

A. Ü. Veteriner Fakültesi Besin Kontrolü ve
Teknolojisi Kürsüsü
Prof. Dr. Zeki Tolgay

SÜT TOZLARINDA ENTEROTOKSİJENİK STAFİLOKOKLAR VE ENTEROTOKSİN VARLIĞI ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

Ergün Özalp*

Şerif Kaymaz**

Taner İnan***

Studies on the presence of *Staphylococcus aureus* and enterotoxin in dried milk powders.

Summary: 36 samples of dried milk powder produced in Turkey and 34 samples of foreign origin (West Germany, France and U.S.A.) were examined by (i) enrichment technique for the presence of enterotoxigenic staphylococci and (ii) frog test for the presence of enterotoxin.

It was found that of samples of native origin, one had enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* and two contained enterotoxin where as none of the samples of foreign origin contained either *Staphylococcus aureus* or enterotoxin.

The results have indicated that dried milk powders being produced in Turkey are not fully safe enough for public health.

Özet: Yurdumuzda üretilen 36 ve yabancı orijinli (Federal Almanya, Fransa ve A.B.D.) 34 süt tozu numunesi, enterotoksijenik stafilokoklar ve enterotoksin yönünden incelendi.

Yerli süt tozlarından bir numunede enterotoksijenik *Staphylococcus aureus* bulunmuştur. Yine yerli süt tozlarından iki numunede kurbağa testi ile enterotoksin tespit edilmiştir.

* Doç. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Besin Kontrolü ve Teknolojisi Kürsüsü. Ankara Türkiye

** Dr. As., A.Ü. Veteriner Fakültesi Hay. Yet. ve Sağ. Bil. Yüksek Okulu Besin Kontrolü ve Teknolojisi Bilim Dalı. Ankara - Türkiye.

*** Vet. Hek. Yzb. Vet. Fak. Hay. Yet. ve Sağ. Bil. Uz. Yük. Okulu Besin Kontrolü ve Teknolojisi Bilim Dalı Uzman Adayı. Ankara - Türkiye.

Alınan neticeler, yerli süt tozlarımızın insan sağlığı açısından tam bir güvence vermediğini göstermektedir.

Giriş

Süt tozu üretiminde kullanılan çiğ sütler süt hayvanı, doğa veya insanlar tarafından enterotoksijenik stafilokoklarla kontamine edildikleri ve uygun ortamda, uzunca bir süre bekletildikleri takdirde enterotoksin şekillendirebilirler. Böyle sütlerle yapılan süt tozları, tüketici sağlığı açısından tehlikeli olabilir. Toksinin şekillendiği sütte pastörizasyon ya da süt tozu yapılırken uygulanan yüksek ısı etkisiyle stafilokoklar harabolsa dahi, salgıladıkları enterotoksin ısıya dayanıklı olduğundan ürüne geçer ve her fırsatta toksik etkisini gösterebilir. Ancak, modern süthanelerde ve titiz hijyenik koşullar altında üretilen süt tozlarıyla bu tip zehirlenmelere çok ender rastlanır (4, 7,9,15).

Süt tozlarının kontaminasyonunda başlıca enterobakteriler (koliform bakteriler, salmonellalar) ve enterotoksijenik stafilokoklar büyük sorun teşkil ederler. Bunların bulaşmasında insanlar, ortamın havası, sütün işlenmesi ve taşınması anındaki ısı derecesi büyük ölçüde etkili olmaktadır. Kontaminasyonda, paketlenme işlemi de ayrı bir önem taşır. Bu bakımdan süt tozlarının bakteriyolojik kalitelerinin tayininde total bakteri sayısı, enterobakteriler ve *Staphylococcus aureus*'un saptanması zorunludur. Kontaminasyonun en büyük nedeni, insanın direkt teması ve özellikle kurutma ve soğutma anındaki kirli havayla temastır (6).

Süt tozlarında enterotoksijenik stafilokokların bulunuşu daha çok kontaminasyondan ileri gelir. Şayet izole edilen suşlar bovin orijinli ise imalâta kullanılan süttten geçtiği düşünülebilir. İnsan orijinliler ise imalât sonrası bulaşmayı gösterir (1).

