

Kremalı Pastalarda *Staphylococcus aureus* Varlığı ve İzolatların Enterotoksijenik Özelliklerinin Araştırılması¹

Bilgenur Karaçor²

Mehmet Elmalı³

Özet

Bu çalışmada, analiz edilen 100 kremalı yaş pasta örneğinin 15'inden (%15) *S. aureus* saptandı. Temmuz ayında toplanan örneklerden %53.3 ve kasım ayında toplanan örneklerden ise %46.6 oranında *S. aureus* izole edilmiştir. Analiz edilen kremalı pasta örneklerinde saptanan *S. aureus* varlığının dağılımı değerlendirildiğinde 3 adedi (%20) çikolatalı, 8 adedi (%53.3) meyveli ve 4 adedi (26.7) ise sade yaş pasta örneği olarak belirlendi.

Pozitif örneklerde genotipik analizlerde *sea* 3 (%20), *sec* 4 (%26.7), *sed* 15 (%100), *see* 2 örnekten (%13.3) saptanırken, *seb* hiçbir izolattan saptanmadı. Temmuz ayı içerisinde saptanmış *S. aureus* izolatlarında SE sentezleyen genlerin toplam içerisindeki oranı %45.83 (11/24) ve kasım ayı içerisinde ise %54.16 (13/24) olarak saptandı. Temmuz ayı içerisinde saptanmış *S. aureus* izolatlarında predominant gen *sed* (%72.72), takiben *sec* (%27.27) gelirken, kasım ayı içerisinde prodominant gen *sed* (%53.84), *sea* (%23.07), *see* (%15.38) ve *sec* (% 7.69) sıralanmıştır.

Sonuç olarak; *Staphylococcus aureus* insan sağlığı açısından risk yaratabilen bir mikroorganizma olduğundan intoksikasyonlardan korunmada ham maddenin başlangıç mikrobiyel yükünün düşük olmasının ve uygun teknikte üretim yapılmasının önemli olduğu, ürünün muhafazası, nakil, servis aşaması ve sanitasyon programlarının etkinliğinin kontrol edilmesi yanı sıra HACCP'in ön gördüğü protokoller kapsamında uygulanmasının gerektiği kanaatine varılmıştır.

- 1 Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından kabul edilen yüksek lisans tezinin özetidir. Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 21.YL.010 nolu proje olarak desteklenmiştir
- 2 Veteriner Hekim, Bilgenur KARAÇOR Çiftliği, Ceyhan, Adana., bilgenurrr9495@gmail.com, ORCID ID: 0000-0002-5705-3723
- 3 Prof. Dr., Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Antakya, Hatay, elmali25erz@gmail.com, ORCID ID: 0000-0002-8479-5757

1. GİRİŞ

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) insan, hayvan, su ve hava gibi ortamlarda bulunabilen diğer bir ifade ile ubiquiter karakter gösteren, insanlarda infeksiyon ve/veya kontamine gıda tüketimi sonucunda toksikasyona neden olan bir mikroorganizmadır (Erol 2007). Özellikle gıda sektöründe çalışanların deri ve burun mikroflorasın kaynaklı veya öksürme sonucu damlacık bulaşma gibi yollarla sekretleri ile gıdayı kontamine edebilirler (Archer 1998, Çakıcı ve ark. 2015). Ayrıca gıda işletmelerinde kullanılan alet ve ekipman kaynaklı kontaminasyonlar bulaşmada önemli rol oynar (Sağlam ve Şeker 2016, Park ve Seo 2019, Tarris ve ark. 2021).

Stafilokokal toksikasyonlarda salata, et ve ürünleri, süt ve ürünleri, yağ pasta, kek, konserve, tüketime hazır gıda ve yumurta sıklıkla karşımıza çıkan gıdalar listesinde yer almaktadır (Tatini ve Bennet 1999, CDC 2002, Hampikyan ve ark. 2008, Giannatale ve ark. 2011, Gücükoğlu ve ark. 2012, Hennekinne ve ark. 2012, Kısa ve Tuncer 2021).

Stafilokokal enterotoksinler (SE) denatürasyon, düşük pH, yüksek ısı ve proteolitik enzimlere oldukça dirençlidir (Schantz ve ark. 1965, Humber ve ark. 1975, Evenson ve ark. 1988). Ayrıca, etkenin düşük su aktivitesinde üremesi ise gıdalarda toksin oluşumu riskini arttırmaktadır (Schmitt ve ark. 1990, Adams ve Moss 2008, Qin ve ark. 2017).

Kremalı pasta dünya ve ülkemiz mutfak kültüründe önemli bir yer tutmaktadır. Üretiminde yumurta, süt, un, şeker, nişasta ve kakao gibi malzemeler kullanılır ve bu malzemelerin mikrobiyel, kimyasal ve fiziksel kalitesi ürünün raf ömrünü ve insan sağlığını etkiler.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

Bu araştırmada, 2021 yılının Temmuz ve Kasım aylarında Adana ilinde farklı pastanelerde üretilip satışa sunulan 35 adet çikolata, 35 adet meyveli ve 30 adet sade toplamda 100 adet kremalı yağ pasta örneği materyal olarak kullanıldı. Ürünler laboratuvara soğuk zincir (+4°C) altında getirildi ve 24 saat içerisinde mikrobiyolojik analizleri gerçekleştirildi.

2.2. Yöntem

2.2.1. Örneklerin Alınması

Aseptik koşullarda toplanan yaklaşık 100 gram kremalı pasta örnekleri soğuk zincir (+4°C) altında laboratuvara getirildi ve *S. aureus* varlığı ve

enterotoksin sentezinden sorumlu (*sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see*) genler bakımından analiz edildi.

2.2.2. Mikrobiyolojik Analizler

S. aureus varlığı klasik kültür metodu olarak Tallent ve ark. (2016), PCR analizinde ise Brakstad ve ark. (1992) tarafından önerilen *S. aureus*'a özgü *nuc* geni, enterotoksin sentezleyen genlerin varlığının saptanmasında ise Mehrotra ve ark. (2000) tarafından önerilen gen primer çiftleri kullanıldı.

2.2.2.1. *Staphylococcus aureus* İzolasyon ve İdentifikasyonu

Analiz edilecek örneklerden 10 gram alınarak steril polietilen poşetler konuldu, her bir steril polietilen poşetin içerisine 90 ml peptonlu su (%0.1) eklendi. Steril polietilen poşetlerin içerisindeki örnekler Stomacherde (Interscience, France) yaklaşık 2 dakika homojenize edildi. Önceden hazırlanan steril Baird parker agarlara (BP- Egg yolk tellurite içeren) öze kullanılarak çizme plak tekniği ile ekim yapıldı. Petriler 35°C'de 24-48 saat aerob koşullarda inkübe edildi. Bu sürenin sonunda üreyen tipik siyah, parlak, zon oluşturan lesitinaz pozitif koloniler ile atipik zon oluşturmeyen koloniler şüpheli kabul edildi. Şüpheli kolonilere Gram boyama, katalaz, koagülaz testleri ve DNA ekstraksiyonu yapıldı.

2.2.3. Moleküler Analizler

2.2.3.1. DNA Ekstraksiyonu

BP agarda üreyen tipik ve atipik şüpheli kolonilerden Brain heart infusion brota (BHI) ekim yapıldı. BHI'lar 24 saat aerob koşullarda 35°C'de inkübe edilerek zenginleştirme işlemi yapıldı. Bu süre sonunda bulanıklık oluşturan tüpler DNA ekstraksiyonunda kullanıldı.

DNA ekstraksiyonunda hazır ticari kit (Vivantis, GF-1) kullanıldı. DNA ekstraksiyonu üretici firmanın önerdiği protokole göre yapıldı.

