RESEARCH ARTICLE

Beyaz peynir, çiğ süt, kıyma ve İnegöl köftede *Staphylococcus aureus* kaynaklı intoksikasyon riskini değerlendirmede kültür ve immunolojik yöntemlerin karşılaştırılması

Nihat Telli^{1*}, Nuray Gamze Yörük², Arife Ezgi Telli³, Muhammed Ali Cebirbay⁴, Ahmet Güner³

¹Konya Teknik Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Konya, Türkiye

²Kocaeli Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, Kocaeli, Türkiye

³Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

⁴Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Konya, Türkiye

Geliş:28.06.2018, Kabul: 24.09.2018

* ntelli@selcuk.edu.tr

Comparison of cultural and immunological methods for the evaluation of foodborne intoxications risk caused by *Staphylococcus aureus* in white cheese, raw milk, minced meat and Inegol meatball

Eurasian J Vet Sci, 2018, 34, 4, 249-256

DOI: 10.15312/EurasianJVetSci.2018.207

Öz

Amaç: Konya'da tüketime sunulan beyaz peynir, çiğ süt, kıyma ve İnegöl köfte örneklerinin fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitelerinin ortaya konması ve *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) kontaminasyonu ile toksin varlığının tespiti amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Araştırmada beyaz peynir (n=50), çiğ süt (n=50), kıyma (n=50) ve İnegöl köfte (n=50) olmak üzere 200 numune kullanılmıştır. Numuneler fiziksel ve kimyasal (pH, asidite ve kuru madde) ve mikrobiyolojik [toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB), toplam psikrofilik aerobik bakteri (TPAB), koliform, laktik asit bakterisi (LAB), *S. aureus*] açıdan değerlendirilmiştir. Stafilkokkal enterotoksinlerin (SEs) varlığı enzimle bağlantılı floresan immünoassay'a (ELFA) dayalı VIDAS Staph enterotoksin kiti ile araştırılmıştır.

Bulgular: Çiğ süt, beyaz peynir, kıyma ve İnegöl köftelerde ortalama pH değerleri sırasıyla, 6.53, 4.82, 5.99 ve 6.63; kuru madde değerleri % 12.51, % 37.71, % 38.97, % 49.70 ve laktik asit cinsinden asiditeleri de % 0.16, % 0.67, % 0.08 ve % 0.40 olarak bulundu. TMAB sayıları 4.53 - 9.86 log₁₀kob/g-ml; TPAB 3.39 - 7.69 log₁₀kob/g-ml; koliform bakteri 2.04 - 8.53 log₁₀kob/g-ml; LAB 2.90 - 7.64 log₁₀kob/g-ml ve *S. aureus* sayıları 2.61 - 6.46 log₁₀kob/g-ml arasında bulundu. İnegöl köfte örneklerinin 1'i (% 2) ve kıyma örneklerinin 29'unda (% 58) SEs tespit edildi.

Öneri: *S. aureus*'un tüm suşlarının SE'lerin üretiminden sorumlu olmamalarından dolayı stafilkokkal gıda intoksikasyonlarının değerlendirilmesinde ve güvenli gıda üretiminde kültürel yöntemlerle birlikte SE varlığının araştırılmasının da önemli olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: SE, *S. aureus*, ELFA

Abstract

Aim: The objective of this study was to analyze the physical, chemical and microbiological quality of white cheese, raw milk, ground meat and İnegöl meatballs and to determine the contamination of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and presence its' toxin.

Materials and Methods: A total of 200 samples including white cheese (n=50), raw milk (n=50), ground meat (n=50) and İnegöl meatballs (n=50) were collected. The samples were evaluated in terms of classical cultural microbiological methods total mesophilic aerobic bacteria (TMAB), total psychrophilic aerobic bacteria (TPAB), coliform, lactic acid bacteria (LAB) and *S. aureus*, physical and chemical analyzes (pH, acidity and, dry matter). The presence of staphylococcal enterotoxins (SEs) was investigated using the VIDAS Staph enterotoxin kit based on enzyme-linked fluorescent immunoassay (ELFA).

Results: Average pH values in raw milk, white cheese, minced meat and İnegöl meatballs were 6.53, 4.82, 5.99 and 6.63; dry matter values were 12.51%, 37.71%, 38.97%, 49.70%, and the total lactic acidities were 0.16%, 0.67%, 0.08% and 0.40%, respectively. TMAB (4.53-9.86 log₁₀CFU/g-ml), TPAB (3.39-7.69 log₁₀CFU / g-ml), coliform bacteria (2.04-8.53 log₁₀CFU/g-ml), LAB (2.90-7.64 log₁₀CFU/g-ml) and *S. aureus* (2.61-6.46 log₁₀CFU/g-ml) were counted across a wide range. SEs was detected in 1 (2%) of İnegöl meatball samples and 29 (58%) of ground meat samples.

Conclusion: Since all strains of *S. aureus* are not responsible for the production of SEs, it should be considered to detect the SE together with cultural methods in the evaluation of staphylococcal food intoxications and production of safe food.

Keywords: SE, *S. aureus*, ELFA

Giriş

Gıda kaynaklı mikrobiyolojik enfeksiyon ve intoksikasyonların tüketici sağlığına yönelik risk oluşturmada birçok faktör (örn., gıdaların soğukta saklanmaması, pişmiş gıdaların hızlı soğutulmaması, yetersiz pişirme ya da ısıtma, çapraz kontaminasyon, tüketimden çok önce hazırlama, yanlış çözündürme, pişmiş gıdaların kontaminasyonu, hammadde kontaminasyonu, çiğ gıda tüketimi, sıcak serviste merkez sıcaklığa dikkat edilmemesi, taşıyıcı personel, yetersiz temizlik ve sanitasyon, raf ömrünün dikkate alınmaması) etkili olmakta ve bu faktörler direkt veya hazırlayıcı sebep olarak etiyolojide yer almaktadır (Zorba 2011).

