

1-1-2003

Investigation of Staphylococcus aureus Isolation and Thermonuclease Activity and Enterotoxin Formation in Some Dairy Desserts

MUSTAFA ALİŞARLI

YAKUP CAN SANCAK

LEVENT AKKAYA

CİHANGİR ELİBOL

Follow this and additional works at: <https://journals.tubitak.gov.tr/veterinary>



Part of the [Animal Sciences Commons](#), and the [Veterinary Medicine Commons](#)

Recommended Citation

ALİŞARLI, MUSTAFA; SANCAK, YAKUP CAN; AKKAYA, LEVENT; and ELİBOL, CİHANGİR (2003) "Investigation of Staphylococcus aureus Isolation and Thermonuclease Activity and Enterotoxin Formation in Some Dairy Desserts," *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*: Vol. 27: No. 6, Article 31. Available at: <https://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/vol27/iss6/31>

This Article is brought to you for free and open access by TÜBİTAK Academic Journals. It has been accepted for inclusion in Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences by an authorized editor of TÜBİTAK Academic Journals. For more information, please contact academic.publications@tubitak.gov.tr.

Bazı Sütli Gıdalarda *Staphylococcus aureus*'un İzolasyonu, Termonükleaz Aktivitesi ve Enterotoksijenik Özelliklerinin Araştırılması*

Mustafa ALIŞARLI, Yakup Can SANCAK, Levent AKKAYA, Cihangir ELİBOL
Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Van - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 19.08.2002

Özet: Sütli tatlılarda *Staphylococcus aureus*'un izolasyonu, termonükleaz aktivitesi ve enterotoksijenik özelliklerinin araştırıldığı bu çalışmada, Van'da bulunan 5 farklı pastahaneye ait 100 adedi puding türü (25 sütlaç, 30 keşkül, 25 supangile ve 20 kazandibi) ve 75 adedi kremalı pasta (25 sade kremalı, 25 kakaolu kremalı ve 25 meyveli kremalı) olan toplam 175 adet örnek analiz edilmiştir.

Analiz bulgularına göre *S. aureus*; 1 sütlaç (% 4), 3 keşkül (% 10), 4 supangile (% 16) ve 2 kazandibinde (% 8) olmak üzere puding türü tatlıların % 10'unda ve 6 sade kremalı (% 24), 10 kakaolu kremalı (% 40) ve 4 meyveli kremalı (% 16) olmak üzere kremalı pasta örneklerinin ise % 27'sinde, toplam 30 (% 17) örnekte bulunmuştur. Bu örneklerin 27 (% 90)'sinde izole edilen *S. aureus*'larda termonükleaz aktivitesi pozitif sonuçlanmış ve 11 (% 37)'inin ise enterotoksin oluşturma yeteneğinde olduğu saptanmıştır. A tipi enterotoksin; keşkül, supangile, sade kremalı, meyveli kremalı pastada 1 ve kakaolu kremalı pastada 3 olmak üzere toplam 7 örnekte tespit edilmiştir. C tipi enterotoksin supangile ve kakaolu kremalı pastada bulunurken, A/B miks enterotoksini sütlaç ve sade kremalı pastada saptanmıştır. Enterotoksin oluşturan *S. aureus*'ların tamamı termonükleaz aktivitesi de göstermiştir.

Sonuç olarak, stafilocokkal gıda intoksikasyonun oluşumu için, ısıtma işlemi ile mikroflorası elimine edilmiş ve sonra *S. aureus* ile kontamine olmuş gıdaların önemli rol oynadığı görüşü dikkate alınırsa, sütli tatlıların enterotoksijenik stafilocoklar yönünden tüketici açısından potansiyel sağlık riski taşıdığı, ciddi bir kontrol sisteminin gerekliliği ve özellikle de personel ve işletme hijyenine önem verilmesinin zorunlu olduğu görüşüne varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Sütli tatlılar, termonükleaz, enterotoksin, *Staphylococcus aureus*

Investigation of *Staphylococcus aureus* Isolation and Thermonuclease Activity and Enterotoxin Formation in Some Dairy Desserts

Abstract: In this study, the isolation of *Staphylococcus aureus* from dairy desserts, and its thermonuclease activity and enterotoxigenic properties were investigated. A total of 175 samples were analyzed consisting of 100 pudding samples (sütlaç [rice pudding] 25, keşkül [milk pudding containing coconut] 30, supangile [chocolate pudding] 25, kazandibi [milk pudding slightly burned on the bottom] 20) and 75 cream pastries (butter-cream 25, chocolate-cream 25, fruit-cream 25).