Süt tozlarında enterotoksijenik stafilokokların sayıları fazla önem taşımaz. Rekonstitüsyondan sonra, uzun süre, uygun ısıda bırakılması ve el ile kontaminasyonu gibi hususlara dikkat etmek gerekir. Bu gibi uygun koşullarda, az miktardaki enterotoksijenik stafilokoklar, süt tozunun bakteriyolojik kalitesi üstün olsa dahi tehlikeli olmasına neden olabilir (1,4,9).

Çok az sayıda mikrop taşıyan ve yağsız süt tozundan aseptik koşullarda hazırlanmış rekonstitüe sütün ml. sine $10^3 - 10^5$ miktarında *Staphylococcus aureus* ilâvesi halinde, 4-6 saat içinde, Enterotoksin A şekillenebilmektedir. Buna karşılık, yüksek sayıda mikrop ihtiva eden ve bu arada *Staphylococcus aureus* miktarı 2-3 milyon/ml. ye ulaş-

miş ticari çiğ sütlerde Enterotoxin A tespiti mümkün olmamıştır. Bu gibi çiğ sütlerde, *Staphylococcus aureus*'ların gelişmelerine karşılık, Enterotoxin A şekillenmesinde bir duraklama meydana gelmektedir. Alınan bu neticeler mikrop popülasyonunca fakir olan süt ve ürünlerinde enterotoksin şekillenmesinin daha kolay olacağını göstermektedir (14).

İngiltere' ve Porto-Riko'da süt tozunun oldukça fazla miktarda tüketilmesi nedeniyle, enterotoksijenik stafilokoklardan ileri gelen zehirlenmelerin yaygın olduğu saptanmıştır. Örneğin, ilk zehirlenme olayına 1953 yılında İngiltere'de rastlanmıştır. 1956 yılında, Porto-Riko'da, okul çocukları arasında 19 akut gastro-enteritis olayı meydana gelmiş ve bu olaylarda 4094 çocuktan 775'i hastalanmışlardır. Hastalanan çocuklarda bakteriyolojik denemeler negatif netice verdiği halde, olaya enterotoksin'in neden olduğu saptanmıştır (4,8).

Hobbs, 1955 yılında püskürtme süt tozundan meydana gelen bazı stafilokoksik gıda zehirlenmelerini bildirmiştir (7).

Materyal ve Metot

Materyal olarak Ankara, İstanbul, Bursa ve Kars'tan temin edilen 36 sı yerli ve 34 ü yabancı orijinli olmak üzere 70 süt tozu numunesi denemeye alınmıştır.

Yerli orijinli süt tozu numuneleri Türkiye Süt Endüstrisi Kurumu Kars Süt ve Mamülleri Müessesesi, İstanbul Wyeth Laboratuvarları A.Ş. ve Bursa Sayas Süt Tozu Fabrikası'ndan temin edilmiştir. Yabancı orijinli süt tozu numuneleri ise Federal Almanya, Fransa ve A.B.D. orijinli idi.

a. Enterotoksijenik Stafilokokların Sayımı :

Difco'nun dehidre *Staphylococcus Meddium* 110 (B 297) besi yerine (2) yumurta sarısı ilâve edilerek (5, 10), numunenin 1 gr.ındaki sayısını tesbit amacıyla 1/10 luk dilüsyonlardan ikişer plâğa 5 er ml. ekim yapıldı. 44°C de 48 saat inkübasyondan sonra açık sarı renkte, mat hali koloniler arandı.

b. Zenginleştirme Besi Yerinde Enterotoksijenik Stafilokokların Aranması (3, 11, 13).

5 gr. numune stafilokok zenginleştirme besi yerine ekildi. 44°C de 48 saat inkübe edildi. Bakteriyoskopide kok kümelerinin görüldüğü phenol-red'li besi yerinin rengini sarıya dönüştürdüğü numunc-

lerden Chapman'ın modifiye ettiği Mannitol Salt Agar'a yüzeysel ekim yapılarak tek kolonilerin düşmesi sağlandı. Besi yerinin rengini sarartan, sarı renkli koloniler ayrılarak, pigment, hemoloyzis ve jelatinaz oluşturan, manniiti fermente eden ve plâzma koagulaz reaksiyonu pozitif olan şuşlar enterotoksijenik olarak değerlendirildi.

c. Kültür'de Enterotoksin Aranması (11, 13).