Stafilokokal intoksikasyonların ortaya çıkmasında, *S. aureus*'un toksin üretme özelliğindeki suşları tarafından oluşturulan toksinler ve/veya bu mikroorganizmaları içeren gıdaların tüketimi etkili olmaktadır. *S. aureus*, gıda zehirlenmesi vakalarında *Salmonella* spp.'den sonra en yaygın görülen patojen olarak kabul edilmekte ve gıdalara kontaminasyonunda en önemli rezervuarı insan ve hayvanlar oluşturmaktadır (Atanassova ve ark 2001).

Mikrobiyolojik açıdan, *S. aureus*'un kültürel yöntemlerle izolasyonu ile oluşturduğu toksin ilişkisinde güçlükler yaşanması ve SEs'lerin gıdalara uygulanan ısı işlem ve muhafaza süresince dayanıklı olmaları göz önüne alındığında kültürel olarak *S. aureus* varlığının tespit edilemediği veya sayısının toksin oluşturma düzeyinden az olduğu gıdalarda da toksinin var olabileceği değerlendirilmelidir (Jorgensen ve ark 2005).

Bu çalışmada, stafilokokal gıda zehirlenmelerinin kesin teşhisinde gıdalarda SEs'lerin varlığının tespit edilmesinin oldukça önemli olduğu, piyasada satılan örneklerde özetlenen durum ortaya konarak vurgulanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Araştırmada, Konya ilinde faaliyet gösteren marketlerden 50'er adet beyaz peynir, İnegöl köfte, kıyma ve süt üretim çiftliklerinden çiğ süt olmak üzere 200 adet örnek toplandı. Örnekler aseptik şartlar altında toplanıp soğuk muhafazada laboratuvara getirilerek 2 saat içerisinde analize alındı.

Fiziksel ve kimyasal analizler

Numunelerin kuru madde ve laktik asit miktarları Association of Official Analytical Chemists (AOAC)'ın referans metoduna göre (AOAC 2012), pH değeri pH metre (InoLab pH 720 model, WTW, GmbH, Germany) ile tespit edildi.

Mikrobiyolojik analizler

Her numuneden 10 g ya da ml örnek 90 ml 1/4 gücündeki steril Ringer solüsyonu (Oxoid, BR0052, Basingstoke, UK) ile homojenizatörde (Colworth Stomacher Lab-Blender 400, Seward

Medical, UK) 2 dk. homojenize edildi. Steril Ringer solüsyonu içerisinde 1/10'luk dilüsyondan 10⁻⁷'ye kadar seri dilüsyonlar hazırlandı (APHA 1992).

TMAB ve TPAB sayılarının belirlenmesinde; hazırlanan her bir dilüsyondan petrilere 1 ml inoküle edildikten sonra üzerine Plate Count Agar'dan (Oxoid, CM325) 10-15 ml döküldü. TMAB için 30 °C'de 72 sa., TPAB için 5-7 °C'de 7-10 gün inkübasyona tabi tutuldu (APHA 1992).

Koliform grubu mikroorganizma için petrillerdeki 1 ml dilüsyonların üzerine Violet Red Bile Agar'dan (Oxoid, CM0978) eklendi ve 35°C'de 24 sa. inkübasyona tabi tutuldu. LAB sayılarının tespiti için Rogosa Agar'dan (Oxoid, CM0627) çift katlı dökülerek 30°C'de 5 gün inkübe edildi (APHA 1992).

S. aureus'un izolasyonu için, 1 ml homojenat Egg-Yolk Tellurit ilaveli Baird Parker Agar besiyeri üzerine yayıldı. Petrilere 35 °C'de 45-48 sa. inkübe edildi. Besiyeri üzerinde düz, konveks yapılı, 2-3 mm çapında, ıslak görünümlü, gri-siyah renkli, etrafında berrak beyaz zon oluşan kolonilere oksidaz ve katalaz testi yapıldı. Katalaz pozitif kolonilere lam koagülaz, glikoz ve mannitolün anaerobik kullanım testleri uygulandı (Bennet ve Lancette 2001).

Toksin analizleri

SEs'lerin aranması, BioMérieux VIDAS® PC cihazında (≥ 0,25 ng/L tespit limitinde), 7 farklı serolojik tipin (SEA, SEB, SEC_{1,2,3}, SED ve SEE) herhangi birinin varlığının taranması için doğrudan bir yöntem olan VIDAS® Staph enterotoxin II, ELFA (enzyme-linked fluorescent immunoassay) ile AOAC'nin önerdiği şekilde gerçekleştirildi.

Süt numunelerinden 25 ml alınarak 5N HCl ile pH'sı 3,5-4,0 arasında bir değere ayarlandı. Blender içerisinde 25 ml örneğe 38 ± 2 °C'de inkübe edilmiş 40 ml demineralize su ilave edildi. Homojen bir süspansiyon elde etmek için 3 dk. karıştırıldı, süspansiyon 15 dk. 18-25 °C'de bekletildi. Ekstraksiyon çözeltisindeki karıştırılmış numune 18-25 °C'de, 3000-5000 devirde 15 dk. santrifüj edildi. Üst faz, pompa yardımıyla şırınga içine yerleştirilmiş nemlendirilmiş bir emici pamuğun içinden geçirildi. Filtratın pH'sı kontrol edildi ve gerektiği durumlarda 1N NaOH ile 7.5-8.0 arasında bir değere ayarlandı. Filtratın 500 µL'si alındı ve VIDAS® SET2 reaktif sribinin numune kuyucuna pipetlendi.

