

ENTEROTOKSİJENİK STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUŞLARININ BEYAZ PEYNİRDE ÜRETİM VE OLGUNLAŞMA SIRASINDAKİ ÜREME VE ENTEROTOKSİN OLUŞTURMA YETENEKLERİ

Bülent Mutluer<sup>1</sup>  
Şerif Kaymaz<sup>1</sup>

İrfan Erol<sup>2</sup>  
Sadi Akgün<sup>2</sup>

Growth and enterotoxin production of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* strains during the manufacture and ripening of white cheese

**Summary:** *Growth and enterotoxin production ability of 4 different Staphylococcus aureus strains, which produce enterotoxin A, B, C and D were investigated during manufacture and ripening of white cheese. White cheese samples were manufactured from raw and pasteurized cows milk artificially contaminated with enterotoxigenic S. aureus strain at level of 10<sup>5</sup> cfu/ml and stored at 4°C for 60 days. Starter culture (S. lactis and S. cremoris, 5:95) was added to the pasteurized milk at the rate of 2 % (v/v). S. aureus count, pH, salt content and enterotoxins A, B, C and D were determined during the manufacture and six different stages of 60 days storage. S. aureus count were estimated on plates of Baird-Parker agar. Enterotoxins were determined by SET-RPLA kit. S. aureus counts were found always slightly higher on the cheese made from raw milk than on the cheese made from pasteurized milk. Growth of S. aureus in all cheese samples reduced after 30 days storage when the pH of the samples was 4.7 or lower. Enterotoxin A was only detected at the first day of ripening in cheese made from raw milk having pH over 6.2. During ripening time and after 60 days storage the cheese samples made from raw milk still contained enterotoxin A. It must be noted that cheeses made from raw milk contaminated with S. aureus, especially produce enterotoxin A have been implicated in staphylococcal food-poisoning outbreaks.*

**Özet:** *Enterotoksijenik Staphylococcus aureus suşlarının beyaz peynirin yapım ve olgunlaşma sürecindeki üreme ve toksin oluşturma yeteneklerinin incelendiği bu çalışmada deneysel olarak A, B, C ve D tipi toksin oluşturan S. aureus suşları ile 10<sup>5</sup> kob/ml düzeyde kontamine edilen çiğ ve pastörize*

1 Prof. Dr. AÜ Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD Ankara.

2 Doç. Dr. AÜ Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD Ankara.

sütlerden yapılan beyaz peynir numuneleri 4°C'de 60 gün olgunlaştırıldı. Beyaz peynir yapımında kullanılan pastörize sütlere % 2 oranında starter kültür (*S. lactis* ve *S. cremoris* 5:95) ilave edildi. Üretimin çeşitli safhalarında ve 60 günlük olgunlaşma süresi içinde 6 farklı günde alınan numunelerde *S. aureus* sayımı, pH, tuz miktarı ve A, B, C, D tipi enterotoksin tayinleri yapıldı. *S. aureus* sayımı Baird-Parker agar, enterotoksin tayini SET-RPLA kit kullanılarak gerçekleştirildi. *S. aureus* sayılarının çığ süttten yapılan peynirlerde üretim ve olgunlaşma sürecinin her aşamasında pastörize süttten yapılan peynirlerdekinden biraz daha fazla olduğu saptandı. Bütün peynir numunelerinde *S. aureus* sayıları pH değerinin 4.7 veya daha düşük olduğu 30 günlük olgunlaşma süresi sonunda azaldı. Çığ süttten yapılan beyaz peynir numunelerinde pH'nın 6.2 nin üzerinde olduğu olgunlaşmanın 1. gününde sadece enterotoksin A olduğu, olgunlaşma süresi içerisinde ve 60 günlük depolama süresi sonunda da bu grup peynirlerde enterotoksin A'nın varlığı gözlemlendi. Sonuç olarak özellikle enterotoksin A oluşturan *S. aureus* suşları ile kontamine çığ sütlerden yapılan beyaz peynirlerin stafilokokal gıda zehirlenmelerine neden olabileceği saptandı.

## Giriş

Stafilokokal gıda zehirlenmesi tüm dünyada sıklıkla rastlanılan gıda kaynaklı hastalıklarından birisidir. Türkiye'de stafilokokal gıda zehirlenme vakaları ile ilgili resmi raporlar bulunmamasına karşın, çeşitli ülkelerde yapılan epidemiyolojik çalışmalar gıda zehirlenme vakalarının yaklaşık 1/3'ünün enterotoksijenik *S. aureus*'lar ile kontamine gıda maddelerinden kaynaklandığını ortaya koymuştur (3, 8, 14). Zehirlenme gıdada stafilokoklar tarafından üretilmiş enterotoksinin alınmasından 2-4 saat sonra kusma ve ishale ortaya çıkmakta ve genellikle 24 saatten fazla sürmeyen klinik belirtiler nedeni ile gerektiği şekilde dikkate alınmamaktadır. Süt ve süt ürünlerinin stafilokokal gıda zehirlenmelerinin en önemli kaynaklarından biri olduğu bildirilmektedir. Çeşitli ülkelerde süt ve süt ürünlerinden kaynaklanan çok sayıda stafilokokal gıda zehirlenme vakası rapor edilmiştir (3, 6, 7, 8, 14). Süt ürünlerinden kaynaklanan stafilokokal gıda zehirlenmelerinin pek çoğunun çığ veya yeterli şekilde pastörize edilmemiş sütlerden ileri geldiği bildirilmektedir (18). Süt ve süt ürünlerinde stafilokokların bulunuşu süttün inek memesi, süt sağımı ve süttün işlenmesinde çalışan personel ve çevresel kaynaklardan kontaminasyonu veya pastörizasyondan sonra yeterince temizlenmemiş ve dezenfekte edilmemiş ekipmanlarla teması ilgi ilgilidir.