2.2.3.2. PCR analizi

Moleküler analizlerde, Brakstad ve ark. (1992) tarafından önerilen *S. aureus*'a özgü *nuc* gen primer çiftleri kullanıldı. Kullanılan gen primer çiftleri Çizelge 2.1'de verilmiştir. PCR analizinde hazır master miks kullanıldı (Ampliqon, PCR enzymes, Reagents). Analizde kullanılan PCR karışımı ticari firmanın önerdiği aralıkta Çizelge 2.2'de verildiği biçimde toplam hacim 20µl olarak hazırlandı. Keyvan ve Özdemir (2016) ve Mehrotra ve ark. (2000)'nın önerdiği amplifikasyon koşulları Çizelge 2.3. verildiği biçimde uygulandı.

Çizelge 2.1. *S. aureus* identifikasyonunda kullanılan gen primer çiftleri

Hedeflenen gen	Primer sekansı (5'-3')	Amplifikon büyüklüğü (bp)	Kaynak
<i>nuc</i>	F-GCG ATT GAT GGT GAT ACG GTT	279	Brakstad ve ark. (1992)
	R-AGC CAA GCC TTG ACG AAC TAA AGC		

*F; Forward, R; Reverse***Çizelge 2.2. Araştırmada kullanılan PCR karışımı**

PCR karışımı	Miktar (μl)
Hazır Master miks (Ampliqon, PCR enzymes, Reagents)	10
<i>nuc</i> -F1	0,5
<i>nuc</i> -R1	0,5
PCR Water	7
DNA	2
Toplam	20

*F; Forward, R; Reverse***Çizelge 2.3. Araştırmada uygulanan amplifikasyon koşulları (Keyvan ve Özdemir 2016, Mehrotra ve ark. 2000).**

Basamaklar	Isı-zaman
Ön Denatürasyon	94°C'de 4 dk
Denatürasyon	94°C'de 30 sn /35 siklus
Annealing (Bağlanma)	57,5°C'de 30 sn/35 siklus
Extension (Uzama)	72°C'de 40 sn/35 siklus
Son uzama	70°C'de 10 dk

2.2.4. Enterotoksin sentezleyen genlerin analizi

S. aureus pozitif olarak saptanan izolatlar stafilkokal enterotoksinlerin sentezinden sorumlu genler olan *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* bakımından Mehrotra ve ark., (2000) tarafından önerilen gen spesifik primerler kullanılarak analiz edildi. Araştırmada kullanılan hedef genler, primer sekansları ve amplifikon büyüklükleri (bp) Çizelge 2.4'de verilmiştir.

Moleküler analizde birbirine yakın bp aralıklardaki toksin üreten genleri jel elektroforezde kolay yorumlayabilmek için, *sea*, *sec* ve *see* primerlerini içeren PCR karışımı SET 1 (Çizelge 2.5) ile *seb* ve *sed* primerlerini içeren PCR karışımı ise SET2 (Çizelge 2.6) olarak hazırlanarak ayrı ayrı amplifiye edilmiştir. Çizelge 2.7’de ise *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* hedef genleri için uygulanan amplifikasyon koşulları verilmiştir (Mehrotra ve ark. 2000).

Çizelge 2.4. Araştırmada kullanılan gen primer çiftleri

Hedeflenen Genler	Primer sekansı (5'-3')	Amplifikon Büyüklüğü (bp)	Kaynak
<i>sea</i>	F-GGTTATCAATGTGCGGGTGG R-CGGCACTTTTTCTCTTCGG	102	Mehrotra ve ark. (2000)
<i>seb</i>	F-GTATGGTGGTGTAAGTACGAGC R-CCAAATAGTGACGAGTTAGG	164	
<i>sec</i>	F-AGATGAAGTAGTTGATGTGTATGG R-CACACTTTTAGAATCAACCG	451	
<i>sed</i>	F-CCAATAATAGGAGAAAATAAAAG R-ATTGGTATTTTTTTTCGTTC	278	
<i>see</i>	F-AGGTTTTTTTCACAGGTCATCC R-CTTTTTTTTCTTCGGTCAATC	209	

F; Forward, R; Reverse

Çizelge 2.5. Araştırmada *sea*, *sec* ve *see* genleri için kullanılan PCR karışımı (SET 1)

PCR karışımı	Miktar (μl)
Hazır Master miks	12,5
<i>sea</i> F	1
<i>sea</i> R	1
<i>sec</i> F	1
<i>sec</i> R	1
<i>see</i> F	1
<i>see</i> R	1
Ultra saf su	5,5
DNA	1
Toplam hacim	25

F; Forward, R; Reverse

Çizelge 2.6. Araştırmada *seb* ve *sed* genleri için kullanılan PCR karışımı (SET2)

PCR karışımı	Miktar (μl)
Hazır Master miks	12,5
<i>seb</i> F	1
<i>seb</i> R	1
<i>sed</i> F	2
<i>sed</i> R	2
Ultra saf su	5,5
DNA	1
Toplam hacim	25

F; Forward, R; Reverse

Çizelge 2. 7. Araştırmada *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* genleri için uygulanan amplifikasyon koşulları (Mehrotra ve ark. 2000).

Ön Denatürasyon	94°C'de 5 dk
Denatürasyon	94°C'de 2 dk /35 siklus
Annealing (Bağlanma)	55°C'de 2 dk/35 siklus
Extension (Uzama)	72°C'de 1 dk/35 siklus
Son uzama	72°C'de 7 dk

Uygulanan amplifikasyon işlemleri sonucunda PCR ürünlerini içeren amplikonlar, pozitif ve negatif kontrol'den 5 μl (parafilm kağıt üzerinde 1 μl 6xloading dye ile karıştırılarak) ve DNA marker'den ise 3 μl (100 bp ladder; Thermo Fisher) %1,5 'lik konsantrasyonda hazırlanan agaroz jele (%5 oranında red safe içeren) yüklendi. Sonra, 120 volt elektrik akımında 50 dakika süre ile elektroforezde (CS-300V, England) yürütülerek, elektroforez işlemi yapıldı. Bu süre sonunda, ultraviyole transilluminatör jel görüntüleme cihazında (UVP, USA) DNA marker, pozitif ve negatif kontrol ile spesifik DNA bantları görüntülenerek değerlendirildi. Sırasıyla yaklaşık 279, 102, 164, 451, 278 ve 209 bp'de bant veren amplikonlar *nuc*, *sea*, *sec*, *sed* ve *see* geni bakımından pozitif olarak değerlendirildi. Araştırmada *seb* bulunmadı. Doğrulan izolatlar gliserinli broth içerisinde -20°C'de muhafaza edildi.

Pozitif Kontroller

Araştırmada kullanılan *seb*, *sec*, *sed*, ve *see* genlerinin pozitif kontrolleri Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi ve *sea* geninin

pozitif kontrolü ise İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesinden temin edildi.

2.2.5. İstatistiki Değerlendirme

Araştırma sonucunda elde edilen verilerin istatistiki değerlendirilmesinde yüzdelik olarak hesaplamalar yapıldı.

3. BULGULAR

Bu çalışmada Adana ilinde bulunan değişik pastanelerden Temmuz 2021 ve Kasım 2021 tarihlerinde toplanan 35 adet çikolatalı, 35 adet meyveli ve 30 adet sade olmak üzere, toplam da 100 kremalı yaş pasta örneğinden *S. aureus* varlığı ve elde edilen izolatlarda enterotoksin oluşumundan sorumlu olan *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* genlerinin varlığı araştırılmıştır.

