterotoksinlerin dağılımı ise SEB (9 örnek; % 32,14), SEE (7 örnek; % 25,0), SEC (2 örnek; % 7,1) ve SED (1 örnek; %3,6) şeklinde belirlenmiştir (Çizelge 1 ve Çizelge 2).

Çizelgelerden de görüldüğü gibi beyaz peynir ve alınan örnek sayılarına göre Van otlı peyniri *Staphylococcus* intoksikasyonları açısından en riskli grubu oluşturmaktadır. Pazar ve marketlerden alınan toplam 20 kaşar peyniri örneğinden sadece 2 tanesinde, marketlerden alınan 10 örgü peyniri örneğinin ise sadece 1'inde enterotoksin belirlenmiştir. Buna karşın istatistiksel analizlerde peynir çeşitleri arasında enterotoksin varlığı açısından önemli bir farklılık olmadığı belirlenmiştir (P<0,05).

Çizelge 1. Marketlerden Alınan Peynir Örneklerinde Belirlenen Enterotoksinlerin Dağılımı

Toksin tipi	Enterotoksin Belirlenen Peynir Örnekleri											
	Beyaz ¹ Peynir			Kaşar Peyniri			Tulum Peyniri			Örgü Peyniri		Van Otlı Peyniri
	A ²	B	C	A	B	C	A	B	D	B	D	C
	n:5	n:5	n:5	n:5	n:5	n:5	n:5	n:5	n:5	n:5	n:5	n:5
SEA	3	1	1	.3	1	-	2	2	1	-	-	4
SEB	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
SEC	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
SED	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SEE	1	1	1	-	-	-	1	-	-	1	-	-

¹ Farklı peynir çeşitleri arasında enterotoksin varlığı açısından önemli bir fark yoktur.(P<0,05)

² A,B,C,D harfleri peynir örneği alınan farklı firmaları göstermektedir. Her bir firmadan 5 örnek alınmıştır

Çizelge 2. Pazardan Alınan Peynir Örneklerinde Belirlenen Enterotoksinlerin Dağılımı

Toksin tipi	Enterotoksin Belirlenen Peynir Örnekleri		
	Beviz-Peynir ¹	Kaşar Peyniri	Tulum Peyniri
	N:5 ²	N:5	N:5
SEA	3	.3	1
SEB	3	1	1
SEC	-	-	-
SED	1	-	-
SEE	2	-	-

¹ Farklı peynir çeşitleri arasında enterotoksin varlığı açısından önemli bir fark yoktur.(P<0,05).

² Her bir çeşidinden 5 farklı üreticiden örnek alınmıştır.

³ - Toksin belirlenmemiştir.

Enterotoksin analizinde kullanılan Ridascreeen Elisa kitinin enterotoksinleri saptama sınırı 0.2 ng g⁻¹ ile 0,75 ng g⁻¹ arasında verilmektedir (Su ve Wong, 1997). Bu nedenle örneklerdeki enterotoksin miktarının 0.2 ng g⁻¹'dan yüksek olduğu söylenebilir. Yapılan araştırmalarda gıda zehirlenmesine neden olan enterotoksin miktarının kişinin duyarlılığına ve kiloya bağlı olarak değiştiği fakat genel olarak belirtiler ortaya çıkmasında 0,1-1 µg kg⁻¹ enterotoksin alımının yeterli olduğu ortaya konmuştur (Evenson, Hinds, Bernstein ve Bergdoll 1988). Bununla beraber mantar konservesinden kaynaklanan bir vaka da alınan gıda örneklerinde 10 ng SEA ve 1 ng SED belirlenmiş olması gıda zehirlenmesi için gereken enterotoksin miktarının daha da az olabileceğini göstermiştir (Lindroth, Strandberg, Pessa ve Pellinen 1983). Bu nedenle bir defada 1g'dan daha fazla peynir tüketileceğinden enterotoksin tespit edilen peynir örneklerinin *Staphylococcus* intoksikasyonları açısından risk teşkil edebileceği görülmektedir.

Çalışmamızda peynir örneklerinde tespit edilen enterotoksinlerin başında SEA gelmektedir. SEA'nın gıda zehirlenmelerinde en fazla sorumlu olan enterotoksin tipi olduğu bildirilmektedir. Bu durum çalışmamız bulgularını destekler niteliktedir. Peynirlerde *S.aureus* enterotoksinlerinin saptanmasında peynir üretiminde çiğ süt kullanımının veya pastörizasyon sonrasında kontaminasyonun ve özellikle yetersiz starter aktivitesinin etkili olduğu düşünülmektedir. Özellikle pazardan alınan peynirlerin sütün pastörize edilmeden mevsimine göre 55-58°C'ye kadar ısıtılıp mayalama sıcaklığına soğutulularak üretildiği belirlenmiştir. Bu işlem sütteki *S. aureus* sayısını azaltmakla beraber elimine edememektedir. Analize alınan peynirlerin bazılarında *S. aureus* bulun-

mamasına rağmen enterotoksinlerin saptanması olgunlaştırma sırasında tespit edilemeyecek seviyeye inen *S.aureus*'un peynir yapım aşamalarında enterotoksin üretmiş olma ihtimalini ortaya koymaktadır. Enterotoksinler ısıya dirençli olduğundan enterotoksinlerin pastörizasyon öncesinde üretilmiş olma olasılığı da mevcuttur