Santos ve ark. (29) peynir yapılacak çiğ sütlerin % 46,9'unda, pastörize sütlerin % 6'sında ortalama  $1.8 \times 10^3$  kob/ml'nin üzerinde *S. aureus* izole etmişlerdir. Ahmad ve ark. (2) süt ve süt ürünlerinden izole ettikleri *S. aureus* suşlarının % 36'sının enterotoksijenik olduğunu, bunların A, B ve E tipi toksin ürettiklerini bildirmektedirler. Bautista ve ark. (5) çiğ koyun sütlerinde yaz aylarında  $10^4$ – $10^5$  kob/ml stafilokokk izole etmişler, bunlardan % 62'sinin koagulaz pozitif, toplam izolatların ise % 63'ünün enterotoksijenik olduklarını saptamışlardır.

Tatini ve ark. (31) çiğ sütte *S. aureus*'un rekabetçi floradan önemli ölçüde etkilendiğini, ısı işlemi görmüş sütlerde daha kolay üreme ve toksin oluşumu gözleendiğini bildirmektedirler. Donelly ve ark. (10) *S. aureus* suşlarının az sayıda mikroorganizma içeren çiğ veya pastörize sütlerde mikrobiyel yükü fazla olan çiğ sütlerdekinden daha iyi üreyebildiklerini ve toksin oluşturdıklarını saptamışlardır. Çiğ sütlerde koagulaz pozitif *S. aureus* sayısının 25–3000 kob/ml'den fazla olduğunu bildiren çok sayıda araştırma mevcuttur (11). Türkiye'de Kasımoğlu (19) incelemiş olduğu çiğ süt numunelerin % 31,9'undan koagulaz pozitif *S. aureus* izole etmiştir.

Enterotoksijenik *S. aureus* suşları ile kontamine sütlerin peynir yapımında kullanılması halinde *S. aureus*'ların peynir yapımı sırasında ve olgunlaşma periyodunun erken dönemlerinde üreyebildikleri ve toksin oluşturdıkları çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (15, 24, 30, 32, 34). Peynirlerde saptanabilir düzeyde toksin oluşumu için sütlerde mevcut enterotoksijenik *S. aureus* sayısının  $10^7$  kob/ml'den fazla olması gerektiği belirtilmektedir (30, 32).

Peynirlerin enterotoksijenik *S. aureus* suşları ile kontaminasyonu ve enterotoksin oluşumu dünyanın pek çok ülkesinde sıklıkla karşılaşılan bir sorundur ve ayrıntılı şekilde incelenmiştir (1, 5, 23, 33, 35). Türkiye'de çeşitli peynirlerin *S. aureus*'la kontaminasyonu üzerinde yapılan çalışmalarda incelenen peynir numunelerinin % 28–40'ının *S. aureus*'la kontamine olduğu bildirilmektedir (4, 19, 20, 33, 37). Özalp ve ark. (25) enterotoksijenik stafilokokklar ve salmonella yönünden inceledikleri 26 adet Erzincan tulum peyniri numunesinde enterotoksijenik *S. aureus* ile salmonella izole edemedikleri halde numunelerden birinde fare ve kitten test ile enterotoksin saptamışlardır. Yavuz (37) beyaz peynirlerden izole ettiği *S. aureus* suşlarının % 23'ünün enterotoksijenik olduğunu bildirmektedir. Türkiye'de en çok üretilen süt ürünü olan beyaz peynir çoğunlukla geleneksel

yöntemle çiğ inek sütü veya koyun sütü karışımlarından yapılmaktadır. Beyaz peynir üretiminde genellikle çiğ süt kullanılması nedeni ile sütün başlangıçtaki mikrobiyel yükü ile yapım, olgunlaştırma ve depolama aşamalarında uygulanan teknik ve hijyenik koşulların yetersizliğine bağlı olarak yukarıda belirtilen araştırma bulguları dikkate alındığında başta stafilokokal gıda zehirlenmesi olmak üzere gıda enfeksiyon ve zehirlenmeleri yönünden sağlık riski taşıması olasıdır. İşte bu düşünceden hareketle bu çalışma enterotoksijenik *S. aureus* suşları ile deneysel olarak kontamine edilmiş çiğ ve pastörize süttten yapılmış beyaz peynirlerde *S. aureus*'ların üreme ve toksin oluşturma yeteneklerini belirleyerek beyaz peynirlerin stafilokokal gıda zehirlenmesi açısından taşıdıkları sağlık riskini ortaya koyabilmek ve soruna çözüm önerileri getirebilmek amacı ile ele alınmıştır.

### Materyal ve Metot

Enterotoksijenik *S. aureus* suşları ile deneysel olarak kontamine edilmiş çiğ ve pastörize sütlerden yapılan beyaz peynir numunelerinin materyal olarak kullanıldığı bu çalışmada yararlanılan test suşları ve peynir üretim teknolojisi ile ilgili bilgiler aşağıda belirtilmiştir.

*Test suşları:* Süt numunelerinin deneysel kontaminasyonunda kullanılan ve A, B, C, D tipi toksin oluşturan *Staphylococcus aureus* SEA 100, SEB (ATCC 14458), SEC (F 110) ve SED (FRI 472) test suşları Berlin Eyalet Gıda, İlaç ve Salgınlar Enstitüsü'nden (Landesuntersuchungsinstitut für Lebensmittel, Arzneimittel und Tierseuchen, Berlin) sağlanmıştır. Test suşlarından inokulum hazırlanmasında stok kültürlerden Brain Heart Infusion Broth'a ekim yapılarak 37°C'de 24 saat inkube edildi, daha sonra Baird Parker agar'da üreyen 24 saatlik kültürler sütlerin inokulasyonunda kullanıldı. Ön denemelerle Brain Heart Infusion Broth (BHI)'da ve daha sonra da pastörize sütte 37°C'de 1 saatteki üreme dinamiği ile toksin oluşturma yeteneği saptanan *S. aureus* test suşlarının toksin oluşturmadığı belirlenen ve ml'sinde  $10^5$  kob *S. aureus* içeren sütün dilüsyonlarından 500 ml'si inokulasyonda kullanıldı.