Klasik kültür metodu ve moleküler analiz sonucunda; Analiz edilen 100 kremalı yaş pasta örneğinin 15'inden (%15) *S. aureus* izole edilmiştir. *Staphylococcus aureus* pozitif örneklerinin 3 adedi (%20) çikolatalı, 8 adedi (%53.3) meyveli ve 4 adedi (26.7) ise sade yaş pasta olarak belirlendi (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Farklı pasta örneklerinden izole edilen *S. aureus* sayı ve oranları

Örnek	Sayısı	<i>S. aureus</i> pozitif	Toplam <i>S. aureus</i> pozitif örneklerin içerisindeki oranı
Çikolatalı	35	3 (%8.5; 3/35)	%20 (3/15)
Meyveli	35	8 (%22.8; 8/35)	%53.3 (8/15)
Sade	30	4 (%13.3; 4/30)	%26.7 (4/15)
Toplam	100	15 (%15; 15/100)	%100 (15/15)

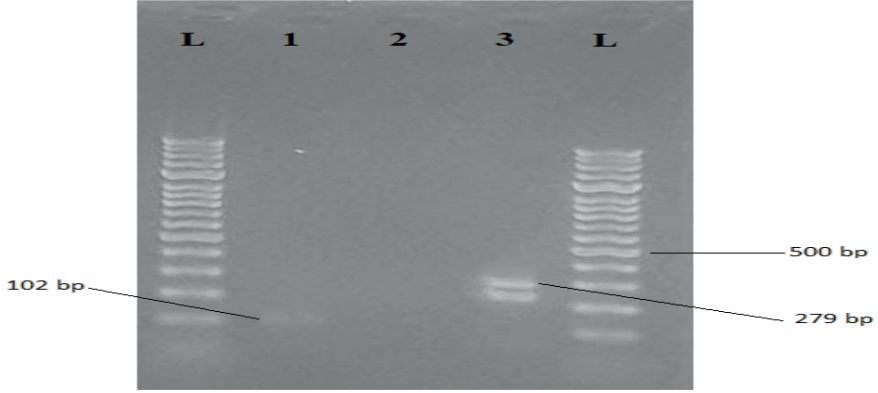
Elde edilen *S. aureus* izolatlarından 8'i (%53.3; 8/15) Temmuz, 7'si (%46.7; 7/15) Kasım ayında üretilip tüketime sunulan pastalardan saptanmıştır. *S. aureus* bakımından pozitif bulunan 15 adet izolatta enterotoksin sentezinden sorumlu *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* genleri değerlendirildiğinde; *sea* 3 (%20), *sec* 4 (%26.7), *sed* 15 (%100), *see* 2 izolatta (%13.3) saptanırken, *seb* genini hiçbir izolatın taşımadığı bulundu.

Temmuz ayı içerisinde *S. aureus* izolatlarında SE sentezleyen genlerin oranı %45.83 (11/24) iken, kasım ayı içerisinde %54.16 (13/24) olarak saptandı. Temmuz ayında predominant gen *sed* (%72.72) takiben *sec* (%27.27) iken kasım ayında sıralama *sed* (%53.84), *sea* (23.07), *see* (%15.38) ve *sec* (%7.69) olarak saptandı. Pozitif izolatlarda saptanan enterotoksin

sentezleyen genlerin ay ve örneklerle göre dağılımı Çizelge 3.2'de detaylı olarak verilmiştir. İzolatların jel elektroforezdeki görüntüleri ise Şekil 3.1 ve Şekil 3.2'de verilmiştir.

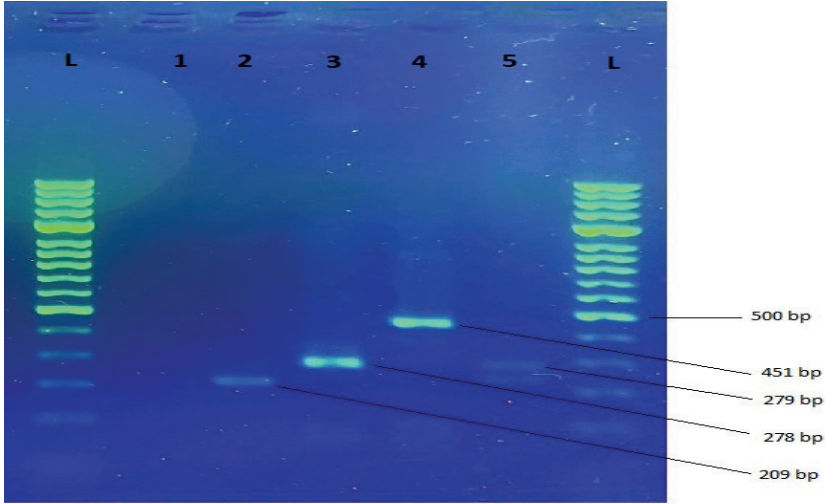
Çizelge 3. 2. S. aureus izolatlarından saptanan enterotoksin sentezleyen genlerin ay ve örneklerle göre dağılımı

ÖRNEK İZOLAT/AY	<i>sea</i>	%	<i>seb</i>	%	<i>sec</i>	%	<i>sed</i>	%	<i>see</i>	%
ÇİKOLATALI										
1. İzolat/Temmuz	-		-		+		+		-	
2. İzolat/Kasım	+		-		+		+		-	
3. İzolat/Kasım	-		-		-		+		-	
TOPLAM	1	%33.3 (1/3)	0	%0	2	%50 (2/4)	3	%20 (3/15)	0	%0
MEYVELİ										
4. İzolat/Temmuz	-		-		-		+		-	
5. İzolat/Temmuz	-		-		-		+		-	
6. İzolat/Temmuz	-		-		+		+		-	
7. İzolat/Temmuz	-		-		-		+		-	
8. İzolat/Kasım	-		-		-		+		+	
9. İzolat/Kasım	+		-		-		+		-	
10. İzolat/Kasım	-		-		-		+		-	
11. İzolat/Kasım	-		-		-		+		-	
TOPLAM	1	%33.3 (1/3)	0	%0	1	%25 (1/4)	8	%53.3 (8/15)	1	%50 (1/2)
SADE										
12. İzolat/Temmuz	-		-		-		+		-	
13. İzolat/Temmuz	-		-		+		+		-	
14. İzolat/Temmuz	-		-		-		+		-	
15. İzolat/Kasım	+		-		-		+		+	
TOPLAM	1	%33.3 (1/3)	0		1	%25 (1/4)	4	%26.7 (4/15)	1	%50 (1/2)
GENEL TOPLAM	3	%100	0	%0	4	%100	15	%100	2	%100



Şekil 3.1. İzolatların jel elektroforezde görüntüleri

L; Ladder (100 bp), 1; sea, 2; Negatif Kontrol (Ultra saf su), 3; S. aureus (Pozitif Kontrol)



Şekil 3.2. İzolatların jel elektroforezde görüntüleri

L; Ladder (100 bp), 1; Negatif Kontrol (Ultra saf su), 2; sea, 3; sed, 4; sec, 5; S. aureus (Pozitif Kontrol)

4. TARTIŞMA

Konu ile ilgili olarak yapılan ulusal ve uluslararası araştırmalar incelendiğinde, kremalı pastalarda çok geniş bir skalada *S. aureus* varlığı gözlemlenmektedir.

Oh ve ark. (2007), 38 adet kremalı kekin %31.6'sından ve 342 adet pirinçli kekin %33.9'undan *S. aureus* izole edildiğini, pirinçli keklerde enterotoksijenik *S. aureus* oranının % 59.1 ve ısı işlemi görmüş ürünlerde (kremalı kek, krem kek ve ekmek) ise %56.3 olarak saptandığını, *sea*'nın predominant karakter gösterdiğini bildirmektedir. Huong ve ark. (2010), 48 adet süt örneğinden % 35.4 ve 55 adet pirinç kek örneğinden %16.3 oranında *S. aureus* saptadıklarını bildirmektedir. Araştırmacılar aynı araştırmada süt örneklerinin 3'ünden SEA, 2'sinden SEB, 3'ünden SEC, pirinçli kek örneklerinin 3'ünden SEB saptandığını bildirmektedir.