According to the analysis, *S. aureus* was found in a total of 30 (17%) samples in one sütlaç (4%), three keşkül (10%), four supangile (16%), and two kazandibi (8%) samples (10% of pudding samples; and six butter-cream (24%), ten chocolate-cream (40%), and four fruit-cream (16%) pastry samples of cream pastry samples). The thermonuclease activity of *S. aureus* (27%) strains isolated from 27 (90%) cream pastry samples was positive and an enterotoxin-producing capacity was determined in 11 samples (37%). Type A enterotoxin was found in seven samples: one keşkül, one supangile, one butter-cream pastry, three chocolate-cream pastry, and one fruit-cream pastry. Type C enterotoxin was seen in two samples; one supangile, and one chocolate-cream pastry. Type A/B mixed enterotoxins were seen in sütlaç and butter-cream pastries. All enterotoxin producing strains also have thermonuclease activities.

In conclusion, if it is considered that foods contaminated with *S. aureus* after other microflora have been eliminated by heating play an important role in the occurrence of staphylococcal food intoxication, it is suggested that dairy desserts pose a potential health risk in terms of enterotoxigenic staphylococci, necessitating a serious control program concentrating especially on the hygiene of personnel and equipment.

Key Words: Dairy dessert, thermonuclease activity, enterotoxin, *Staphylococcus aureus*

* Bu çalışma TÜBİTAK Veteriner ve Hayvancılık Araştırma Grubu tarafından VHAG-1462 nolu proje olarak desteklenmiştir.

Giriş

Isı işlemleri uygulaması ile mikroflorası elimine edilmiş ve sonra da *Staphylococcus aureus* ile rekontamine olmuş besinler, stafilokokkal intoksikasyonun oluşumunda oldukça önemli rol oynamaktadır (1). Kremalı pasta ve puding türü sütli tatlılar; bileşimleri, su aktiviteleri (aw) ve pH değerleri nedeniyle *S. aureus* için ideal bir besi ortamı olarak kabul edilmektedir (2-5). Bu nedenle *S. aureus*, bu ürünlerde uygun koşullarda çok hızlı gelişebilmekte ve halk sağlığı açısından tehlike oluşturabilmektedir (5,6).

Tüm *S. aureus* suşlarının enterotoksin oluşturma özelliğinde olmadığı ve şimdiye kadar da saptanan 10 çeşit enterotoksin olduğu bildirilmiştir (7). Besin zehirlenmelerine birinci derecede sebep olan toksinin A tipi toksin olduğu, bunu sırasıyla B ve D tipi toksinlerin izlediği birçok araştırmacı (8-11) tarafından ileri sürülmüştür. Bu toksinlerin, çok sayıda besin intoksikasyonuna neden olan kremalı pasta veya benzer ürünlerde saptandığı rapor edilmiştir (2,10,12,13). Aışarlı (4) ile Neumayr ve Krämer (14)'e göre, bu tür ürünler oldukça yüksek sayıda *S. aureus* içerseler bile, sahip oldukları baskın vanilya aromaları nedeniyle ürünün tat ve kokusunda fark edilebilir bir değişikliğin oluşmadığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, kremalı pasta ve puding türü sütli tatlıların mevcut florasında bulunan stafilokoklar içerisinde potansiyel patojenik *S. aureus*'ların varlığı araştırılmış ve izole edilen *S. aureus*'ların, termonükleaz aktiviteleri ve oluşturdukları enterotoksin tipleri belirlenmiştir. Bununla, tüketici sağlığı açısından bu gıdaların güvenilirliğini saptamak ve tüketici sağlığı açısından önemini vurgulamak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada materyal olarak, Van il merkezindeki 5 farklı pastahaneden temin edilen; her biri 25'er örnek olmak üzere sade, meyveli ve kakaolu 75 adet kremalı pasta örneği; 25'i sütlaç, 25'i supangile, 30'u keşkül ve 20'si kazandibi olan 100 adet puding türü sütli tatlı örneği olmak üzere toplam 175 örnek analiz edilmiştir. Aseptik koşullar altında pastanelerden temin edilen yaklaşık 125'er g analiz örnekleri soğuk zincir altında (ICE BOX, 32 I, ICE PACK Frizet Mod.T350) laboratuvara getirilmiştir.