Ülkemizde ve diğer ülkelerde pastörize süt, süt tozu ve peynirlerde enterotoksin tespit edildiği bildirilen araştırmalar mevcuttur (Özalp, Kaymaz ve İnan 1978a,b; Özalp, Kaymaz ve Akşehirli,1978b, Todd vd., 1981, Evenson vd.,1988, Miwa vd., 2001, Carmo vd., 2002, Hamama, Hankouri ve Ayadi 2002; Küplülü, Sarımehtetoğlu ve Kaymaz, 2002). Özalp vd. (1978a) inceledikleri 26 Erzincan tulum peynirinde *S.aureus* tespit edilemediğini fakat bir örnekte enterotoksin tespit edildiğini bildirmişlerdir. Enterotoksin aranan peynirlerin mikrobiyolojik kalitesini araştırdığımız diğer bir çalışmamızda enterotoksin tespit edilen peynirlerin 8'inde $1,0 \times 10^2$ ile $3,0 \times 10^5$ kob/g düzeyinde *S. aureus* bulunduğu belirlenmiş, kalan 19 örnekten *S.aureus* izole edilememiştir. (Demirel ve Karapınar 2002). Bu durum Özalp vd (1978a). 'nin sonuçları ile benzer niteliktedir.

Türk Gıda Kodeksine (Sağlam 1999) göre gıdalarda *Staphylococcus* enterotoksinlerinin ELISA testi ile hiç bulunmaması gerekir. İzmir de tüketime sunulan 75 peynir örneğinin 27'sinde enterotoksin tespit edilmiş olması bu peynirlerin Türk Gıda Kodeksine uymadığını ve halk sağlığı açısından potansiyel bir risk taşıdığını göstermektedir. Bu nedenle peynir üretiminde kullanılacak sütün mikrobiyolojik standartlara uygunluğuna ve peynir işletmelerinde oluşabilecek bulaşmaların önlenmesi için iyi üretim tekniklerine ve düzenli temizliğe önem verilmelidir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmaya destek sağlayan Pınar Süt A.Ş., Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Araştırma Uygulama Merkezine Tübitak'a (TOGTAG 2948) teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Anonymous.,2000 RIDASCREEN SET A, B, C, D, E. Enzyme Immunoassay for the Detection of *Staphylococcus* enterotoxins A, B, C, D, and E. Rbiopharm. Art. No: R 4101
- Asao, T., Kumeda, Y. Kowai, T. Shibata, T., Oda, H., Hanuki K. Nakazawa, H., Kozaki, S., 2003.Who Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications; Bull. No:76: (From Epidemiol. and Infect, 130,33-40).
- Bryan, F.L., 1988. Risks Associated with Vehicles of Foodborne Pathogens and Toxins. J. Food Protect.; 51 (6): 498-508
- Carmo, L.S., Dias R.S., Linardi, V. R., Sera, J., Santos, D. A., Faria, M. E., Pena,S.C., Jett, M., Heneine, L. G., 2002. Food Poisoning due to Enterotoxigenic Strains of *Staphylococcus* Present in Minas Cheese and Raw Milk in Brazil. Food Microbiol.; 19: 9-14.
- Demirel, N.N., Karapınar, M.,2002. İzmir İli Piyasasında Satılan Bazı Peynirlerin Mikrobiyolojik Özellikleri. Türkiye 7. Gıda Kongresi Bildirisi, Ankara, 22-24 Mayıs 2002, sayfa, 391-398.Gıda Teknolojisi Derneği Ankara Üniversitesi Basımevi Ankara, 899Sayfa.
- De Buyser, M.U., Dofour, B., Maire, M., Lafarge, V.P.Y., 2001. Implication of Milk And Milk Products in Foodborne Diseases in France and Different Industrialized Countries. Int. J. Food Microbiol.; 67: 1-17.
- Ergün, O., Bostan, K, Sagun, E.,1992. The Microbiological Quality and The Mould Flora Of Van Otlu Cheese. Y.Y.U. Vet.Fak. Derg.; 3 (1-2): 53-59.
- Evenson, M.L., Hinds, M.W. Bernstein, R.S., Bergoll, M.S., 1988. Estimation Of Human Dose of *Staphylococci* Enterotoxin From A Large Outbreak of Staphylococcal Food Poisoning Involving Chocolate Milk. Int. J. Food Microbiol.; 7: 311-316.
- Hamama, A. El Hankouri, A., El Ayadi, M., 2002: Fate of enterotoxigenic *S.aureus* in the Presence of Nisin Producing *Lactococcus lactis* Strain During Manufacture Of Jben; A Moroccan Traditional Fresh Cheese. Int. Dairy J.; 12: 933-938
- Karapınar, M., Gönül, Ş., 1998, Gıda Kaynaklı Mikrobiyal Hastalıklar, 109-165, Gıda Mikrobiyolojisi A. Ünlütürk, F.Turantaş, (Derl), Mengi Tan Basımevi, İzmir, 605s.
- Kılınç, S., Gönc, S., 1990. İzmir Tulum Peynirinin Mikrobiyolojik Özellikleri Uzerine Araştırmalar II. Ege Univ. Zir. Fak.Derg.; 27 (3): 169-181.