Aydın ve ark. (2011), 141 adet ısı işlemi görmüş ürün (pasta, yufka, kek), 303 çiğ süt ve 452 adet süt ürünü (krema, peynir, yağ ve yoğurt) inceledikleri araştırmada sırasıyla 5, 31 ve 36 örnekten *S. aureus* enterotoksin sentezleyen gen izole edildiğini, *sea* sırasıyla %0, %9.7 ve %11.1, *sec* %0, %22.6, %8.3, *sea+sec* %0, %3.2, %2.8, *seb+sec* %0,%0, %2.8 oranında saptandığını bildirmektedir.

Giannatale ve ark. (2011), 55 adet kremalı pasta örneğinden %3.6 oranında *S. aureus* izole edildiğini ve *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see*'nin saptanmadığını bildirmektedir. Aslan (2012), 25 adet yaş pasta örneğinin %36'sından *S. aureus* izole edildiğini, 2 örnekte (%8) enterotoksin saptandığını bildirmektedir. Jafaeri ve ark. (2013), 35 adet kek ve turta örneğinden sırasıyla %94.4 ve %48 oranında *S. aureus* saptandığını bildirmektedir.

Baumgartner ve ark. (2014), ön ısıtma işlemi görmüş pastalardan izole edilen izolatlarda ise *sec*, *sej* ve *sei* genlerinin saptandığını bildirmektedirler. Tang ve ark. (2015), 2010 yılı içerisinde 1 adet süt ürünü, 5 adet kek, 3 adet şekerleme ve 2 adet yumurta ürününde yaptıkları araştırmada *S. aureus* oranını sırasıyla %0, 80, 33.3 ve 100 olarak saptadıklarını bildirmektedirler. Aynı araştırmada elde edilen *S. aureus* izolatlarının enterotoksijenik gen dağılımı ise sırasıyla kekta 1 adet *seln*, şekerlemelerde 1 adet *sej*, *selj* ve *ser* ve yumurta ürününde 2 adet *selk*, *seln* ve *ser* olarak belirlenmiştir.

Argudin ve ark. (2012), gıda, gıda ile temas eden, gıda enfeksiyonu kaynaklı olan ya da olmayan 64 adet *S. aureus* izolatu üzerine yaptıkları araştırmada, izolatların % 54.8'inden bir veya birden fazla gen olarak *sea*, *seb*, *sec* ve *sed* genlerini saptadıklarını, oranlarının ise sırasıyla %38.7, 12.9, 16.1 ve 22.6 olduğunu bildirmektedir.

Cho ve ark. (2019), 1464 adet kremalı üründen 42 adet koagülaz pozitif *S. aureus* izole edildiğini, genotipik incelemede ise *sea* %61.9, *seb*, *sec*, *sed* %0, *sea+seb* %2.4 ve *sea+sec*'i %9.5 oranında saptandığını bildirmektedirler. Song ve ark. (2016), 910 adet kremalı kekten % 15.5 oranında *S. aureus* izole edildiğini, izolatların %29.8'inde SE üreten *S. aureus* saptandığını, %7.8'inin ise SEB olarak tanımlandığını bildirmektedir.

Carav (2019), 27 adet meyveli, 9 adet çikolatalı yaş pasta ve 11 adet ek örneği stafilokokal enterotoksinlerin varlığı yönünden incelendiğini, 1 adet beyaz orman meyveli pastada SEA ve SED, 1 adet meyveli pastada SEA, 1 adet çikolatalı pastada SEA, 1 adet ekte SEA saptandığını bildirmiştir. Sundararaj ve ark. (2019), 25 süt ve 25 adet kek örneğinin sırasıyla 13 ve 4 adedinden *S. aureus* izole edildiğini bildirmektedir. Araştırmacılar, süt ve kek örneklerinden elde edilen izolatlarda sırasıyla *seb*, *sea* ve *sec*'i 6,3,4 ve 1,1,2 izolatta saptadıklarını bildirmektedir.

Güçükoğlu ve ark. (2020), analiz edilen süt içeren tatlılardan (35 supangile, 30 keşkül, 25 fırın sütlaç, 15 kazandibi, 15 tavuk göğsü ve 10 profiterol) sırasıyla % 31.4, 40, 4, 20, 26.6 ve 40 oranında *S. aureus* izole edildiğini bildirmektedir. Araştırmacılar, Supangilede 1 (%25) örnekte *sea*, 3 (%75) örnekte *seb*, keşkül örneklerinde 2 (%50) örnekte *sea*, 1 örnekte (%25) *seb*, 1 (%25) örnekte *sea+seb*, kazandibinde 1 (%100) örnekte *seb*, tavuk göğsünde 2 (%50) örnekte *sea*, 1 (%25) örnekte *see*, 1 (%25) örnekten *sea+seb* izole edilirken, profiterol ve fırın sütlaçtan ise *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* izole edilemediğini bildirmektedir. Titouche ve ark. (2020), 54 adet çiğ süt ve 83 adet pasta örneğinden sırasıyla %37.04 ve %14.46 oranında *S. aureus* izole edildiğini, çiğ süttten 24 ve pastadan 25 adet izole edilen izolatın sırasıyla *sea*, *seb* ve *sec* sayısının 2,4,0 ve 0,2,4 olarak saptandığını bildirmektedir.

Bazı araştırmacıların bulguları yüksek (Oh ve ark. 2007, Huong ve ark. 2010, (pirinç kek araştırma bulguları), Aslan 2012, Jafaeri ve ark. 2013, Tang ve ark. 2015 (kek araştırma bulguları), Güçükoğlu ve ark. 2020'nin (Profiterol bulguları) araştırma bulguları bu araştırma verilerine göre yüksek bulunmuştur.

Giannatale ve ark. (2011) ve Cho ve ark. (2019)'nın araştırma bulguları ise bu araştırma verilerine göre düşük bulunmuştur. Song ve ark. (2016), Sundararaj ve ark. (2019) ve Titouche ve ark. (2020) (pasta örnekleri) araştırma bulguları ise bu araştırma verileri ile benzerlik göstermektedir.

Araştırmacıların pasta, kremalı pasta veya kek odaklı çalışmaları bireysel olarak incelendiğinde bu araştırmaya göre *S. aureus* varlığı ve düzeyi ile

ilgili bulguların farklı olması araştırmaların yapıldığı coğrafya (Oh ve ark. 2007, Huong ve ark. 2010, Giannatale ve ark. 2011, Aslan 2012, Jafaeri ve ark. 2013, Tang ve ark. 2015, Cho ve ark. 2019, Gücükoğlu ve ark. 2020), araştırmamanın yapıldığı mevsim ve araştırma süresinin (Huong ve ark. 2010, Giannatale ve ark. 2011, Gücükoğlu ve ark. 2020) farklı olmasına bağlanabilir.

Araştırmalarda örnek sayısının az ya da çok olması (Oh ve ark. 2007, Huong ve ark. 2010, Giannatale ve ark. 2011, Aslan 2012, Jafaeri ve ark. 2013, Tang ve ark. 2015, Cho ve ark. 2019, Gücükoğlu ve ark. 2020), örneklerin toplanma sıklığı ve örneklerin alındığı bölgenin coğrafi genişliği araştırma bulgularının farklı oranlarda olmasının nedenleri olabilir.

Yine, araştırma bulgularının farklı olması araştırmalarda yaşam alanlarının nüfus bağlamında büyüklüğü veya küçüklüğü, örnek alınan yerin niteliği gibi nedenlere bağlanabilir.

Araştırmada uygulanan izolasyon prosedürü (klasik kültür, moleküler teknikler) (Oh ve ark. 2007, Huong ve ark. 2010, Giannatale ve ark. 2011, Aslan 2012, Jafaeri ve ark. 2013, Tang ve ark. 2015, Cho ve ark. 2019, Gücükoğlu ve ark. 2020), örneklerin alındığı işletmelerde üretim sürecinde uygulanan hatalı işlemlere bağlı oluşan teknolojik kusurlar, ürünün muhafaza koşulları ve yetersiz sanitasyon programları gibi faktörlerde araştırma bulgularındaki farklılıkların nedenleri arasında değerlendirilmektedir.