*Starter kültürler:* Pastörize süttten beyaz peynir üretiminde pastörize sütlere *S. lactis* ve *S. cremoris* (5: 95) kombinasyonundan oluşan ticari starter kültür (0-Grup, G3 Mix culture, Typ 1, 2, 6, Fa. WIESBY, Almanya) % 2 oranında katıldı.

*Peynir yapımı*: Geleneksel yöntemin uygulandığı beyaz peynir yapımında sağımdan 1-2 saat sonra temin edilen ve *S. aureus* ile kontamine olmadığı belirlenen 40 lt inek sütü herbiri 20 litrelik iki gruba ayrıldı. Birinci grup süt numuneleri çiğ olarak doğrudan peynir yapımında kullanılırken, ikinci grup süt numuneleri 72°C de 15-20 sn ısıtılarak pastörize edildi. Peynir yapılacak her iki grup süt numunesinin ısıları 32°C' ye ayarlandıktan sonra her grup kendi içersinde 5'er litrelik 4 eşit alt gruba ayrıldı. Herbir alt gruptaki süte, ml'sinde 10<sup>5</sup> kob *S. aureus* olacak şekilde ayrı ayrı SEA, SEB, SEC ve SED test suşları inokule edildi. Çiğ süt doğrudan, pastörize süt ise % 2 oranında starter kültür ve CaCl<sub>2</sub> (10 g / 100 kg) ilave edildikten sonra mayalandı. Peynir mayası olarak hayvansal kökenli 1/10000 kuvvetindeki kimozin (20 ml/100 kg) kullanıldı. Yeterli derecede sertlik kazanması için 60 dakika bekletilen pıhtı 2 x 2 x 2 cm boyutunda kesildikten sonra 2 saat süreyle baskı altında süzüldü. Teleme 8 x 8 x 8 cm ebadında kesilerek % 16 lık tuzlu suda 12 saat bekletildi. Salamuradan alınan peynir numuneleri % 16 tuzlu su içeren cam kavanozlarda 60 günlük olgunlaşma periodu boyunca + 4°C' de muhafaza edildi.

*Numunelerin alınması*: *S. aureus* test suşlarının inokulasyonundan önce ve sonra olmak üzere çiğ ve pastörize süttten, peynir yapımı sırasında pıhtı, telme ve serumdan, olgunlaşma periodunun 1., 3., 7., 15., 30. ve 60. günlerinde de peynirlerden mikrobiyolojik analizler, pH, tuz ve toksin tayini amacı ile numuneler alındı.

*Mikrobiyolojik analizler*: *Staphylococcus aureus* sayımı yönünden yapılan mikrobiyolojik analizlerde süt ve peynir numunelerinin steril peptonlu suda 10<sup>-8</sup>e kadar hazırlanan dilusyonlarından damla plak yöntemi ile BAIRD-PARKER Agar'a çift paralelli ekimler yapılarak plaklar 37°C'de 48 saat inkube edildi. İnokulasyon sonunda koagulaz pozitif oldukları belirlenen tipik koloniler *S. aureus* olarak değerlendirildi.

*Enterotoksin tayini*: Enterotoksin tayini amacı ile süt ve peynir numunelerinin 10 g'ı 10 ml serum fizyolojik ile homojenize edildikten sonra +4°C'de 900 x g'de 30 dakika santrifüje edildi. Üstte kalan sıvı 0.20 Mm'lik membran filtreden (Minisart N, Sartorius) süzülerek süzüntüde A, B, C ve D tipi enterotoksinlerin varlığı Reserved Passive Latex Agglutination Test kiti (SET-RPLA, TD 900, OXOID) ile saptandı (28).

*Tuz ve pH tayini*: Numunelerin pH değerleri elektronik pH-metre (PORTAMESS 751, KNICK) ile, tuz miktarı ise FIL/IDF'in standart metoduna göre saptandı (12).

### Bulgular

*Çiğ süttten yapılan beyaz peynirde S. aureus'ların gelişimi*: Peynir yapılacak çiğ sütlerde inokulasyondan hemen sonra *S. aureus* SEA, SEB, SEC ve SED sayılarının sırasıyla  $3.0 \times 10^5$ ,  $2.6 \times 10^5$ ,  $2.0 \times 10^5$  ve  $6.6 \times 10^5$  kob/ml olduğu saptandı. Pıhtı aşamasında büyük ölçüde değişmeden kalan bütün *S. aureus* sayıları, telemede hızla artarak SEA ve SED test suşları inokule edilen gruplarda  $10^7$  kob/g, SEB ve SEC gruplarında ise  $10^6$  kob/g seviyesine ulaştı (Tablo 1, Şekil 1). Olgunlaşmanın 1. gününde tüm gruplarda *S. aureus* sayıları  $10^7$  kob/g olmasına karşın sadece A tipi toksin oluşturan *S. aureus* suşu ile kontamine çiğ sütlerden yapılan peynirlerde enterotoksin saptandı. A tipi toksin oluşturan *S. aureus* suşu (SEA) ile kontamine çiğ sütlerden yapılan beyaz peynirde *S. aureus* sayıları olgunlaşmanın 1. gününde  $3.6 \times 10^7$  kob/g iken, olgunlaşma süresi içerisinde artmaya devam ederek 3. günde  $1.9 \times 10^8$  kob/g ile diğer test suşlarından daha yüksek düzeye ulaştı. Olgunlaşmanın 15. gününe kadar tüm gruplarda  $10^6$ - $10^7$  kob/g seviyelerde seyreden *S. aureus* sayıları 30. günden itibaren tüm gruplarda düşmeye başladı. Olgunlaşmanın 60. gününde yalnızca SEA ile kontamine çiğ sütlerden yapılan peynirlerde  $1.8 \times 10^4$  kob/g düzeyinde *S. aureus* saptanırken, diğer gruplarda *S. aureus* sayılarının  $< 2.0 \times 10^2$  kob/g olduğu görüldü. *S. aureus* SEB, SEC, ve SED ile kontamine çiğ sütlerden yapılan peynirlerde üretim ve olgunlaşma sırasında toksin oluşmadığı gözlenirken SEA ile kontamine çiğ sütlerden yapılan peynirlerde 60. güne kadar toksin saptandı.