Peynir numunelerinden 25 g alınarak, 38 ± 2 °C'de inkübe edilmiş 40 ml demineralize su ile homojen bir süspansiyon elde etmek için 3 dk. karıştırıldı. Süspansiyon 30 dk. 18-25 °C'de bekletildi. Örneklerin pH'sı kontrol edildi ve gerektiği durumlarda 5N HCl ile 3.5-4.0 arasında bir değere ayarlandı. Süspansiyon 18-25 °C'de, 3000-5000 g'de 15 dk. santrifüj edildikten sonra üst faz alındı. Üst faz şırınga içine yerleştirilmiş nemlendirilmiş bir emici pamuğun içinden geçirildi. Filtratın pH'sı 1N NaOH ile

Tablo 1. Örneklerin fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları

Fiziksel ve Kimyasal Analiz		Süt	Beyaz peynir	Kıyma	İnegöl köfte
pH Değeri	Min	6,20	4,65	5,36	5,59
	Max	6,70	4,99	6,86	7,69
	Ort	6,53	4,82	5,99	6,63
Kuru Madde (%)	Min	11,33	31,47	32,53	43,44
	Max	13,35	43,42	44,88	57,41
	Ort	12,51	37,71	38,97	49,70
Laktik Asit Cinsinden Asidite (LA)	Min	0,14	0,58	0,064	0,33
	Max	0,19	0,84	0,095	0,49
	Ort	0,16	0,67	0,079	0,40

Tablo 2. Örneklerin mikrobiyolojik ve toksin analiz sonuçları

Mikrobiyolojik / Toksin Analiz		Süt	Beyaz peynir	Kıyma	İnegöl köfte
TMAB	Min	8.61	5.57	5.64	4.53
(log ₁₀ kob/g-ml)	Max	9.86	7.72	6.69	7.57
TPAB	Min	6.36	3.39	5.41	3.81
(log ₁₀ kob/g-ml)	Max	7.69	3.89	6.50	5.58
Koliform	Min	7.34	2.04	2.04	2.84
(log ₁₀ kob/g-ml)	Max	8.53	3.59	6.14	4.35
LAB	Min	6.2	4.44	3.95	2.90
(log ₁₀ kob/g-ml)	Max	8.46	7.64	4.47	6.22
S. aureus	Min	2.92	2.61	3.27	3.41
(log ₁₀ kob/g-ml)	Max	5.32	4.45	6.46	4.74
SE	n / P	TE	TE	50/29	50/1

n : numune sayısı, P : pozitif numune sayısı TE: Tespit edilmedi

pH 7.5-8.0 arasında bir değere ayarlandı. 18-25 °C'de, 3000-5000 devirde 15 dk. santrifüj edilerek süzülde. Filtratın 500 µL'si alındı ve VIDAS® SET2 reaktif sribinin numune kuyucuğuna aktarıldı.

İnegöl köfte ve kıyma numunelerinden ayrı ayrı alınan 25 g örnek 25 ml demineralize su içerisinde 3 dk. karıştırılarak homojen bir süspansiyon elde edildi. Süspansiyonun çok yoğun olduğu koşullarda, 25 ml demineralize su eklenerek yeniden karıştırıldı. Tüm ekstrakt alınarak pH'sı kontrol edildi ve 5N HCl ile 4.0'a ayarlandı. 18-25 °C'de 15-30 dk. bekletildi. Ekstraksiyon çözeltisindeki karıştırılmış numune 18-25 °C'de, 3000-5000 devirde 15 dk. santrifüj edildi. Üst faz, pompa kullanılarak, şırınga içine yerleştirilmiş nemlendirilmiş bir emici pamuğun içinden geçirildi. Filtratın pH'sı kontrol edildi ve gerektiği durumlarda 1N NaOH kullanılarak 7.5-8.0 arasında bir değere ayarlandı. Çökelti oluşması durumunda, temsili bir miktar, aynı koşullarda yeniden santrifüjlendi. Filtratın 500 µL'si alındı ve VIDAS® SET2 reaktif sribinin numune kuyucuğuna aktarıldı.

VIDAS® SET2 kitiyle stafilokokal toksin analizleri striplere karşılık gelecek şekilde Solid Phase Receptacle (SPR) kuyucuklarına yerleştirilip, cihazın toksin tespit prosedürleri gerçekleştirildi. Sonuçlar "Negatif" ve "Pozitif" olarak elde edildi.

Bulgular

Araştırmada elde edilen fiziksel ve kimyasal analizlere ilişkin veriler Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1 incelendiğinde; süt, beyaz peynir, kıyma ve İnegöl köfte numunelerinin pH değerlerinin sırasıyla, 6.2-6.7, 4.65-4.99, 5.36-6.86 ve 5.59-7.69 arasında değiştiği saptanmıştır. % kuru madde değerlerinin ise, 11.33-13.35, 31.47-43.42, 32.53-44.88 ve 43.44-57.41 arasında değiştiği saptanmıştır. Laktik asit cinsinden asiditeler, 0.14-1.19, 0.58-0.84, 0.064-0.095 ve 0.33-0.49 değerleri arasında bulunmuştur.

Tablo 2 incelendiğinde süt numunelerinin TMAB, TPAB, ko-

lifform, LAB ve *S. aureus* değerleri sırasıyla 8.61-9.86 log₁₀ kob/ml, 6.36-7.69 log₁₀ kob/ml, 7.34-8.53 log₁₀ kob/ml, 6.2-8.46 log₁₀ kob/ml ve 2.92-5.32 log₁₀ kob/ml arasında bulunmuştur. İncelenen 50 çiğ süt numunesinde SEs tespit edilmemiştir.

Beyaz peynir numunelerinin TMAB, TPAB, koliform, LAB ve *S. aureus* değerleri sırasıyla 5.57-7.72 log₁₀ kob/g, 3.39-3.89 log₁₀ kob/g, 2.04-3.59 log₁₀ kob/g, 4.44-7.64 log₁₀ kob/g ve 2.61-4.45 log₁₀ kob/g arasında bulunmuştur. İncelenen 50 beyaz peynir numunesinde SEs tespit edilmemiştir. Kıyma numunelerinin TMAB, TPAB, koliform, LAB ve *S. aureus* değerleri sırasıyla 5.64-6.69 log₁₀ kob/g, 5.41-6.50 log₁₀ kob/g, 2.04-6.14 log₁₀ kob/g, 3.95-4.47 log₁₀ kob/g ve 3.27-6.46 log₁₀ kob/g arasında bulunmuştur. İncelenen 50 kıyma örneğinin 29 adedinde ≥ 0,25 ng/L düzeyinde SEs tespit edilmiştir. İnegöl köfte numunelerinin TMAB, TPAB, koliform, LAB ve *S. aureus* değerleri sırasıyla 4.53-7.57 log₁₀ kob/g, 3.81-5.58 log₁₀ kob/g, 2.84-4.35 log₁₀ kob/g, 2.90-6.22 log₁₀ kob/g ve 3.41-4.74 log₁₀ kob/g arasında bulunmuştur. İncelenen 50 İnegöl köfte örneğinin 1 adedinde ≥ 0,25 ng/L düzeyinde SEs tespit edilmiştir.