Enterotoksijenik olarak değerlendirilen şuşların Nutrient Broth'daki 37°C de 5 saatlik kültürleri petri kutularındaki Dolman'ın semi solit besi yerine ekildi. 37°C de 40 saat, % 30 CO₂ ihtiva eden anaerob ortamda inkübe edildi. Petri kutusunun tüm muhtevası tülbent bezinde sıkıldı, süzgeç kâğıdından süzüldü, süzüntü berrak renk alana dek santrifüje edildi ve Seitz süzgecinden geçirildi. Süzüntü kurbağa testine tabi tutulmadan önce pH sı asetik asitle 7,0 ye ayarlandı ve kaynar su banyosunda 20-30 dakika tutuldu. Çöküntü santrifüje edilerek ayrıldı ve berrak kısımdan 0,5-1, 0 ml. kurbağaların dorsal lenf kesesine şırınga edilerek enterotoksin zehirlenmelerinde görülmesi gereken bitkinlik, esneme hali, derinin renginin tedricen değişmesi, karın cidarının gerginliği, bacaklarıyla hiperektonsiyon haline geçmesi neticesi sırtın akvaryum dibine paralel bir vaziyet alması gibi belirtiler takip edildi.

d. Süt Tozlarında Enterotoksin Aranması (11, 12, 13).

Takriben 10 gr. kadar süt tozu numunesi, steril bir havada, steril kum ilâve edilerek, azar azar steril serum fizyolojik karıştırılmak suretiyle aseptik koşullarda eritildi. Bir müddet maserasyona bırakıldı. Sonra, önce süzgeç kâğıdından ve bilâhare Seitz süzgecinden süzüldü. Filtrat kaynar su banyosunda 20-30 dakika tutuldu ve soğutulduktan sonra kurbağa testi uygulandı.

Bulgular

1. Denemeye alınan numunelerin hiç birinin 1 gramında enterotoksijenik stafilokok ürememiştir.

2. Zenginleştirme besi yerinde üretilen stafilokoklar:

Numunelerin 57 sinde, zenginleştirme besi yerlerinden yapılan bakteriyoskopide stafilokoklar tesbit edilmiştir. Bu 57 numuneden 6 sında üreyen stafilokoklarda hemoliz teşkili ve mannit fermentasyonu tespit edilmiştir. Bunların da ikisinin *Staphylococcus aureus*, dördünün ise *Staphylococcus albus* olduğu görülmüştür. 2 numunc-

den izole edilen *Staphylococ*'ların jelâtini likefiye ettiği, sade bir numuneye ait *Staphylococcus aureus*'un tavşan kanı plâzmasını koagule ettiği saptanmıştır. Bu süşun ayrıldığı numunenin yerli orijinli olduğu görülmüştür (Yerli süt tozlarının % 2,77 si).

3. Hemoliz teşkil eden manniti fermente, eden, jelâtini eriten, pigment teşkil eden ve tavşan plâzmasını koagule eden bu süşun aynı zamanda enterotoksin hasil ettiği saptanmıştır.

Bu süşun üretildiği süt tozu numunesinde enterotoksin bulunmamıştır.

4. Enterotoksijenik stafilokok üremeyen 2 adet yerli süt tozu numunesinde enterotoksin denemesi müsbet netice vermiştir (% 5,5).

Federal Almanya orijinli bir adet süt tozu numunesinde ise enterotoksin denemesi şüpheli sonuç vermiştir.

67 numunede enterotoksin tespit edilmemiştir.

Tartışma ve Sonuç

Kısa zaman öncesine kadar, yardım amacıyla yurdumuza verilen süt tozları özellikle ilk okul çocuklarının beslenmesinde yaygın bir şekilde kullanılmıştır. Bunun dışında bu süt tozlarından bir çok süt ürünü yapımında da yararlanılmıştır. Bu uygulamalar yurdumuzda da süt tozu üretiminin artışına bir neden olmuş ve son yıllarda yurdumuzda süt tozu sanayiinde büyük gelişmeler dikkati çekmiştir. Bu çalışmada yurdumuzda imâl edilen süt tozlarının bir kısmı ile ithâl edilen ya da yardım amacıyla verilen yabancı orijinli süt tozlarının enterotoksijenik gıda zehirlenmeleri yönünden ne derece etkili oldukları üzerinde durulmak istenmiştir.