Bu araştırmada temmuz ayında toplanan örneklerden %53.3 (8/15) ve kasım ayında toplanan örneklerden ise %46.6 (7/15) oranında *S. aureus* izole edilmiştir. Oransal olarak, sıcak temmuz ayı ile daha serin olan kasım ayında *S. aureus*'un saptanma oranında ciddi bir fark görülmemiştir. Enterotoksin sentezleyen genler bakımından değerlendirildiğinde ise; temmuz ayı içerisinde saptanmış *S. aureus* izolatlarında SE sentezleyen genlerin toplam içerisindeki oranı %45.83 (11/24) ve kasım ayı içerisinde ise %54.16 (13/24) olarak saptanmıştır. Temmuz ayı içerisinde saptanmış *S. aureus* izolatlarında predominant gen *sed* (%72.72), takiben *sec* (%27.27) gelirken, kasım ayı içerisinde predominant gen *sed* (%53.84), *sea* (%23.07), *see* (%15.38) ve *sec* (% 7.69) sıralanmıştır.

Bu araştırmada kremalı pastalarda SE varlığı analiz edilmediğinden SE varlığı üzerine çalışma yapan araştırmacıların (Huong ve ark. 2010, Cho ve ark. 2019, Song ve ark. 2016 ve Carav 2019) gıdalarda SEA, SEB, SEC, SED ve SEE'yi fenotipik olarak saptaması, izolatlarda enterotoksin sentezinden sorumlu gen veya genlerin (*sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see*) izolatlarda aktif olarak bulunabileceği şeklinde yorumlanmaktadır. Lopes ve ark. (1993) ve Schelin

ve ark. (2011) gıdanın kompozisyonu, sıcaklığı ve pH'nın sentezlenen SE'nin tipini etkilediğini bildirmektedirler. Nitekim yapılan araştırmalar genotipik olarak *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* genleri ile SEA, SEB, SEC, SED ve SEE'nin yalnız veya kombine olarak farklı oranlarda saptandığını göstermektedir.

Kremalı yaş pasta üretim tekniğinde; yumurta, süt, sıvı yağ, şeker, un, kabartma tozu, vanilya ve krema ve lezzeti arttırmak amacıyla farklı alternatif ürünlerinde kullanılarak ürünün bileşimine katılmasıyla hazırlanmaktadır. Ürünün bileşiminde olan her bir ögenin ürünün mikrobiyel ve kimyasal kalitesi ile lezzeti ve raf ömrü üzerine etkisi bulunmaktadır. Pasta üretiminde kullanılan hammaddelerin başlangıç mikrobiyel yükünün uygun olmaması, hammaddelerin uygun olmayan depolama koşullarında muhafaza edilmesi ve uygun olmayan hijyenik koşullarda üretimin yapılması, primer veya sekonder kontaminasyon kaynaklı *S. aureus* düzeyinin artması ve SE oluşumu sonucunda intoksikasyon oluşabilir.

Kremalı yaş pastanın bileşiminde ana öge olan çiğ süt, krema ve yumurta gibi ürünlerle ilgili olarak yapılan araştırmalarda *S. aureus* ve enterotoksinlerinin varlığı önemli derecede risk olduğunu göstermektedir. Adwan ve ark. (2005), 250 adet çiğ süt örneğinden (120 koyun ve 130 keçi) toplamda 37 adet enterotoksijenik *S. aureus* izole edildiğini, *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* oranının sırasıyla %10.8, 54.1, 10.8, 16.2 ve 8.1 olarak saptandığını bildirmektedir.

Ertaş ve Gönülalan (2010), 100 çiğ süt örneğinden %60 oranında stafilokok saptandığını, 300 izolattan %14'ünün (42 adet) *S. aureus* olduğunu, 31 izolatta (%73.8) enterotoksin genleri varlığının saptandığını, bunların %38.7'sinin *sea*, %6.5'inin *seb*, %16.1'inin *sec*, %32.3'ünün *sed*, %6.5'inin *sea+sed* olduğunu bildirmektedir.

Hu ve ark. (2013), 40 adet çiğ süt örneğinden %30, 40 adet süt ürününden ise %7.5 oranında *S. aureus* iole ettiklerini bildirmektedir. Hassani ve ark. (2014), 60 adet koyun, 30 adet inek ve 30 adet keçi sütünden oluşan çiğ süt örneklerinde yaptıkları araştırmada, sırasıyla 27 (%45), 10 (%33) ve 13 (%43) örnekten *S. aureus* izole ettiklerini ve izolatların ise *sea* pozitif oranının sırasıyla 6 (%22), 1 (%10) ve 3 (%23) olarak değiştiğini, *sea* geninin en çok koyun sütünden izole edilenlerde saptandığını bildirmektedir.

Rahimi (2013), 36 krema örneğinden %5.6 oranında *S. aureus* saptadıklarını, izolatların hiç birinden SE saptanmadığını, izolatlardan *seg*, *sei* 1 adet ve *sei*, *seb* 1 adet saptandığını, *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see*'nin saptanmadığını bildirmektedir. Mashouf ve ark. (2015), 66 adet krema, 271 adet çiğ süt ve 47 geleneksel krema örneğinden yapılan analizlerde, sırasıyla

4 (%6.1), 29 (%10.7) ve 2 adet (%4.3) izolatın *S. aureus* olarak saptandığını bildirmektedirler. Araştırmacılar, krema örneklerinden *sea* 1, *sed* 1, *sec*+*sed* 1 adet, çiğ süt örneklerinden *sea* 5, *seb* 1, *sec* 2, *sed* 2 ve *see* 1 adet olarak saptanırken, geleneksel krema örneklerinin hiçbirinden *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* saptanmadığını bildirmektedir.

Can ve ark. (2017a), mastitisli ineklerden alınan inek sütü örneğinin %48'inden pozitif sonuç elde edildiğini, 56 izolattan 22 adedin koagülaz pozitif stafilokok, 20 adedin ise *S. aureus* olduğunu bildirmektedir. Can ve ark. (2017b), 50 adet çiğ süt örneğinden 25 adedinden (%50) *S. aureus* izole edildiğini bildirmektedir. Diab ve ark. (2021), 170 inekten alınan 680 çiğ süt örneğinden yapılan analizlerde 157'sinden %21.6 oranında *S. aureus* saptandığını bildirmektedirler. *S. aureus* izolatlarında enterotoksin sentezleyen genlerin varlığını ise, *sea* 10, *seb* 3, *sec* 3, *sed* 2, *see* 2, *sea-seb* 1, *seb-sed* 1 olarak belirlendiğini bildirmektedir.

Bu araştırmada izole edilen *S. aureus* izolatlarındaki *sea*, *seb*, *sec*, *sed* ve *see* genleri oranları, kremalı pasta ve pasta bileşimine giren süt, krema, kek vb. ürünler üzerine yapılan araştırmalardaki enterotoksijen sentezinden sorumlu gen verileri ile karşılaştırıldığında (Adwan ve ark. 2005, Ertaş ve Gönülalan 2010, Aydın ve ark. 2011, Giannatale ve ark. 2011, Argudin ve ark. 2012, Rahimi 2013, Baumgartner ve ark. 2014, Hassani ve ark. 2014, Mashouf ve ark. 2015, Tang ve ark. 2015, Cho ve ark. 2019, Sundararaj ve ark. 2019, Gücükoğlu ve ark. 2020, Titouche ve ark. 2020) benzerlik ya da farklılıklar görülmektedir. Bu farklılık ürünlerin bileşimi, kimyasal yapısı, pH'ı ve üretim tekniği ile izolatların genotipik özelliklerinin farklı olması ile açıklanabilir.