Tartışma

Süt numunelerinin fiziksel ve kimyasal analiz bulguları incelendiğinde, ortalama değerlerin normal sınırlar içerisinde olduğu gözlenmiştir. Fiziksel ve kimyasal özellikler sütlerin kalitelerinin değerlendirilmesinde önem arz etmektedir (Tekinşen ve Nizamlioğlu 2004). Bu bağlamda süt numunelerinin bazı bileşimsel (örn., pH, asitlik ve kuru madde) özelliklerinin normal sınırlar içerisinde olması, mandıralarda süt ürünleri üretiminde kullanılan sütler için fiziksel ve kimyasal kalite standartlarının sağlandığının bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

Süt numunelerinin mikrobiyolojik analiz bulguları incelendiğinde, depolama koşullarının bir göstergesi olarak kabul edilebilecek TMAB, TPAB ve LAB sayıları ile kontaminasyonun bir göstergesi olarak kabul edilen koliform bakteri sayısının fazla olduğu gözlenmiştir. Sağlıklı bir inekten hijyen kurallarına uyularak yapılan sağımla elde edilen çiğ süt steril kabul edilmekte ya da çok az sayıda bakteri içermektedir (Aksan 2011, Şahin ve Başoğlu 2014). Bu bağlamda sütlerin eldesi ve arzına kadar geçen aşamaların hepsinde farklı kaynak ve etkenlerin (örn., hayvan, alet-ekipman, personel, taşıma ve depolama koşulları) kontaminasyona yol açabileceği (Küplülü ve ark 2002, Şahin ve Başoğlu 2014, Heperkan 2016) ve güvenli gıda üretimi için etkin hijyenik tedbirlerin alınması gerektiği düşünülmektedir.

Süt numunelerinde *S. aureus* sayıları 2.92-5.32 log₁₀ kob/ml arasında bulunmuş olup *S. aureus*'un gıdalarda toksin oluşturma dozunun 10⁵-10⁸ kob/g-l ve intoksikasyon toksin düzeyinde 1 ng/g-l olduğu bilinmektedir (Bhunia 2008).

Elde edilen bu bulgu bazı araştırmacıların sonuçlarıyla benzerdir. Diler ve Baran (2014), küçük ölçekli aile tipi işletmelerden topladıkları 49 süt örneğinin stafilocok sayılarını ortalama 3.03 log₁₀ kob/ml, Ertas ve Gönülalan (2010), Kayseri ilinde satışa sunulan 100 çiğ süt numunesinin %82'sinde stafilocok sayısını 3.0-5.5 log₁₀ kob/ml arasında, Yıldırım ve ark (2016), Amasya bölgesinde tüketime sunulan 50 çiğ süt numunesinin 49'unda Mikrokok/Stafilocok sayısını 2.92-5.32 log₁₀ kob/ml arasında, Alisharlı ve ark (2003), çiğ sütlerde stafilocok sayısını ortalama 2.17 log₁₀ kob/ml saptamışlardır.

Araştırmada incelenen 50 süt numunesinde SEs tespit edilmemiştir. Bu durum *S. aureus* sayısının incelenen numunelerin büyük çoğunluğunda <10⁵'in altında, LA bakterilerinin de >10⁷'nin üzerinde olması ve *S. aureus* sayısı ve toksin oluşturma özelliğini sınırlandırabilecek inhibitör faktörlerin (örn., soğutma, rekabetçi flora) etkisiyle ilişkilendirilebilir. Nitekim *S. aureus*'un rekabetçi özelliği zayıf bir bakteri olması (Adams ve Moss 2008) dolayısıyla gıdadaki gelişiminin diğer mikroorganizmalar tarafından baskılandığı bilinmektedir. Bunun yanı sıra *E. coli*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Aeromonas* ve *Arcobacter* gibi bazı Gram negatif bakterilerin *S. aureus*'un ihtiyaç duyduğu birçok amino asit ve B grubu vitaminlerini kullanmasının toksin oluşumunu engellediği bildirilmektedir (Erol 2007). Buna karşın örneklerde bakteri varlığının saptanmadığı ancak toksininin saptandığı çalışmalarda bulunmaktadır. Nitekim Yılmaz ve Gönülalan (2010), Kayseri'de çiğ süt toplama tanklarından elde ettikleri 60 adet çiğ süt örneğinin % 50'sinde *S. aureus*, % 61'inde ise SE varlığını saptamışlardır. Araştırmacılar bu durumun, *S. aureus* sayısının sütlerin tanklarda bekleme aşamasında toksin oluşturma seviyesi olan 10⁶ kob/ml'ye ulaşmış olabileceği fakat sonrasında inhibitör etkenlerle sayıda azalma meydana gelmesinden kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir.

Beyaz peynir numunelerinin ortalama fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları incelendiğinde standart değerlere uymadığı saptanmıştır. Nitekim Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'nde (Anonim, 2015) olgunlaştırılmış beyaz peynirlerde en çok % 60 nem miktarına izin verilmektedir.

Beyaz peynir numunelerinin mikrobiyolojik değerleri incelendiğinde süt numunelerine kıyasla TPAB, LAB, koliform ve *S. aureus* sayısının daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu durum peynirde engel faktörlere (örn., su aktivitesi, tuz, pH) bağlanabilir (Rodríguez ve ark 2005, Sivri 2016). Nitekim su aktivitesinin 0.955'ten 0.005'lik bir azalmayla 0.950'ye düşmesinin *S. aureus*'un hücre içi su miktarında % 50 oranında bir azalma meydana getirdiği bilinmektedir (Sivri 2016). Bunun yanı sıra *S. aureus* 0.86 a_w ve yüksek pH'da gelişebilirken, NaCl varlığında 0.93 a_w'de pH 4.6'da gelişmemektedir. Benzer şekilde, 12 °C'de pH 7.0 ve 0.93 a_w'de gelişebilen *S. aureus* aynı koşullarda a_w değerinin

0.90'a düşmesi durumunda gelişim gösterememektedir (Adams ve Moss 2008, Baysal 2016).