*Çiğ süttten yapılan beyaz peynirde pH ve tuz miktarındaki değişiklikler*: *S. aureus* suşları ile kontamine çiğ sütlerde başlangıçtaki pH değerinin (pH 6.7) pıhtı ve telemede değişmeden kaldığı ve peynirlerde olgunlaşmanın 1. gününden itibaren düzenli bir tarzda azalarak 60. günde pH 4.6-4.9'a düştüğü saptandı (Şekil 1). Çiğ süttten yapılan beyaz peynirde tuz miktarının olgunlaşmanın 1. gününde gruplara göre % 3.3-3.9 arasında, 60. günde ise % 3.3-4.1 arasında değiştiği saptandı.

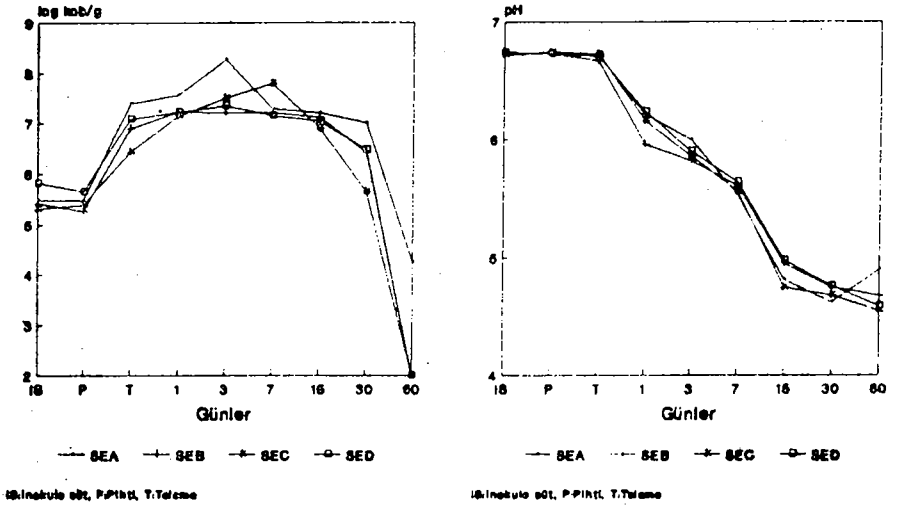
*Pastörize süttten yapılan beyaz peynirde S. aureus'un gelişimi*: Peynir yapımında kullanılan pastörize sütlerde inokulasyondan hemen

Tablo 1. Çiğ süttten yapılmış beyaz peynirlerde yapım ve olgunlaşma sırasında enterotoksijenik *S. aureus*'ların seyri.

	SEA pH	SEB pH	SEC pH	SED pH
İnokulasyon dozu	$2.2 \times 10^5$	$1.4 \times 10^5$	$2.8 \times 10^5$	$4.2 \times 10^5$
İnokule süt	$3.0 \times 10^5$	$2.6 \times 10^5$	$2.0 \times 10^5$	$6.6 \times 10^5$
	6.73	6.72	6.72	6.74
Pıhtı	$3.0 \times 10^5$	$1.8 \times 10^5$	$2.4 \times 10^5$	$4.4 \times 10^5$
	6.74	6.73	6.74	6.73
Teleme	$2.5 \times 10^7$	$8.0 \times 10^6$	$2.7 \times 10^6$	$1.2 \times 10^7$
	6.72	6.67	6.73	6.71
1. Gün	$3.6 \times 10^7$	$1.7 \times 10^7$	$1.4 \times 10^7$	$1.7 \times 10^7$
	6.21	5.96	6.16	6.24
3. Gün	$1.9 \times 10^8$	$1.6 \times 10^7$	$3.2 \times 10^7$	$2.2 \times 10^7$
	6.0	5.82	5.86	5.90
7. Gün	$1.9 \times 10^7$	$1.6 \times 10^7$	$6.2 \times 10^7$	$1.4 \times 10^7$
	5.53	5.61	5.56	5.64
15. Gün	$1.6 \times 10^7$	$1.3 \times 10^7$	$7.8 \times 10^6$	$1.1 \times 10^7$
	4.81	4.95	4.75	4.98
30. Gün	$1.0 \times 10^7$	$2.6 \times 10^6$	$4.4 \times 10^5$	$3.0 \times 10^6$
	4.62	4.75	4.68	4.76
60. Gün	$1.8 \times 10^4$	$<2.0 \times 10^2$	$<2.0 \times 10^2$	$<2.0 \times 10^2$
	4.90	4.68	4.55	4.59

sonra *S. aureus* SEA, SEB, SEC ve SED sayılarının sırasıyla  $6.0 \times 10^5$ ,  $3.9 \times 10^5$ ,  $6.0 \times 10^5$  ve  $8.3 \times 10^5$  kob/ml olduğu görüldü. Telemede  $10^6$ - $10^7$  kob/g'a ulaşan *S. aureus* sayıları bütün peynirlerde 30. güne kadar  $10^6$  kob/g düzeyinde seyretti. Tüm gruplarda olgunlaşmanın 60. gününde *S. aureus* sayılarının  $<2.0 \times 10^2$ -  $4.0 \times 10^2$  kob/g, arasında değiştiği saptandı (Tablo 2, Şekil 2).