Örneklerin alınışı, dilüsyonun hazırlanması ve ekim: Analizi yapılacak her bir örnek, steril stomacher torbalarına 10'ar g tartılarak üzerine 90'ar ml steril peptonlu fizyolojik tuzlu su (% 0,85 NaCl + % 0,1 pepton) ilave edilip stomacherde (IUL Instrument, CLASSIC 0400) 2 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Bu şekilde 1:10 sulandırılması sağlanan örneğin homojenatından dilüsyon serisi desimal olarak 10^{-7} 'ye kadar hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan 0,1 ml Baird Parker Agar'a aktarılmış ve 37 °C'de 48 saat süreyle aerob koşullarda inkübe edilmiştir.

Baird Parker Agar'da üreyen 1-3 mm çapında parlak, siyah (tellurit reaksiyonu) etrafı halesiz koloniler ile etrafı bir hale ile çevrili koloniler (yumurta sarısı veya lesitinaz reaksiyonu) mikrokok-stafilokok olarak sayılmıştır. Bu koloniler içerisinde *S. aureus*'un izolasyonu için katalaz pozitif olan 5 tipik ve/veya atipik koloni seçilerek Staphytest Plus (OXOID DR850M) testi uygulanmıştır (15).

Termonükleaz aktivitesi: Termonükleaz oluşturan *S. aureus*'ların belirlenmesinde Lachia ve ark. (16) tarafından önerilen termonükleaz aktivitesi testi yapılmıştır. Bu amaçla izole edilen *S. aureus*'lar BHI (Brain Heart Infusion) buyyona (OXOID, CM225) pasajlanmış ve 37 °C'de 16-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası buyyon kültürleri kaynar suda 15 dakika ısıtılmış ve sonra soğumaya bırakılmıştır. Üzerine 2 mm çapında delik açılmış Toulidine Blau-DNA Agar'a buyyon kültürlerinden 15 µl konulmuş ve bu plaklar 37 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan 4 saat veya reaksiyon oluşmamışsa 24 saat sonra plaklar üzerine açılmış delikler etrafında 1 mm'den büyük menekşe renginde hale oluşturanlar termonükleaz aktivitesi pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Enterotoksin Analizi: Enterotoksin oluşturan *S. aureus*'ların belirlenmesi Reversed Passive Latex Agglutination ticari test kiti (OXOID, SET RPLA, TD900) ile gerçekleştirilmiştir (17). Bu test kiti ile, analiz örneklerden izole edilmiş *S. aureus*'lar sadece A, B, C ve D tipi toksin oluşturma yetenekleri yönünden üretici firmanın yönergesi doğrultusunda test edilmiştir. Bu amaçla; *S. aureus*'lar tek koloni halinde 10 ml BHI buyyona inoküle edilmiş ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası buyyon kültürleri 4 °C'de 900 g'de 30 dakika süreyle santrifüje edilmiştir. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatantta toksin tespiti yapılmıştır.

Staphylect Plus, termonukleaz aktivitesi ve RPLA testlerinin pozitif kontrollerinde Dr. B. Holmes, NCTC (National Collection of Type Cultures, Public Health Laboratory Service, Londra)'den temin edilen SEA 10652 FDA 196E, SEB 10654 FDA 243, SEC 10655 137 ve SED 10656 494 *S. aureus* suşları ve negatif kontrollerde ise Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı'ndan temin edilen *S. epidermidis*-33 suşu kullanılmıştır.