Beyaz peynir numunelerinin *S. aureus* değerleri 2.61-4.45 log₁₀ kob/g arasında bulunmuştur. Bu bulgu bazı araştırmacıların sonuçlarıyla benzerdir. Altın ve Tekinşen (2002), Konya ve yöresinde tüketime sunulan salamura beyaz peynirlerin *Staphylococcus* spp., sayılarını ortalama 3,22 log₁₀ kob/g, Yıldırım ve ark (2016), Amasya bölgesinde satışa sunulan 60 peynir örneğinin 40'ında toplam Mikrokok/Stafilokok sayılarını 2-7 log₁₀ kob/g arasında, Bingöl ve Toğay (2017), İstanbul ve Şanlıurfa illerinde halk pazarı ve marketlerde satışa sunulan 52 adet Urfa peyniri örneklerinden 48'inde ortalama 4.48±1.76 log₁₀ kob/g düzeyinde tespit etmişlerdir. Rola ve ark (2016), Polonya'da çiğ süttten peynir üretiminin yapıldığı işletmelerden 2011-2013 yılları arasında hammadde, ara ürün ve son ürünlerden elde ettikleri toplam 244 numunenin %50'sinin *S. aureus* ile kontamine olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar üretim yeri çevresi ve personel ellerinden aldıkları swap örneklerinden de 4.34 log₁₀ kob düzeyinde bakteriyi izole ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmalarda incelenen örneklerin bakteriyel yükleri arasında gözlemlenen farklılıkların numunelerin temin edildiği yerlerin hijyenik durumu, muhafaza koşulları, hammadde kalite, üretim teknikleri, pazarlama yöntemleri, analiz metodu ve personel eğitim düzeyi farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

İncelenen 50 beyaz peynir numunesinde SEs tespit edilmemiştir. Bu durum *S. aureus* sayısının engel faktörlere bağlı olarak azalması ve toksin oluşturacak sayıya erişememesiyle açıklanabilir. SEs'lerin rutin olarak laboratuvarlarda saptanması maliyet ve ekipman açısından zor olduğundan genellikle *S. aureus*'un sayımı bu amaç için gösterge olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte örneklerde *S. aureus* varlığı saptanmadığı durumlarda da peynir örneği güvenli kabul edilememektedir. Çünkü birçok faktörün etkisiyle *S. aureus* yıkılmış olsa dahi ortamda aktif enterotoksin bulunması söz konusudur (Tekinşen ve Tekinşen 2005). Nitekim Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde de (Anonim 2011), güvenilirliğinden şüphe edilen gıdalar için Ek-1'de yer almayan mikroorganizma ve bunların toksin ve metabolitlerini tespit etmek amacıyla işlemin uygunluğunun doğrulanması veya risk analizi kapsamında daha ayrıntılı numune alma ve analiz yapma hakkından bahsedilmektedir.

Kıyma numunelerinin fiziksel ve kimyasal analiz bulguları incelendiğinde, ortalama değerlerin pH, asidite ve kuru madde için sırasıyla 5.99, 0.079 ve % 38.97 olduğu saptanmıştır. Bu bulgular bazı araştırmacıların sonuçlarıyla benzerdir. Keleş ve ark (2006), 41 kıyma numunesinin pH değerlerini ve Çetin ve ark (2010), 127 kıyma numunesinin pH değerlerini sırasıyla ortalama 5.94 ve 5.97 olarak tespit etmişlerdir.

Kıyma numunelerinde tespit edilen mezofilik (5.64-6.69 log₁₀ kob/g), psikrofilik (5.41-6.50 log₁₀ kob/g), LA (2.04-6.14 log₁₀ kob/g) ve koliform bakteri (3.95-4.47 log₁₀ kob/g) sayıları kıyma gibi birçok besinin hammadde olan süt numunelerine kıyasla daha düşük, buna karşın *S. aureus* sayısı (3.27-6.46 log₁₀ kob/g) daha yüksek bulunmuştur. Bu bulgulara benzer şekilde Gönülalan ve Köse (2003), Kayseri'de kıyma numunelerinin TMAB, koliform sayılarını 5.86-9.72 ve 1.93-8.65 log₁₀ kob/g arasında, Başkaya ve ark (2004), İstanbul'da 27 adet hazır kıyma örneğinde TMAB, koliform sayılarını 6.43 ve 4.61 log₁₀ kob/g, Keleş ve ark (2006), Konya'da 41 kıyma örneğinin TMAB ve koliform sayılarını ortalama 7.17 ve 4.77 log₁₀ kob/g, Çetin ve ark (2010), İstanbul'da 127 adet satışa hazır kıyma örneğinde TMAB sayılarını ortalama 6.11 log₁₀ kob/g, Atasever ve Atasever (2015), Erzurum'da 100 adet kıyma örneğinde TMAB sayısını ortalama 7.33±1.23 log₁₀ kob/g, Erdem ve ark (2014), İstanbul'da 60 kıyma örneğinde koliform sayısını 2.54-7.65 log₁₀ kob/g arasında tespit etmişlerdir. Bulgulara benzer şekilde, Başkaya ve ark (2004), İstanbul'da hazır kıymalarda *S. aureus* sayılarını ortalama 3.5 log₁₀ kob/g, Çetin ve ark (2010), İstanbul'da satışa sunulan kıymalarda *S. aureus* sayılarını ortalama 3.49 log₁₀ kob/g, Erdem ve ark (2014), İstanbul'da 60 kıyma örneğinde *S. aureus* sayılarını 2.81-6.56 log₁₀ kob/g arasında saptamışlardır. Atasever ve Atasever (2015), Erzurum'da 100 adet kıyma örneğinde *S. aureus* sayısını araştırma bulgularından daha az (ortalama 1.76±0.38 log₁₀ kob/g) düzeyde tespit etmişlerdir. Araştırmaların bulguları arasındaki farklılıklar birçok faktöre bağlı olabilmektedir. Kesim sonrası karkaslardaki bakteri sayısı ortalama 10¹⁻³ kob/cm² iken kıyma çeşitli kaynaklardan (örn., işleme sırasında kullanılan ekipmanlar, personel, hava) kontamine olabilmektedir (Atasever ve Atasever 2015, Heperkan 2016). Kıyma haline getirilen et preparatlarının yüzey alanlarının genişlemesi ve parçalanma işlemlerinde kontaminasyon riski göz önüne alınmalıdır (Atasever ve Atasever 2015).