Enterotoksijenik *S. aureus* suşları ile kontamine pastörize sütlerden yapılan beyaz peynir numunelerinin hiçbirinde üretim ve olgunlaşma sırasında enterotoksin oluşmadığı gözlemlendi.



Şekil 1. Çiğ süttten yapılan peynirlerde *S. aureus* ve pH seyri.

Fig. 1. Fate of *S. aureus* and pH in cheese samples made from raw milk.

#### Pastörize süttten yapılan beyaz peynirde pH ve tuz miktarındaki değişimler :

Peynir üretiminde kullanılan pastörize süttlerde başlangıçtaki pH değerinin (pH 6.8) pıhtı ve telemede değişmeden kaldığı, ancak 24 saat içersinde hızla düşerek pH 4.9-5.0'a ulaştığı saptandı. Peynirlerin olgunlaşmaları sırasında da pH değerinin yavaş ve düzenli bir tarzda azalmaya devam ederck 30. günde pH 4.5-4.6, 60. günde pH 4.8-5.0 olduğu gözlendi (Şekil 2).

Pastörize süte starter kültür ilave edilerek yapılan peynirlerde tuz miktarının olgunlaşmanın 1. gününde % 3.3-3.4 olduğu, 60. gününde % 3.2-3.5 arasında değiştiği saptandı.

### Tartışma ve Sonuç

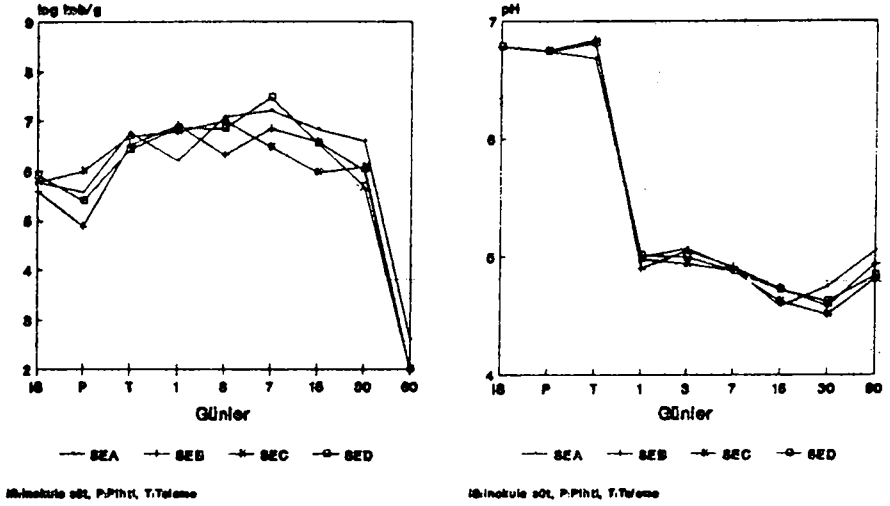
Süt ve süt ürünleri biyolojik yapı ve kimyasal içerikleri bakımından enterotoksijenik stafilocokların üreme ve toksin oluşturmalarına uygun bir substrat olmamalarına karşın üreme ve toksin oluşumu suşa, kontaminasyon derecesine, rekabetçi mikroorganizmaların bulunuşuna, ürünün pH, su aktivitesi, ısı ve bileşimine, antibiyotik ve bakteriyofajların bulunuşuna göre değişiklikler göstermektedir (18, 21). Nitekim çalışmamızda A, B, C ve D tipi toksin



Tablo 2. Pastörize süttten yapılmış beyaz peynirlerde yapım ve olgunlaşma sırasında enterotoksijenik *S. aureus*'ların seyri.

	SEA pH	SEB pH	SEC pH	SED pH
İnokulasyon dozu	$6.0 \times 10^5$	$4.5 \times 10^5$	$8.0 \times 10^5$	$8.6 \times 10^5$
İnokule süt	$6.0 \times 10^5$	$3.9 \times 10^5$	$6.0 \times 10^5$	$8.3 \times 10^5$
	6.79	6.78	6.79	6.78
Pıhtı	$3.8 \times 10^5$	$7.5 \times 10^4$	$1.0 \times 10^6$	$2.5 \times 10^5$
	6.74	6.75	6.75	6.75
Teleme	$6.0 \times 10^6$	$3.3 \times 10^6$	$5.0 \times 10^6$	$2.7 \times 10^6$
	6.68	6.84	6.83	6.81
1. Gün	$1.6 \times 10^6$	$8.1 \times 10^5$	$6.0 \times 10^6$	$7.2 \times 10^6$
	5.0	4.90	4.98	5.01
3. Gün	$1.2 \times 10^7$	$2.0 \times 10^6$	$1.0 \times 10^7$	$7.0 \times 10^6$
	5.07	5.05	4.94	5.0
7. Gün	$1.6 \times 10^7$	$7.0 \times 10^6$	$3.0 \times 10^6$	$2.8 \times 10^7$
	4.9	4.91	4.88	4.88
15. Gün	$6.8 \times 10^6$	$3.8 \times 10^6$	$9.3 \times 10^5$	$3.6 \times 10^6$
	4.58	4.73	4.62	4.72
30. Gün	$4.0 \times 10^6$	$1.0 \times 10^6$	$1.2 \times 10^6$	$4.8 \times 10^5$
	4.75	4.58	4.51	4.62
60. Gün	$4.0 \times 10^2$	$<2.0 \times 10^2$	$<2.0 \times 10^2$	$<2.0 \times 10^2$
	5.05	4.94	4.81	4.84