Ürünün hazırlanma sürecinde Pondit ve ark. (2018), 220 tavuk, 80 bıldırcın yumurtası yüzeyinden alına svap örneklerden sırasıyla %10.45 ve %5 oranında *S. aureus* saptandığını bildirmektedir. Rahman ve ark. (2018), 20 adet tavuk yumurtasından %55 oranında *S. aureus* izole edildiğini bildirmektedir. Syed ve ark. (2018), 300 yumurtadan %21.3 oranında stafilokok izole edildiğini ve %59'unun *S. aureus* olarak tanımlandığını bildirmektedir. Kholly ve ark. (2022), Mısır'da 250 adet yumurta örneğinden %13.5 oranında *S. aureus* izole edildiğini, izolatların 2 adedinde *seb*, 1 adedinden *sed* saptandığını bildirmektedirler.

Kremalı pasta üretim sürecinde üretimde kullanılan hammaddelerin başlangıç mikrobiyel yükü ile üretim süreci ve sonrasındaki rekontaminasyonlar son ürünlerdeki *S. aureus* varlığı, düzeyi ve SE oluşumunu etkileyebilmektedir. Kontamine gıdaların tüketilmesinden sonra uygun koşullarda (su aktivitesi, pH, oksidasyon redüksiyon potansiyeli, sıcaklık ve %NaCl) ve matriks bileşimine bağlı olarak, etkenin logaritmik üreme fazına

girdiği görülmektedir (Tatini, 1973; Adams ve Moss 2008). Anunciaçao ve ark. (1995), oda sıcaklığında muhafaza ile başlangıç kontaminasyon düzeyinin SE sentez için gerekli süreyi azalttığını bildirmektedirler.

Keki pişirme sürecinde uygulanan ısı-zaman parametresiyle, hamur karışımındaki *S. aureus* yıkımlanırken, olası SE toksinleri yıkımlanmayabilir. Uygulanan ısı işlemiyle *S. aureus* yıkımlandığından, pişirme sonucunda kremalı yaş pastalarda yapılan analizlerde *S. aureus*'un saptanması sekonder kontaminasyonlara bağlanabilir.

Son üründe, SE saptanması ise ısı işlemi öncesi *S. aureus* ile kntaminasyon düzeyinin 10^6 kob/g ve üzerinde olması durumunda uygun koşullarda SE oluşumu veya ısıl işlem sonrasında sekonder kontaminasyona bağlı olarak *S. aureus* düzeyinin 10^6 kob/g ve üzeri olması sonucu oluşan SE oluşumuna bağlanabilir. Nitekim bazı araştırmacılar (Holeckova ve ark. 2002, Le Loir 2003) ürünün matriksine de bağlı olarak gıdalara yetersiz ısıl işlem uygulandığında (60°C 'de, 30 dk) *S. aureus*'un yıkımlanmadığını ve ürettiği toksinlerin ısıya dirençli olmasından ötürü intoksikasyonlara neden olabileceğini bildirmektedirler.

Bryan (1976), 1938-1972 yılları arasında kremalı pasta tüketimi kaynaklı *S. aureus* intoksikasyonların ilk sıralarda olduğunu bildirmiştir. Aynı araştırmacı, 1920-1972 yılları arasında kremalı pasta kaynaklı 367 zehirlenme olgusunun kök nedenlerini değerlendirdiklerinde, olguların ilk sırasında %70.8 ile yetersiz soğutma, %24.8'inde infekte çalışan, %22.3'ünde taze olmayan ürün, %7.4'ünde sanitasyon programının yetersizliği, %5.2'sinde gıda ile temasta olan çalışanın hijyen eksikliği, %4.6'sında yeterince temizlenmeyen alet ve ekipman, %4.1'inde kontamine ham materyal (yumurta ve süt), %3.3'ünde pişirme ve ısıtma hataları, %1.4'ünde rodent kontaminasyonu, %1.1'inde sanitasyon kurallarına uyulmaksızın hatalı kurulum ve %0.5'inde ise ürünün sıcakta muhafazasına bağlanabileceği bildirilmektedir.

İşletmelerde üretimde çalışanların personel hijyeni konusunda bilinçlendirilmesi ve hizmet içi eğitimin sürekliliği olası intoksikasyon risklerini azaltmada önemli rol oynamaktadır. Gıda işletmelerinde çalışan personel gıda üretim zincirinin önemli bir kontaminasyon kaynağıdır (Çakıcı ve ark. 2015). Nitekim, yapılan araştırmalar *S. aureus*'un sağlıklı olan ya da olmayan, üretim sürecinde çalışan ya da çalışmayan bireylerden saptanabileceğini göstermektedir. Pereira ve ark. (1994), Brezilya'da kremalı pasta tüketimi sonucu 4 saat sonra kusma ve diyare semptomları ile getirilen 20 kişinin hastanede değerlendirildiğini, pastadan 10^8 kob/g düzeyinde *S. aureus* izole edildiği ve SEA saptandığını bildirmektedirler. Araştırmacılar, özellikle üretimde çalışan personelin çoğu stafilokokal intoksikasyonda

önemli bir kaynak olarak ürünü kontamine ettiğini, kontaminasyonu minimize etmek için maske, eldiven kullanılarak ürüne direkt temasın azaltılması ile uygun hijyenik koşullarda üretimin olası riskleri azaltmada önemli olduğunu bildirmektedirler.

Çatar ve Yıldırım (2020), 23 kantinde gıda ile teması olan çalışanların parmaklarının hijyenik açıdan değerlendirilmesi ile ilgili yapılan bir araştırmada, *S. aureus*'un %82.6 oranında saptandığını bildirmektedirler. Diab ve ark. (2021), işletmelerde çalışan personelden alınan swap örneklerinden sırasıyla el swaplarının %44.2'si, nasal swaplarından %32.6 toplamda ise %38.37 oranında *S. aureus* izole ettiklerini bildirmektedir. Aynı araştırmacılar sırasıyla *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *sea-seb* ve *seb-sed* sayısını 8, 3,3,1,1,3 ve 2 olarak saptadıklarını, el ve nazal svaptan en fazla *sea* izole edildiğini bildirmektedir. Okoro ve ark. (2022), gıda üretim zincirinde gıda ile temas eden kişilerde yapılan araştırmalarda 360 kişiden %28.1 oranında *S. aureus* izole edildiğini, izolatların ise %37.6 oranında toksin ürettiğini saptadıklarını bildirmektedir.

Kolat (2008), 42 pastane bu işletmelerde çalışan 416 çalışan üzerinde HACCP sisteminin uygulanabilirlik düzeylerini değerlendirdiği (anket ve gözlem esaslı) araştırmada, işletmelerde çalışanların %83.8'inin sağlık kontrollerinden geçerek işe başlatıldığını, %82.4'ünün çalışma hayatı boyunca düzenli olarak sağlık kontrollerinden geçtiğini, %21.8'inin üretim sürecinde önlük, bone, eldiven ve maske kullandıklarını, üretimde görev alanların %90.8'inin materyallerle temas sonucu ve tuvaletten çıktıktan sonra ellerini yıkadıklarını bildirmiştir. Yine aynı araştırmada, personelin %72.6'sının hizmet içi eğitim aldığı, üretim sürecinde %69.9'unun kremayı üretim sürecinde taze hazırladıkları, %56.9'unun kremalı pastaların soğukta muhafazasına önem verdiğini, %40.4'ünün üretimde yumurtaları temizlemeden kullandığını saptamıştır.

Novoa ve ark. (2018), gıda ile temas eden yüzeylerden 293 örnek toplandığını, örneklerden elde edilen izolatların %35.7'sinin *S. aureus* olarak tanımlandığını, 84 izolatın %64.3'nün stafilokokal enterotoksin sentezleyen gen bakımından pozitif olduğunu, *sed* %4.7, *sea+sej* %1.1, *sed+seg* %2.3, *sec+sej* %1.1, *sed+seg+sej* %2.3, *sed+seg+sei* %1.1, *seb+sed+sei* %1.1, *sec+sed+seb+sej* %1.1 ve *sec+sed+seg+sej* %1.1 olarak saptandığını bildirmektedir.