İncelenen 50 kıyma örneğinin 29 adedinde ≥ 0.25 ng/L düzeyinde SEs tespit edilmiştir. Numunelerin büyük çoğunluğunda SEs'lerin tespit edilmesi, 10⁶'ya yakın ve daha yüksek sayıda *S. aureus* içermesiyle açıklanabilir. Kıyma üretimi sırasında personele bağlı kontaminasyon riski de önem arz etmektedir (Argudín ve ark 2010). Kıyma yapımında kullanılan etlerde bulunabilecek mikroorganizmaların kıymanın hazırlanması aşamalarında ürünü kontamine ederek gelişim göstermeleri kıymaların raf ömrünün azalmasına neden olmaktadır. Bunun yanı sıra kıymaların hazırlanmasında içeriklerinde bulunmaması gereken dokulara yer verilmesi de ürünlerin mikrobiyolojik kalitelerini olumsuz etkilemektedir (Baskaya ve ark 2004).

İnegöl köfte numunelerinin ortalama kimyasal analiz bulguları incelendiğinde üretimde kullanılan kıyma numunelerine göre daha düşük pH, yüksek asidite ve nispeten

fazla kuru madde oranlarına sahip oldukları görülmektedir. Bulgulara benzer şekilde Keleş ve ark (2006), 29 soğutulmuş ve 17 dondurulmuş İnegöl köfte numunesinin pH değerlerini sırasıyla ortalama 6.03 ve 6.37, Atlan ve İşleyici (2012), 20 adet dondurulmuş İnegöl köftenin pH değerlerini 5.81 ile 7.57 arasında, Soyutemiz (2000), 12 adet İnegöl köfte numunesinin rutubet oranlarını % 49.39-58.87 arasında ve pH değerlerini de 6.33-8.40 arasında tespit etmişlerdir.

İnegöl köfte numunelerinde tespit edilen TMAB (4.53-7.57 log₁₀ kob/g), TPAB (3.81-5.58 log₁₀ kob/g), LA (2.90-6.22 log₁₀ kob/g), koliform bakteri (2.84-4.35 log₁₀ kob/g) ve *S. aureus* (3.41-4.74 log₁₀ kob/g) sayılarının kıyma numunelerine benzerlik gösterdiği gözlemlenmektedir. Bulgulara benzer şekilde Keleş ve ark (2006), 29 soğutulmuş İnegöl köfte numunesinin TMAB ve koliform sayılarını 7.19 ve 5.17 log₁₀ kob/g ve 17 dondurulmuş İnegöl köfte numunesinin TMAB ve koliform sayılarını 6.86 ve 4.65 log₁₀ kob/g, Günşen ve Büyükyörük (2005), 60 adet dondurulmuş İnegöl köftenin TPAB sayısını 3.38-4.75 log₁₀ kob/g, TMAB sayısını 4.27-6.57 log₁₀ kob/g, koliform bakteri sayısını ise 1.60-4.57 log₁₀ kob/g, Kök ve ark (2007), Aydın'da 100 adet Çine köftesinin TMAB sayısını 4.44-7.53 log₁₀ kob/g, koliform sayısını 2.74-6.32 log₁₀ kob/g, *S. aureus* sayısını 3.20-5.63 log₁₀ kob/g, Can ve ark (2013), 150 adet Sivas köftesinin TMAB sayısını 2.7-4.9 log₁₀ kob/g, TPAB sayısını 1.6-3.8 log₁₀ kob/g ve koagülaz pozitif *S. aureus* sayısını <10-1.9 log₁₀ kob/g arasında tespit etmişlerdir. Kıymadan hazırlanan et ürünlerinin kalitesini, kullanılan kıyma ve diğer katkı maddelerinin niteliği belirlemektedir (Yıldız ve ark 2004). Kıyma üretiminde önem arz eden faktörler (örn., personel hijyeni, hammadde kalitesi, yasal mevzuata uygun üretim, muhafaza koşulları) köftelerin mikrobiyolojik kalitelerini direkt etkileyen unsurlar olmaktadır. Mikrobiyolojik açıdan kaliteli ve güvenli et ürünleri üretimi ancak üretimin kesim, depolama, parçalama, taşıma, dağıtım, teşhir gibi tüm işlem basamaklarında asgari hijyenik koşulların oluşturulmasıyla mümkün olmaktadır (Atasever ve Atasever 2015).

İncelenen 50 İnegöl köfte örneğinin 1 adedinde ≥ 0.25 ng/L düzeyinde SEs tespit edilmiştir. Bu durum, SEs kaynaklı intoksikasyonlar bakımından bu ürünlerin potansiyel bir halk sağlığı riski taşıyabileceğini ortaya koymaktadır. *S. aureus* sayısının gıdada enterotoksin üretiminin gerçekleşebileceği seviyelere gelebilmesi bekleme ve depolama aşamalarındaki koşullarla yakından ilişkilidir. Nitekim Sağun ve Alisharlı (2003), 10⁵ kob/g düzeyinde enterotoksin oluşturan *S. aureus* inokule ettikleri çiğ köftelerin farklı depolama sıcaklıklarında (10, 21-23 ve 30 °C) 24 saat muhafazası sırasında 10 °C'de örneklerde toksin saptanmadığını fakat 21-23 °C'de 24 saat ve 30 °C'de 12. saatten itibaren *S. aureus*'un toksin üretebileceğini ifade etmişlerdir.