oluşturan *S. aureus* suşları ile aynı derecede kontamine edilen çiğ ve pastörize sütlerden yapılan peynirlerden sadece çiğ süttten yapılanlarda ilk 24 saat içinde toksin oluşumu gözlenmiştir. Çiğ süttten yapılan beyaz peynirlerde *S. aureus* sayıları farklı tipte toksin oluşturan grupların tamamında toksin oluşumu için gerekli  $10^7$  kob/ml seviyesine yükselirken, pastörize süttten yapılan beyaz peynir numunelerinin tamamında  $10^6$  kob/ml seviyesinde kalmıştır. Düşük pH derecelerinde (pH 4.4-4.5) *S. aureus*'lar üreyebildikleri halde ente-



Şekil 2. Pastörize süttten yapılan peynirlerde *S. aureus* ve pH seyri.

Fig. 2. Fate of *S. aureus* and pH in cheese samples made from pasteurized milk.

rotoksin A ve C üretimi için minimum pH'nın 5.0 olduğu, B ve C tipi toksin üretimi için optimum pH'nın 6.8 olduğu bildirilmektedir (18, 23). Çalışmamızda pastörize süttten yapılan beyaz peynirlerde 1. günde pH değerleri tüm gruplarda pH 4.9-5.1 arasında değişirken çiğ süttten yapılan peynir numunelerinde aynı günde her dört grup toksinin üretilebileceği pH 5.96-6.24 olmuştur. Çiğ ve pastörize süttten yapılan peynirler arasında ilk 24 saattaki pH seyirleri arasındaki bu fark pastörize süttten peynir yapımında starter kültür kullanılmasından ileri gelmektedir. Kontrollü laktik fermentasyonun iyi kalitede peynir üretimi için esas olduğu, laktik fermentasyonu sonucu hızla asit üretimi ve meydana gelen çeşitli inhibitör maddelerle çoğu patojen bakterilerin üremelerinin engellendiği bildirilmektedir (18). Tatini ve ark. (30) peynir üretiminde kullanılan starter aktivitesinin zayıflığının *S. aureus*'un üreme ve toksin oluşumu üzerinde etkili olduğunu, zayıf starter aktivitesinde *S. aureus* sayısı  $3.5 \times 10^6$  kob/ml'ye yükseldiğinde peynirlerde saptanabilir düzeyde enterotoksin A oluştuğunu bildirmektedirler. Araştırmacılar çeşitli peynirlerde starter kültürlerin enterotoksijenik *S. aureus*'ların üreme ve toksin oluşumu üzerindeki etkilerini incelemişler ve % 1 oranında ilave edilen starter kültürlerin enterotoksijenik *S. aureus* suşlarının üreme ve toksin oluşumunu engellediğini saptamışlardır (9, 13, 16,

17, 22). Çalışmamızda çiğ süttten yapılan peynirlerde enterotoksin A saptanmasına karşın pastörize süttten yapılan peynirlerde starter kullanımı ve pH düşüşüne bağlı olarak enterotoksin saptanamaması bu araştırmacıların bulguları ile uyum göstermektedir. 'Türkiye'de Patır (26) deneysel olarak enterotoksijenik *S. aureus* suşları ile kontamine ettiği çiğ koyun sütlerinden yapmış olduğu Şavak salamura beyaz peynirlerinde *S. aureus* sayılarının olgunlaşmasının 15. gününe kadar arttığını, daha sonraki dönemlerde ise giderek azaldığını bildirmektedir. Bizim çalışmamızda, çiğ süttten yapılmış peynirlerde *S. aureus* sayısındaki azalma olgunlaşmanın 30. gününden itibaren başlamıştır. Bu fark muhtemelen kullanılan salamuradaki tuz konsantrasyonunun farklı olmasından ileri gelmektedir. Çalışmamızda 60. günde peynirde saptanan tuz miktarı % 3.3-4.1 iken Patır, farklı tuz konsantrasyonunda olgunlaştırdığı peynirlerde tuz miktarının olgunlaşmanın 15. gününde gruplara göre % 4.83, % 7.93 ve % 8.78 olduğunu bildirmektedir. Ünlütürk ve ark. (36) starterli ve startersiz olarak üretilen, % 14 ve % 18 tuz konsantrasyonlu salamurada olgunlaştırılan beyaz peynirlerde *S. aureus* ve *S. typhimurium*'un üretim ve depolama süresi boyunca canlı kalma olasılığını inceledikleri araştırmalarında *S. aureus* sayısının üretim periyodu boyunca aynı düzeyde kaldığını ancak starter kültür ilavesiyle üretilen peynirlerde startersiz peynirlere kıyasla daha düşük sayılarda bulunduğunu, her iki tuz konsantrasyonunun *S. aureus*'un canlılığı üzerinde farklı bir etki göstermediği ve *S. aureus*'un 90 günlük depolama süresi sonunda bile peynirlerden tamamıyla elimine edilemediğini saptamışlardır. Çalışmamızda bütün deney gruplarında ilk 24 saat içerisinde *S. aureus* sayıları  $10^6$ - $10^7$  kob/g'a ulaşırken, Ünlütürk ve ark.'nın deneysel olarak ürettikleri peynirlerde *S. aureus* sayısı üretim ve olgunlaşma periyodunun hiçbir döneminde enterotoksin oluşumu için gerekli  $10^6$ - $10^7$  kob/g düzeye erişememiştir. Bunun nedeni muhtemelen inokulasyon dozlarının farklılığıdır. Ünlütürk ve ark.'ı. sütleri  $10^4$  kob/ml düzeyde *S. aureus*'la kontamine ederken çalışmamızda kullanılan sütler  $10^5$  kob/ml seviyede kontamine edilmiştir.