Bulgular

Sütlü tatlılarda *S. aureus*'ların kontaminasyon düzeylerine göre sayısal dağılımları ve bulunma oranları Tablo 1'de gösterilmektedir.

Analiz bulgularına göre *S. aureus*; 1 sütlac (% 4), 3 keşkül (% 10), 4 supangile (% 16) ve 2 kazandibi (% 10) olmak üzere puding türü tatlıların % 10'unda ve 6

sade kremalı (% 24), 10 kakaolu kremalı (% 40) ve 4 meyveli kremalı (% 16) olmak üzere kremalı pasta örneklerinin ise % 27'sinde, toplam 30 (% 17) örnekte bulunmuştur (Tablo 1).

İzole edilen *S. aureus*'ların 27 (% 90)'sinin termonukleaz aktivitesi pozitif sonuçlanmış ve 11 (% 37)'inin enterotoksin oluşturma yeteneğinde olduğu saptanmıştır (Tablo 2). Enterotoksin oluşturan *S. aureus*'ların tamamı termonukleaz aktivitesi de göstermiştir. Ancak termonukleaz aktivitesi gösteren *S. aureus*'ların % 65'i enterotoksin oluşturmuştur. A tipi enterotoksin; keşkül, supangile, sade kremalı, meyveli kremalı pastada 1 ve kakaolu kremalı pastada 3 olmak üzere toplam 7 örnekte, C tipi enterotoksin supangile ve kakaolu kremalı pastada bulunurken, A/B mikس enterotoksini sütlac ve sade kremalı pastada saptanmıştır (Tablo 2).

Tablo 1. Sütlü tatlılarda *S. aureus*'ların kontaminasyon düzeylerine göre sayısal dağılımları ve bulunma oranları.

| Örnekler | n* | <10 ² | 10 ² | 10 ³ | 10 ⁴ | 10 ⁵ | 10 ⁶ |
|-----------------|----|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Sütlac | 25 | 24 (% 96) | 1 (% 4) | - | - | - | - |
| Keşkül | 30 | 27 (% 90) | - | 3 (% 10) | - | - | - |
| Supangile | 25 | 21 (% 84) | 3 (% 12) | 1 (% 4) | - | - | - |
| Kazandibi | 20 | 18 (% 90) | 1 (% 5) | - | 1 (% 5) | - | - |
| Sade kremalı | 25 | 19 (% 76) | 2 (% 8) | 3 (% 12) | - | 1 (% 4) | - |
| Kakaolu kremalı | 25 | 15 (% 60) | 5 (% 20) | 1 (% 4) | 2 (% 8) | - | 2 (% 8) |
| Meyveli kremalı | 25 | 21 (% 84) | 1 (% 4) | 3 (% 12) | - | - | - |

n*: Örnek sayısı

Tablo 2. Termonukleaz ve toksin oluşturma özelliğinde bulunan *S. aureus*'ların analiz örneklerine göre dağılımları.

| Örnekler | n* | <i>S. aureus</i> Pozitif Örnek sayısı | <i>TNase</i> Pozitif <i>S. aureus</i> | Saptanan toksin tipleri | | | | |
|-----------------|----|---|---|-------------------------|---|---|---|-----|
| | | | | A | B | C | D | A/B |
| Sütlac | 25 | 1 | 1 | - | - | - | - | 1 |
| Keşkül | 30 | 3 | 2 | 1 | - | - | - | - |
| Supangile | 25 | 4 | 4 | 1 | - | 1 | - | - |
| Kazandibi | 20 | 2 | 2 | - | - | - | - | - |
| Sade kremalı | 25 | 6 | 5 | 1 | - | - | - | 1 |
| Kakaolu kremalı | 25 | 10 | 9 | 3 | - | 1 | - | - |
| Meyveli kremalı | 25 | 4 | 4 | 1 | - | - | - | - |