Pamuk ve ark. (2018), Afyon Kocatepe Üniversite kampüs kantinlerinde gıda işletmelerinde kullanılan 40 adet bıçak ve ürünün işlendiği 27 yüzeyde yaptıkları araştırmada, *S. aureus* düzeyini ($\geq 10^2$ kob/g) sırasıyla %17.5 ve %14.8 oranında saptadıklarını bildirmektedir. Araştırmacılar aynı araştırmada

45 çalışan personelin el hijyen profilinde ise %57.7 oranında *S. aureus* saptadıklarını bildirmektedir.

Sonuç olarak; *S. aureus* insan sağlığı açısından risk yaratabilen bir mikroorganizma olduğundan stafilokokal intoksikasyonlardan korunmada ham maddenin başlangıç mikrobiyel yükünün düşük olmasının ve uygun teknikte üretim yapılmasının önemli olduğu, ürünün muhafazası, nakil, servis aşaması ve sanitasyon programlarının etkinliğinin kontrol edilmesinin yanı sıra, HACCP'in ön gördüğü protokoller kapsamında uygulanmasının gerektiği kanaatine varılmıştır.

5. Kaynaklar

- Adams, M.R., & Moss, M.O. (2008). Food Microbiology. 3rd Edition, University of Surrey, Guildford, S. 252-256.
- Adwan, G. M., Abu-Shanab, B., & Adwan, K. (2005). Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in raw milk in the North of Palestine. *Turkish Journal of Biology*, 29(4), 229-232.
- Anunciação, L. L. C., Linardi, W. R., do Carmo, L. S., & Bergdoll, M. S. (1995). Production of staphylococcal enterotoxin A in cream-filled cake. *International Journal of Food Microbiology*, 26(2), 259-263.
- Archer, G. L. (1998). *Staphylococcus aureus*: A well-armed pathogen. *Reviews of Infectious Diseases*, 26(5), 1179-1181.
- Argudín, M. A., Mendoza, M. C., González-Hevia, M. A., Bances, M., Guerra, B., & Rodicio, M. R. (2012). Genotypes, exotoxin gene content, and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* strains recovered from foods and food handlers. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(8), 2930-2935.
- Aslan, Ö. (2012). *Bazı gıdalardan izole edilen Staphylococcus aureus'ların enterotoksijenik özellikleri ve farklı antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanması* (Yüksek Lisans tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Türkiye).
- Aydin, A., Sudagidan, M., & Muratoglu, K. (2011). Prevalence of staphylococcal enterotoxins, toxin genes and genetic-relatedness of foodborne *Staphylococcus aureus* strains isolated in the Marmara Region of Turkey. *International Journal of Food Microbiology*, 148(2), 99-106.
- Baumgartner, A., Niederhauser, I., & Johler, S. (2014). Virulence and resistance gene profiles of *Staphylococcus aureus* strains isolated from ready-to-eat foods. *Journal of Food Protection*, 77(7), 1232-1236.
- Brakstad, O. G. (1992). Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the nucA gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 30, 1650-1654.
- Bryan, F. L. (1976). Public health aspects of cream-filled pastries. A review. *Journal of Food Protection*, 39(4), 289-296.
- Can, H. Y., Elmalı, M., & Ergün, Y. (2017a). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in milk from dairy cows with chronic mastitis. *Eurasian Journal of Veterinary Science*, 33(4), 255-259.
- Can, H. Y., Elmalı, M., & Karagöz, A. (2017b). Molecular typing and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw milk, cheese, minced meat, and chicken meat samples. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 37(2), 175.

- Carav N.E.(2019). *Yaş pasta ve sütlü tatlılarda stafilokokal enterotoksinlerin varlığı*. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Türkiye.
- Centers For Disease Control and Prevention (CDC). 2002. *Staphylococcus aureus* Resistant to Vancomycin. Erişim: <https://www.cdc.gov/mmwr/Preview/Mmwrhtml/Mm5126a1.Htm>. Erişim Tarihi: 20.12.2022.
- Cho, Y. S., Lee, M. K., & Hwang, S. H. (2019). Toxin gene profiles, genetic diversity, antimicrobial resistance, and coagulase type of *Staphylococcus aureus* from cream-filled bakery products. *Food Science & Nutrition*, 7(5), 1727-1734.
- Çakıcı, N., Demirel-Zorba, N. N., & Akçalı, A. (2015). Gıda endüstrisi çalışanları ve stafilokokal gıda zehirlenmeleri. *Turkish Bulletin of Hygiene & Experimental Biology/Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji*, 72(4), 337-350.
- Çatar, O., & Yildirim, Y. (2020). Hand hygiene profile of food handlers in canteens of erciyes university campus. *Kocatepe Veterinary Journal*, 13(1):52-59.
- Diab, M. S., Ibrahim, N. A., Elnaker, Y. F., Zidan, S. A., & Saad, M. A. (2021). Molecular detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxin genes isolated from mastitic milk and humans in El-Behira, Egypt. *International Journal of One Health*, 7(1), 70-77.
- Erol, İ. (2007). Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. 1. baskı. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Ankara*,
- Ertaş, N., & Gönülalan, Z. (2010). Kayseri ilinde satılan çiğ sütlerde *Staphylococcus aureus* ve enterotoksinlerinin varlığı üzerine araştırmalar. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 24(1), 11-15.
- Evenson, M. L., Hinds, M. W., Bernstein, R. S., & Bergdoll, M. S. (1988). Estimation of human dose of staphylococcal enterotoxin A from a large outbreak of staphylococcal food poisoning involving chocolate milk. *International Journal of Food Microbiology*, 7(4), 311-316.
- Giannatale, E., Prencipe, V., Tonelli, A., Marfoglia, C., & Miglioni, G. (2011). Characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food for human consumption. *Veterinaria Italiana*, 47(2), 165-173.
- Güçükoğlu, A., Onur Kevenk, T., Uyanık, T., Çadirci, Ö., Terzi, G., & Alişarlı, M. (2012). Detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in raw milk and dairy products by multiplex PCR. *Journal of Food Science*, 77(11), 620-623.
- Güçükoğlu, A., Cadirci, O., Gülel, G. T., Uyanık, T., & Abdullahi, A. (2020). Enterotoxin gene content and antibiotic resistance profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from traditional Turkish dairy-based desserts. *Fresenius Environmental Bulletin*, 29, 2073-2080.
- Hampikyan, H., Ulusoy, B., Bingöl, E. B., Çolak, H., & Akhan, M. (2008). İstanbul'da tüketime sunulan bazı ızgara tipi gıdalar ile salata ve mezele-