Aşkın ve Saldamlı (27) farklı starter kültür kombinasyonlarının beyaz peynirde koagulaz pozitif stafilkoklar üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında *S. aureus*'la  $10^6$  kob/ml seviyede kontamine ettikleri sütlerden yaptıkları peynirlerde *S. aureus* sayısının başlangıçtan itibaren hızla azaldığı, olgunlaşmanın son devresinde *S. lactis spp. diaceiilactis* (% 40), *S. cremoris* (% 40) ile *L. cremoris*

(% 20) kombinasyonu ile üretilmiş peynirlerde *S. aureus* sayısının 10 kob/g'a düşerken; *S. lactis spp. diacetylactis* (% 40), *S. cremoris* (% 40) ile *L. casei* (% 20) kombinasyonunun kullanıldığı peynirlerde olgunlaşmanın son devresinde *S. aureus* saptanmamıştır. Aşkın ve Saldamlı çalışmamızdakinden farklı starter kültür kombinasyonu kullanmış olmalarına karşın starter kültürlerin *S. aureus*'un üremesi üzerine etkileri ile ilgili bulguları bizim çalışma sonuçlarımızla uyum göstermektedir. Çalışmamızda çığ süttten yapılan peynirlerde enterotoksin saptanmış olmasına karşın pastörize sütlerden yapılan numunelerde toksin oluşmaması kullanılan starter kültürlerin *S. aureus* suşlarının üreme ve toksin oluşumu üzerindeki inhibe edici etkilerine bağlanabilir. Buna karşılık çığ süttten yapılan peynirlerde üreme ve olgunlaşma periyodu içerisinde enterotoksijenik *S. aureus* suşlarının sayılarının toksin oluşumu için gerekli seviyede artış göstermesine karşın B, C ve D tipi toksin saptanmamış olması toksin oluşumunun suşa bağlı olarak değişiklikler göstermesi, rekabetçi bakteriyel floranın bulunuşu ile açıklanabilir.

Sonuç olarak çığ süttten yapılan beyaz peynirlerin özellikle A tipi enterotoksin oluşturan *S. aureus*'lar bakımından önemli bir risk oluşturduğu, çözüm olarak peynir üretiminde pastörize süt ve % 2 oranında starter kültür kullanımının gerekliliği ortaya çıkmıştır.

#### Kaynaklar

1. **Abbar, F.M. and Mohammed, M.T.** (1986). *Identification of some enterotoxigenic strains of staphylococci from locally processed cheese.* Food Microbiol. 3: 33-36.
2. **Ahmed, A.A., Terplan, G. and Simon, E.** (1978). *Enterotoxigenicity of Staphylococcal strains isolated from milk and dairy products.* Arch. Lebensmittelhyg. 29: 212-214.
3. **Anon.** (1986). *Foodborne disease surveillance in England Wales. 1984.* Br. Med. J. 293: 1424-1427.
4. **Aşkın, O. ve Saldamlı, İ.** (1987). *Starter bakterilerin beyaz peynirde koagülaz pozitif stafilokoklar üzerindeki etkileri.* DOĞA TU Biyol. D, 11, 1: 19-26.
5. **Bautista, L., Gaya, P., Medina, M. and Nunez, M.** (1988). *A quantitative study on enterotoxin production by sheep milk staphylococci.* Appl. Environ. Microbiol. 54: 566-569.
6. **Bone, F.J., Boggie, D. and Morgan - Jones, S.C.** (1989). *Staphylococcal food poisoning from sheep milk cheese.* Epidem. Inf. 103: 449-458.
7. **Bryan, F.L.** (1983). *Epidemiology of milk-borne diseases.* J. Food Prot. 46: 637-649.
8. **Center for Disease Control.** (1981). *Foodborne Disease Outbreaks. Annual summary 1979.* Issued April 1979.