Öneriler

Araştırmada 200 numunenin 30 tanesinde ≥ 0.25 ng/L düzeyinde SEs tespit edilmesi ve toksin tespit edilen numunelerin 14 tanesinin < 10⁶'dan daha düşük sayıda *S. aureus* içermesi araştırma hipotezini desteklemektedir. SEs'lerin gıdalara uygulanan ısı işlem ve muhafaza süresince dayanıklı olmaları *S. aureus* varlığının tespit edilmediği gıdalarda toksinin var olabileceğini, bunun yanı sıra *S. aureus*'un bütün suşları toksin oluşturmadığından stafilokokal gıda zehirlenmelerinin kesin teşhisinde gıdalarda SEs'lerin varlığının tespit edilmesinin oldukça önemli olduğunu göstermektedir. Ayrıca gıdalarda SEs'lerin tespit edilme duyarlılığı ve süresi klasik kültürel mikrobiyolojik yöntemlerle kıyaslandığında, insanlardaki stafilointerotoksikozis insidensini azaltma bakımından da önem arz etmektedir.

Gıda ile ilişkilendirilebilecek hemen hemen her ortamda *S. aureus*'un bulunabilmesi bu bakteriden arı gıda üretimini ve "sıfır tolerans" yaklaşımını oldukça zor kılmaktadır. Nitekim araştırmada kıyma ve İnegöl köfte numunelerinde yüksek sayıda *S. aureus* tespit edilmesi ve 29 kıyma ve bir İnegöl köfte numunesinde toksin saptanması, kötü hammadde kalitesinin, hazırlanmaları sırasında yetersiz personel ve işletme hijyeninin ve/veya uygun olmayan muhafaza koşullarının bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Dolayısıyla stafilokokal gıda zehirlenmelerinin azaltılabilmesi yüksek kalitede hammadde ve katkı maddesi kullanımı, işletmelerde etkili temizlik ve dezenfeksiyon ile personel hijyenine gereken önemin verilmesiyle mümkün olacaktır. SE oluşmuş gıdalara uygulanacak ısı işleminin intoksikasyona karşı koruyucu bir fonksiyonu olmadığından, SE oluşumu bakımından yüksek riskli kabul edilen gıdaların mikrobiyolojik analizlerinde kültürel yöntemlerin yanı sıra toksin analizlerinin de gerçekleştirilmesinin önemli olduğu düşünülmektedir.

Teşekkür

Araştırmayı 10401015 numaralı proje ile maddi yönden destekleyen Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz. Araştırma özeti "VII International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology-BioMicroWorld 2017" Kongresi'nde sözlü olarak sunulmuştur.

Kaynaklar

- Adams MR, Moss MO, 2008. Chapter 7, Bacterial Agents of Foodborne Illness, *Staphylococcus aureus*, In: Food Microbiology, 3rd Edition, RSC Publishing, Cambridge, England, pp; 252-256.
- APHA, 1992. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. Ed; Marshall R, 16th Edition, American Public Health Association, Washington, D.C, USA.