- rin mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 38(2), 87-94.
- Hassani, S., Hosseini, D. R., & Mohebbati, M. A. (2014). Enterotoxin A gene barrier *Staphylococcus aureus* within traditionally dairy products of Tehran. *International Journal of Enteric Pathogen*, 2(4): e20906.
- Hennekinne, J. A., De Buyser, M. L., & Dragacci, S. (2012). *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(4), 815-836.
- Holecková, B., Holoda, E., Fotta, M., Kalináčova, V., Gondol, J., & Grolmus, J. (2002). Occurrence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in food. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 9(2), 179-182.
- Hu, S. K., Liu, S. Y., Hu, W. F., Zheng, T. L., & Xu, J. G. (2013). Molecular biological characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from food. *European Food Research and Technology*, 236(2), 285-291.
- Humber, J. Y., Denny, C. B., & Bohrer, C. W. (1975). Influence of pH on the heat inactivation of staphylococcal enterotoxin A as determined by monkey feeding and serological assay. *Applied Microbiology*, 30(5), 755-758.
- Huong, B. T. M., Mahmud, Z. H., Neogi, S. B., Kassu, A., Van Nhien, N., Mohammad, A., ... & Khan, N. C. (2010). Toxigenicity and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* isolated from Vietnamese ready-to-eat foods. *Food Control*, 21(2), 166-171.
- Jafaeri, A. S. M., Madi, N. S., & Nahaisi, M. H. (2013). Incidence of pathogenic bacteria in cakes and tarts displayed for sale in Tripoli, Libya. *International Journal of Nutrition Food Engineering*, 7(3), 210-214.
- Keyvan, E., & Özdemir, H. (2016). Sığır karkaslarında *Staphylococcus aureus*' un varlığı, enterotoksijenik özellikleri ve antimikrobiyal dirençliliği. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 63(1), 17-23.
- Kholiy, E.A., Elshater, M., Abd El Gawad, M., & Zeinhom, M. (2022). Prevalence of enterotoxigenic *S. aureus* in table eggs in El-Fayoum City, Egypt. *Journal of Veterinary Medical Research*, 29(1), 1-5.
- Kısa, Ç., & Tuncer, Y. (2021). Kanatlı etlerinde *Staphylococcus aureus* yaygınlığı ve antibiyotik direnç profillerinin, antibiyotik direnç ve enterotoksin genlerinin belirlenmesi. *Gıda*, 46(3), 692-706.
- Kolat, B. (2008). *Ankara'da bulunan pastane imalathanelerinde HACCP'in uygulanabilirlik düzeyi*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
- Le Loir, Y, Baron F, & Gautier M. (2003). *Staphylococcus aureus* and Food Poisoning. *Genetics and Molecular Research*, 2(1): 63-76.
- Lopes, H. R., Noleto, A. L. S., De Las Heras, M. D., & Bergdoll, M. S. (1993). Selective enterotoxin production in foods by *Staphylococcus aureus* strains

- that produce more than one enterotoxin. *Journal of Food Protection*, 56(6), 538-540.
- Mashouf, R. Y., Hosseini, S. M., Mousavi, S. M., & Arabestani, M. R. (2015). Prevalence of enterotoxin genes and antibacterial susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* strains isolated from animal originated foods in West of Iran. *Oman Medical Journal*, 30(4), 283-290.
- Mehrotra, M., Wang, G., & Johnson, W. M. (2000). Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(3), 1032-1035.
- Novoa, A. M. G., Iñiguez-Moreno, M., González-Gómez, J. P., Zacarías-Castillo, E., Guerrero-Medina, P. J., Padilla-Frausto, J. J., ... & Gutiérrez-Lomelí, M. (2018). Detection of enterotoxin genes of *Staphylococcus aureus* isolates from food contact surfaces in the dairy industry of Jalisco, Mexico. *Biotechnia*, 20(2), 72-78.
- Oh, S. K., Lee, N., Cho, Y. S., Shin, D. B., Choi, S. Y., & Koo, M. (2007). Occurrence of toxigenic *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat food in Korea. *Journal of Food Protection*, 70(5), 1153-1158.
- Okoro, A. A., Amala, S. E., & Nwokah, E. G. (2022). Enterotoxin production and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* among food handlers in a sub-urban setting in Rivers State, Nigeria. *European Journal of Pharmaceutical Medical Research*, 9(3), 54-59.
- Pamuk, Ş., Erdoğan, M., Yıldırım, Y., Hızlısoy, H., Al, S., & Sepin, Ö. (2018). Üniversite kampüs kantinlerindeki gıdaların mikrobiyolojik kalitesinin ve gıda çalışanlarının el hijyen durumlarının değerlendirilmesi. *Kocatepe Veterinary Journal*, 11(4), 363-373.
- Park J.Y., & Seo K.S. (2019). *Staphylococcus aureus*, Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, 5th Edition, Editor(s):Michael P. Doyle, Francisco Diez-Gonzalez, Colin Hill.
- Pereira, M. L., Carmo, L. S. D., Santos, E. J. D., & Bergdoll, M. S. (1994). Staphylococcal food poisoning from cream-filled cake in a metropolitan area of South-Eastern Brazil. *Revista de Saúde Pública*, 28, 406-409.
- Pondit, A. P., Haque, Z. F., Sabuj, A. A., Khan, M. S. R., & Sukumar Saha, S. S. (2018). Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from chicken and quail eggshell. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 5(4):466-471.
- Qin, L., Da, F., Fisher, E. L., Tan, D. C., Nguyen, T. H., Fu, C. L., ... & Otto, M. (2017). Toxin mediates sepsis caused by methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*. *PLoS Pathogens*, 13(2), e1006153.

- Rahimi, E. (2013). Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* isolated from traditional and commercial dairy products marketed in Iran. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(2) 393-399.
- Rahman, M. A., Rahman, A. A., Islam, M. A., & Alam, M. M. (2018). Multi-drug resistant *Staphylococcus aureus* isolated from milk, chicken meat, beef and egg in Bangladesh. *Research in Agriculture Livestock and Fisheries*, 5(2), 175-183.
- Sağlam, D., & Şeker, E. (2016). Food-borne bacterial pathogens. *Kocatepe Veterinary Journal*, 9(2), 105-113.
- Schantz, E.J, Rössler, W.G., Wagman, J., Spero, L., Dunnery DA & Bergdoll, M.S.(1965). Purification of staphylococcal enterotoxin B. *Biochemistry*, 4(6):1011-1016.
- Schelin, J., Wallin-Carlquist, N., Thorup Cohn, M., Lindqvist, R., & Barker, G. C. (2011). The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. *Virulence*, 2(6), 580-592.
- Schmitt, M., Schuler-Schmid, U., & Schmidt-Lorenz, W. (1990). Temperature limits of growth, TNase and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. *International Journal of Food Microbiology*, 11(1), 1-19.
- Song, Q., Zhu, Z., Chang, Y., Shen, X., Gao, H., & Yang, Y. (2016). Prevalence and characteristics of enterotoxin b-producing *Staphylococcus aureus* isolated from food sources: a particular cluster of st188 strains was identified. *Journal of Food Science*, 81(3), 715-718.
- Sundararaj, N., Kalagatur, N. K., Mudili, V., Krishna, K., & Antonysamy, M. (2019). Isolation and identification of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolates from Indian food samples: evaluation of in-house developed aptamer linked sandwich ELISA (ALISA) method. *Journal of Food Science and Technology*, 56(2), 1016-1026.
- Syed, M. A., Shah, S. H. H., Sherafzal, Y., Shafi-ur-Rehman, S., Khan, M. A., Barrett, J. B., ... & Jackson, C. R. (2018). Detection and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from table eggs in Haripur, Pakistan. *Foodborne Pathogens and Disease*, 15(2), 86-93.
- Tallent S., Hait J., Bennett R.W., & Lancette GA. Rev. (2016), page date: (2019). Bam Chapter12:*Staphylococcus aureus*.. Erişim: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-12-staphylococcus-aureus>. Erişim tarihi: 12.11.2021.
- Tang, J., Zhang, R., Chen, J., Zhao, Y., Tang, C., Yue, H., ... & Shi, H. (2015). Incidence and characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food markets. *Annals of Microbiology*, 65(1), 279-286.
- Tarisse, F.C., Goulard-Huet, C., Nia, Y., Devilliers, K., Marcé, D., Dambrune, C., ... & Simon, S. (2021). Highly sensitive and specific detection of

staphylococcal enterotoxins SEA, SEG, SEH, and SEI by immunoassay. *Toxins*, 13(2), 130.

Tatini, S. R. (1973). Influence of food environments on growth of *Staphylococcus aureus* and production of various enterotoxins. *Journal of Food Protection*, 36(11), 559-563.

Tatini, S. R., & Bennett, R. (1999). *Staphylococcus* | Detection by Cultural and Modern Techniques. Encyclopedia of Food Microbiology. London: Academic Press, s: 2071–2076

Titouche, Y., Houali, K., Ruiz-Ripa, L., Vingadassalon, N., Nia, Y., Fatihi, A., ... & Hennekinne, J. A. (2020). Enterotoxin genes and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from food products in Algeria. *Journal of Applied Microbiology*, 129(4), 1043-1052.