9. **Czop, J.K. and Bergdoll, M.S.** (1970). *Synthesis of enterotoxin by L-forms of Staphylococcus aureus*. Inf. Immun. 1: 1969-1973.
10. **Donnelly, C.B., Leslie, J.E. and Black, L.A.** (1968). *Production of exenterotoxin A in milk*. Appl. Microbiol. 16: 917-924.
11. **Doyle, M.P.** (1989). *Foodborne Bacterial Pathogens*. Marcel Dekker, Inc. New York.
12. **Federation International de Laiterie (FIL - IDE)** (1972). *Fromage: Determination de la Teneur en Chlorures*. Norme 4. Roma.
13. **Gaya, P., Medina, M., Bautista, L. and Nunez, M.** (1988). *Influence of lactic starter inoculation, curd heating and ripening temperature on Staphylococcus aureus behaviour in Manchego cheese*. Int. J. Food Microbiol. 6,3: 249\*-257.
14. **Genigeorgis, C.A.** (1989). *Present state of knowledge on staphylococcal intoxication*. Int. J. Food Microbiol. 9,4: 327-360.
15. **Gomez-Lucia, E., Blanco, J.L., Goyache, J., De La Fuente, R., Vazquez, J.A., Ferri, E.F.R. and Suarez, G.** (1986). *Growth and exenterotoxin A production by Staphylococcus aureus S 6 in Manchego type cheese*. J. Appl. Bacteriol. 61: 499-503.
16. **Gomez-Lucia, E., Goyache, J., Blanco, J.L., Vadillo, S., Garayzabal, J.F.F. and Suarez, U.** (1987). *Staphylococcus aureus growth and survival during curding of Manchego type cheese produced with normal and subnormal starter activity*. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 184: 304-307.
17. **İbrahim, G.F. and Baldock, A.K.** (1981). *Thermostable deoxyribonuclease content and enterotoxigenicity of Cheddar cheese made with subnormal starter activity*. J. Food Prot. 44: 655-660.
18. **Johnson, E.A., Nelson, J.H. and Johnson, M.** (1990). *Microbiological safety of cheese made from heat-treated milk*. Part II. Microbiology. J. Food. Prot. 53,6: 519-540.
19. **Kasmoğlu, N.** (1978). *Elazığ bölgesinde üretilen sütte ve peynirlerde Staphylococcus araştırılması*. Uzmanlık Tezi. AÜ Veteriner Fakültesi.
20. **Kıvanç, M.** (1989). *The microbiological quality of Erzincan (Şavak) Tulum cheese from Turkish retail markets*. Nahrung, 33, 9: 895-900.
21. **Notermans, S. and Heuvelman, C.J.** (1983). *Combined effect of water activity, pH and sub-optimal temperature on growth and enterotoxin production of Staphylococcus aureus*. J. Food Sci. 48: 1832-1840.
22. **Nunez, M., Chavarri, F.J., Garcia, B.E. and Gaytan, L.E.** (1986). *The effect of lactic starter inoculation and storage temperature on the behaviour of Staphylococcus aureus and Enterobacter cloacae in Burgos cheese*. Food Microbiol. 3: 235-242.
23. **Nunez, M., Bautista, L., Medina, M. and Gaya, P.** (1988). *Staphylococcus aureus, thermostable nuclease and staphylococcal enterotoxins in raw ewe's milk Manchego cheese*. J. Appl. Bacteriol. 65, 1: 29-34.
24. **Otero, A., Garica, M.C., Garcia, M.L., Prieto, M. and Moreno, B.** (1988). *Behaviour of Staphylococcus strains, producers of enterotoxins C1 or C2, during the manufacture and storage of Burgos cheese*. J. Appl. Bacteriol. 64: 117-122.

25. **Özalp, E., Kaymaz, S. ve Akşehirli, E.** (1978). *Erzincan tulum peynirlerinde enterotoksijenik stafilokok'lar ve salmonella'lar yönünden araştırma.* A.Ü. Vet. Fak. Derg. 25, 1: 55-61.
26. **Patır, B.** (1987). *Şavak salamura beyaz peynirin organiklaşması sırasında enterotoksijenik koagulaz-pozitif Staphylococcus aureus'un yaşam süreleri ile mikrobiyolojik ve kimyasal niteliklerinde meydana gelen değişimler.* DOĞA TU Vet. Hay. D. 11,1: 59-71
27. **Payne, N.D. and Wood, J.M.** (1974). *The incidence of enterotoxin production in strains of Staphylococcus aureus isolated from foods.* J. Appl. Bacteriol. 37: 319-325.
28. **Rose, S., Bankes, P. and Stringer, M.** (1989). *Detections of staphylococcal enterotoxins in dairy products by the reserved passive latex agglutination (SET-RPLA) kit.* Int. J. Food Microbiol. 8: 65-72.
29. **Santos, E.C., Genigeorgis, C. and Farver, T.B.** (1981). *Prevalence of S. aureus in raw and pasteurized milk used for commercial manufacturing of Brazilian Minas cheese.* J. Food Prot. 44: 172-176.
30. **Tatini, S.R., Jezeski, J.J., Morris, H.A., Olson, J.C. Jr. and Casman, E.P.** (1971). *Production of Staphylococcal enterotoxin in Cheddar and Colby cheeses.* J. Dairy Sci. 54: 815-825.
31. **Tatini, S.R., Jezeski, J.J., Jr. Olson, J.C. and Casman, E.P.** (1971). *Factors influencing the production of Staphylococcal enterotoxin A in milk.* J. Dairy Sci., 54: 312-320.
32. **Tatini, S.R., Wesela, W.D., Jezeski, J.J. and Morris, H.A.** (1973). *Production of staphylococcal enterotoxin in Blue, Brick, Mozzarella and Swiss cheeses.* J. Dairy Sci. 56: 429-435.
33. **Tekinsen, O.C. ve Çelik, C.** (1979). *Şavak peynirinde Staphylococ'lar ve Micrococcus'lar.* AÜ Vet. Fak. Derg. 26, 3-4: 47-63.
34. **Umoh, V.J., Adesiyun, A.A. and Gomwalk, N.E.** (1988). *Enterotoxin production by staphylococcal isolates from Nigerian fermented milk products.* J. Food Prot. 51, 7: 534-537.
35. **Umoh, V.J., Adesiyun, A.A. and Gomwalk, N.E.** (1990). *The occurrence of Staphylococcus aureus in fermented milk products (Fura and Manshanu) in Nigeria.* Int. J. Food Microbiol. 10: 343-348.
36. **Ünlütürk, A., Üçüncü, M., Turantaş, F. ve Öztürk, G.F.** (1991). *Beyaz peynirde Staphylococcus aureus ve Salmonella typhimurium'un canlı kalma olasılığı.* E.Ü. Müh. Fak. Derg. 9, 1: 99-114.
37. **Yavuz, S.** (1979). *Diyarbakır yöresinde imal edilen salamura beyaz peynir ve eritme peynirlerinde enterotoksijenik stafilokok'larla enterotoksin varlığı üzerinde araştırmalar.* Uzmanlık Tezi, A Ü Veteriner Fakültesi.