Bir numunede enterotoksijenik *Staphylococcus aureus* bulunması, imâlat sonrası kontaminasyonun önlenmediğini göstermektedir (6). Bu süt tozunun rekonstitüe edildiği ve toksin şekillenmesine uygun ortamda bekletildiği takdirde (1, 4, 9) insan sağlığı yönünden tehlikeli olabileceği bir gerçektir.

Yine yurdumuzda üretilen iki numunede *Staphylococcus aureus* olmadığı halde enterotoksin bulunması, özellikle, süt tozu üretiminde kullanılan çiğ sütün, süt tozu üretimine elverişli olmadığı fikrini (4,7,9,15) vermektedir. Bu süt tozlarından hazırlanacak süt ve mâüllerinin de insan sağlığı yönünden tehlikeli olabileceği inkâr edilemez.

Netice olarak, Yurdumuzda üretilen süt tozlarının insan sağlığı yönünden yeterli güvenceye sahip olmadığı ortaya çıkmaktadır.

Literatür

- 1- **Anon** (1962): *Milk Hygiene*, World Health Organization, Geneva.
- 2- **Anon** (1974): *Difco Manual of dehydrated culture media and reagents for microbiological and chemical laboratory procedures*, Ninth Edition, Difco Laboratories Incorporated, Detroit, Michigan.
- 3- **Anon** (1976): *The Oxoid manual of culture media, ingredients and other laboratory service*, Third edition, Published by Oxoid Limited, Basingstoke.
- 4- **Armijo, R.- Henderson, A.D.- Tihotsee, R. and Robinson, B.** (1957): *Food poisoning outbreaks associated with spray-dried milk, An epidemiologic study*: Am. J. Public Health and Notions Health, 47 (9) 1093.
- 5- **Carter, C.H.** (1960): *Egg-yolk agar for isolation of coagulase positive staphylococci*, J. Bact. 79, 753.
- 6- **Galesloot, Th.E. et Stadhouders, J.** (1968): *Microbiologi du lait en poudre Spray au point de vue particulier de Staphylococcus aureus et des Salmoneller*, Neth. Milk and Dairy J. (22) 158, "As quated" Le Lait L (498) 594-595, 1970.
- 7- **Hobs, B.C.** (1956): *Problèmes hygiène publique liés a la fabrication du lait desséché. I. Empoisonnement Alimentaire Staphylococcique, II. Comment eviter la contamination pendent la fabrication*. J. Appl. Bac., 18 (3) 484-492 et 493-502, "As quated" Le Lait XXX VIII (375-376) 325-326, 1958.
- 8- **Keogh, B.P.** (1971): *The survial of pathogenes in chesse and milk powder*, J. of Dairy Res: 38 (1) 91.
- 9- **Overo del Agua, S. et Fernandez, G.S.** (1971): *Recherche de staphylocoques pathogènes dans du lait en poudre*, Le Lait, LI (505-506) 294-301.
- 10- **Ozdzynska, E. and Katel, S.** (1968): *Study on correlation between coagulase and lipase production in staphylococci*, 14 th. European Meeting of Meat Research Workers Brno Czeeh.
- 11- **Özer, İ.** (1962): *Stafilokoksik gıda Zehirlenmeleri*. T. Vet. Hek. Der. Derg., 32 (187-186) 99-111.
- 12- **Riemann, H.** (1969): *Food-born intections and intoxications*, Academic Press, New York and London.

- 13- **Tanner, F.W. and Tanner, L.P** (1953): *Food-born infections and intoxications*, Second Edition, The Garrard Press, Publishers, Champaign, Illionois.
- 14- **Tatini, S.R. Jezeski, J.J.- Olson, J.C. and Casman, E.P.** (1971): *Factors influencing the production of staphylococcal Enterotoxin* A. Milk journal of Dairy Science (3) 312
- 15- **Tolgay, Z.** (1970): *Beslenme bülteni*. M.E.B. yıl 1, Sayı 1.

Yazı 20.1.1978 günü alınmıştır.

Receivedon January 1.1978.