- Aksan E, 2011. Gıdalarda Mikrobiyal Bozulmalar, In: Gıda Mikrobiyolojisi, Ed; Erkmen O, Efil Yayınevi, Ankara, Türkiye, pp; 78-122.
- Alişarlı M, Sancak YC, Akkaya L, Elibol C, 2003. Bazı sütli gıdalarda *Staphylococcus aureus*'un izolasyonu, termonukleaz aktivitesi ve enterotoksijenik özelliklerinin araştırılması. Turk J Vet Anim Sci, 27, 1457-1462.
- Altın S, Tekinşen OC, 2002. Konya ve yöresinde tüketime sunulan salamura beyaz peynirlerin kalitesi. Vet Bil Derg, 18, 3, 13-18.
- Anonim, 2011. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, Resmi Gazete, Sayı: 28157.
- Anonim, 2015. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği, Resmi Gazete, Sayı: 29261.
- AOAC, 2012. Official Methods of Analysis of AOAC International. 19th Edition, Gaithersburg, Maryland, USA.
- Argudín MA, Mendoza MC, Rodicio MS, 2010. Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. J MDPI, 2 (7), 1751-1773.
- Atanassova V, Meindl A, Ring C, 2001. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins in raw pork and uncooked smoked ham-a comparison of classical culturing detection and RFLP-PCR. Int J Food Microbiol, 68, 105-113.
- Atasever MA, Atasever M, 2015. Isolation and identification of some pathogens from minced meat samples. J Fac Vet Med Istanbul Univ, 41 (1), 60-68.
- Atlan M, İşleyici Ö, 2012. Van İli'nde dondurulmuş olarak satışa sunulan bazı et ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesi. Atatürk Üni Vet Bil Derg, 7, 2, 93-103.
- Başkaya R, Karaca T, Sevinç İ, Çakmak Ö, Yıldız A, Yörük M, 2004. İstanbul'da satışa sunulan hazır kıymaların histolojik, mikrobiyolojik ve serolojik kalitesi. YYÜ Vet Fak Derg, 15 (1-2), 41-46.
- Baysal AH, 2016. Yöntemlerin Birlikte Kullanımı ile Kontrol (Engel Kavramı), In: Temel Gıda Mikrobiyolojisi, Ed; Heperkan D, Osmanlı Mücellit Matbaacılık, Ankara, Türkiye, pp; 527-531.
- Bennet RW, Lancette GA, 2001. *Staphylococcus aureus*. In: Bacteriological Analytical Manuel, Chapter 12.
- Bhunja AK, 2008. Chapter 6, *Staphylococcus aureus*, In: Foodborne Microbial Pathogens, Mechanisms and Pathogenesis, Springer Science+Business Media, LLC, New York, USA, pp; 125-134.
- Bingöl KK, Toğay SÖ, 2017. Urfa peynirlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında enterotoksin üretim potansiyeli ve metisilin dirençliliği. Akademik Gıda, 15, (1), 29-35.
- Can OP, Şahin S, Erşan M, Harun F, 2013. Sivas kofte and examination of microbiological quality. Biotechnol Anim Husband, 29, 1, 133-143.
- Çetin Ö, Bingöl EB, Çolak H, Ergün Ö, Demir C, 2010. The microbiological, serological and chemical qualities of minced meat marketed in İstanbul. Turk J Vet Anim Sci, 34(4), 407-412.
- Diler A, Baran A, 2014. Erzurum'un Hınıs ilçesi çevresindeki küçük ölçekli işletme tank sütlerinden alınan çiğ süt örneklerinin bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi. Alinteri Ziraat Bilimler Dergisi, 26 (B), 18-24.
- Erdem AK, Sağlam D, Özer D, Özçelik E, 2014. Microbiological quality of minced meat samples marketed in İstanbul. YYÜ Vet Fak Derg, 25 (3), 67-70.
- Erol İ, 2007. *Staphylococcus aureus*, In: Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi, Pozitif Matbaacılık, Ankara, Türkiye, pp; 135-144.
- Ertaş N, Gönülalan Z, 2010. Kayseri ilinde satılan çiğ sütlerde *Staphylococcus aureus* ve enterotoksinlerinin varlığı üzerine araştırmalar. FÜ Sağ Bil Vet Derg, 24 (1), 11-15.
- Gönülalan Z, Köse A, 2003. Kayseri ilinde satışa sunulan sığır kıymalarının mikrobiyolojik kalitesi. FÜ Sağlık Bil Derg, 17, 1, 49-53.
- Günşen U, Büyükyörük İ, 2005. Bazı dondurulmuş gıdalarda mikrobiyolojik kalite. Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi, 7, 36-44.
- Heperkan D, 2016. Gıdaların Normal Mikrobiyolojik Kalitesi ve Önemi, In: Temel Gıda Mikrobiyolojisi, Ed; Heperkan D, Osmanlı Mücellit Matbaacılık, Ankara, Türkiye, pp; 41-50.
- Jorgensen HJ, Mathisen T, Lovseth A, Omoe K, Ovale KS, Loncarevic S, 2005. An outbreak of staphylococcal food poisoning caused by enterotoxin H in mashed potato made with raw milk. FEMS Microbiol Lett, 252, 267-272.
- Keleş A, Uçar G, Güner A, 2006. İnegöl köfte ve hamburgerde *E. coli* O157:H7 varlığının araştırılması. Vet Bil Derg, 22, 1-2, 51-57.
- Kök F, Keskin D, Büyükyörük S, 2007. Çine köftelerinin mikrobiyolojik kalitelerinin incelenmesi. Erciyes Üniv Vet Fak Derg, 4, 1, 29-33.
- Küplülü Ö, Sarımeahmetoğlu B, Kaymaz Ş, 2002. Pastörize sütlerde ELISA tekniği ile stafilkokal enterotoksin varlığının belirlenmesi Turk J Vet Anim Sci, 26, 631-637.
- Rodríguez E, Calzada J, Arqués JL, Rodríguez MJ, Nuñez M, Medina M, 2005. Antimicrobial activity of pediocin-producing *Lactococcus lactis* on *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 in cheese. Sci Direct 15, (1), 51-57.
- Rola J G, Czubkowska A, Korpysa-Dzirba W, Osek J, 2016. Occurrence of *Staphylococcus aureus* on farms with small scale production of raw milk cheeses in Poland. Toxins (Basel), 8, 62, 1-9.
- Sağun E, Alişarlı M, 2003. Farklı sıcaklıklarda muhafazanın çiğ köfte de *Staphylococcus aureus*'un gelişimi ve enterotoksin üretimi üzerine etkisi. Turk J Vet Anim Sci, 27, 839-845.
- Sivri D, 2016. Düşük Su Aktivitesi ve Kurutma ile Kontrol, In: Temel Gıda Mikrobiyolojisi, Ed; Heperkan D, Osmanlı Mücellit Matbaacılık, Ankara, Türkiye, pp; 467-474.
- Soyutemiz GE, 2000. Bursa'da satışa sunulan beş farklı grup hazır köftenin kimyasal bileşimi ve pH değerlerinin saptanması. Gıda, 25, 1, 49-53.
- Şahin İ, Başoğlu F, 2014. Gıda Maddelerine Göre Bozulmaya Neden Olan Mikroorganizmaların Dağılımı ve Neden Oluşları Değişimler, In: Gıda Mikrobiyolojisi, Dora Basım

- Yayın Dağıtım, Bursa, Türkiye, pp; 142-143.
- Tekinşen OC, Nizamlioğlu M, 2004. Sütün Genel Özellikleri, Fiziksel Nitelikler, In: Süt, Kimya, Ofset Hazırlık Baskı, SÜ Basımevi, Konya, Türkiye, pp; 124-127.
- Tekinşen OC, Tekinşen KK, 2005. Peynir Teknolojisi, In: Süt ve Süt Ürünleri, Temel Bilgiler, Teknoloji, Kalite Kontrolü, SÜ Basımevi, Konya, Türkiye, pp; 145-242.
- Yıldırım T, Sırıken B, Yavuz C, 2016. Çiğ süt ve peynirlerde koagülaz pozitif stafilocoklar. Vet Hekim Der Derg, 87, (2): 3-12.
- Yıldız A, Karaca T, Çakmak Ö, Yörük M, Başkaya R, 2004. İstanbul'da tüketime sunulan köftelerin histolojik, mikrobiyolojik ve serolojik kalitesi. YYÜ Vet Fak Derg, 15, (1-2), 53-57.
- Yılmaz S, Gönülalan Z, 2010. Detection of *Staphylococcus aureus* and its enterotoxins in raw milk samples retailed in Kayseri. J Health Sci, 19, (1) 26-33.
- Zorba NN, 2011. Gıda Kaynaklı Mikrobiyal Hastalıklar, In: Gıda Mikrobiyolojisi, Ed; Erkmen O, Eflatun Basım Dağıtım Yayıncılık, Ankara, Türkiye, pp; 121-124.