- Kıvanç, M., 1989a.: Microbial Flora of Kasha Cheese Consumed in Erzurum Province. *Gıda*; 14 (1): 23-30.
- Kıvanç, M., 1989b: The Microbiological Quality of Erzincan Tulum Cheese From Turkish Retail Markets. *Die Nahrung*.; 9: 895-900
- Küplülü, O., Sarımehtemoglu, B., Kaymaz, S.,2002: Detection of Staphylococcal Enterotoxin In Pasteurised Milk with Elisa Technique. *Turk. J. Vet Anim Sci*; 26: 631-637
- Le Loir, Y., Baron, F., Gautier, M., 2003: *Staphylococcus aureus* and Food Poisoning: Review. *Genet. Mol. Res.*; 2 (1): 63-76.
- Lindroth, S., Strandberg, E., Pessa, A., Pellinen M.J., 1983: A Study of The Growth Potential of *Staphylococcus aureus* in *Boletus edulis*, A Wild Edible Mushroom, Prompted By A Food Poisoning Outbreak. *J.Food Sci.*; 48: 282-283.
- Miwa, N., Kawamura, A., Masuda, T., Akiyama, M., 2001. An Outbreak of Food Poisoning due to Egg yolk Reaction Negative *Staphylococcus aureus*, *Int. J. Food Microbiol.*; 64 (3):361-366.
- Mossel, D.A.A. and Van Netten, P., 1990, *Staphylococcus aureus* and Related *Staphylococci* In Foods: Ecology, Proliferation, Toxinogenesis, Control And Monitoring *J. of Appl Bacteriol, Symp. Supp.*, 123S-145S.
- Özalp, E., Kaymaz, S. ve İnan, T., 1978a: Süt tozlarında Enterotoksijenik Stafilokoklar ve Enterotoksin Varlığı Üzerinde Araştırmalar. *Ankara Univ.Vet. Fak. Derg.*; 25 (1): 48-54.
- Özalp, E., Kaymaz, S., Aksehirlı, E., 1978b. Erzincan Tulum Peynirlerinde Enteroksijenik Stafilokoklar ve Sallmonellalar Yönünden Araştırma. *Ankara Univ. Vet. Fak. Derg.*; 25 (1): 55-61.
- Özdemir Ş, Çelik, Ş, Özdemir, C., Sert, S.,1998. Diyarbakır Karcadağ Yöresinde Mahalli Olarak Yapılan Örgü Peynirinin Mikrobiyolojik e Kimyasal Özellikleri 5th Süt e Süt Ürünleri Sempozyumu.Tekirdağ 21-22 Mayıs 1998, sayfa 154-166. Milli Prodüktivite Merkezi Yayınları No:621Mert Matbaası Ankara,427 sayfa.
- Sağlam, F.,1999. Türk Gıda Kodeksi, AB Ofset, Ankara, 399 Sayfa.
- Sert, S.,and Özdemir, S., 1989. The Microbiological Examination on Freshly Formed White Cheese And Butter For Breakfast Marketed in Winter in Erzurum. *Turk. J. Agric. For.*; 13 (3b): 1142-1153.
- Su, Y., and Wong, L. C. A., 1997. Current Perspectives on Detection of Staphylococcal Enterotoxins. *J. Food Protect.* 62 (2), 195-202.
- Sudhakar, P., Rao, N., Bhat, R. V., Gupta, C. P., 1988, The economic Impact of a Foodborne Disease Outbreak due to *Staphylococcus aureus*, *J. Food Protect.*, 51(11), 898-900
- Todd, E., Szabo, R., Roborn, N., Gleeson, T., Park, C., Clark, D.S., 1981. Variation in counts, enterotoxin levels and Tnase in Swiss-type cheese contaminated with *S.aureus*. *J. Food Protect.*; 44: 839-848.
- WHO (World Health Organization), 2000: 7th Report on surveillance of foodborne diseases in Europe 1993-1998, <http://www.bfr.bund.de/>
- Zottola, E.A. Smith, L.B., 1999.Cheese: Growth and Survival of Undesirable Bacteria in Cheese In P.F. Fox Ed. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* 2nd Edition Vol.1 Aspen Publication Gaithersbury, Maryland.p:599.