n*: Örnek sayısı

Tartışma

Bu çalışma, puding türü sütü tatlılar ve kremalı pastalarda mevcut florada izole edilen *S. aureus*'ların termonükleaz aktivitelerini ve enterotoksin oluşturma yeteneklerini belirlemek ve tüketici sağlığı açısından bu gıdaların güvenilirliğini tesbit etmek amacıyla yapılmıştır. Gıda intoksikasyonları yönünden önem taşıyan *S. aureus*'lar, puding türü sütü tatlılar içerisinde 10 (% 10) örnekte 10^2 - 10^4 kob/g düzeyinde bulunmuş ve kremalı pasta örneklerinde ise 20 (% 27) örnekte 10^2 - 10^6 kob/g seviyesinde belirlenmiştir (Tablo 1). Bu sonuçlar, birçok araştırmacının (18-21) sonuçları ile karşılaştırıldığında oldukça düşük çıkmıştır. Sumner ve ark. (22)'lerinin kremalı pastalarda bulduğu değer, bu çalışmanın bulguları ile benzerlik göstermektedir. Schulze (23) ile DGHM (24) krema içerikli pastane ürünlerinde *S. aureus* sayısının 10^2 kob/g'ı aşmaması gerektiğini ifade etmişlerdir. Bu çalışmada, analiz edilen puding türü sütü tatlı örneklerinin 5'inde, kremalı pastala örneklerinin ise 12'sinde bu değerini aştığı gözlemlenmiştir (Tablo 1).

Potansiyel enterotoksin oluşturan *S. aureus*'ların belirlenmesinde termonükleaz aktivitesinin tesbiti önemli rol oynamaktadır (25). Bir kısım araştırma (26,27) göstermiştir ki, analiz edilen *S. aureus* suşlarının % 99'u bu enzimi üretmiştir. Yürütülen bu çalışmada, *S. aureus* 30 örnekte izole edilmiş, 27 (% 90)'si termonükleaz aktivitesi ve 11 (% 37)'i enterotoksin oluşturma yeteneğinde bulunmuştur (Tablo 2). İzole edilen *S. aureus*'lar termonükleaz aktivitesi yönünden dikkate alındığında çalışmanın bulguları, yukarıda bildirilen araştırmacıların bulduğu değerlerden düşük, bazı araştırmacıların (28,29) sonuçlarına yakın çıkmıştır. Enterotoksin oluşturma yeteneği yönünden dikkate alındığında ise çalışmanın bulguları, Kısa ve ark. (30)'larının bulgularından yüksek, ancak bazı araştırmacıların (22,31) sonuçlarından düşük çıkmıştır.

Termonükleaz aktivitesi gösteren *S. aureus*'ların % 41'i enterotoksin oluşturmıştır. Bu sonuç, bazı araştırmacıların (27,32) bulduğu değerlerle benzerlik göstermiştir. Çalışmada, enterotoksin oluşturan *S. aureus*'ların tamamının termonükleaz aktivitesi pozitif bulunmuştur. Birçok araştırmacı da (14,33,34), enterotoksin oluşmuş gıdalarda aynı zamanda termonükleaz aktivitesini belirlemiştir.

Yürütülen çalışmada, 30 örnekte izole edilen *S. aureus*'ların 11 (% 37)'i enterotoksin oluşturma yeteneğinde bulunmuş ve bunların 7 (% 23)'si A

enterotoksini, 2 (% 6)'si A/B enterotoksini ve 1 (% 3)'er adedi B ve C toksini oluşturmuştur (Tablo 2). Çalışmada görüldüğü gibi izole edilen *S. aureus*'lar en çok A tipi enterotoksin oluşturmışlardır. Konuyla ilgili olarak yapılan çalışmaların (10,20,35-37) sonuçları incelendiğinde, puding türü sütü tatlılarda, kremalı pastalarda ve benzer içerikli ürünlerde en sık bulunan A tipi enterotoksin olduğu görülmektedir. Bu durum, enterotoksin A oluşturan *S. aureus* suşlarının diğer toksin oluşturan *S. aureus* suşlarına göre uygun olmayan koşullar altında da yaşamlarını devam ettirebilmeleri (4,9) veya kontaminasyon kaynakları yönünden dikkate alındığında buradan izole edilen *S. aureus*'ların büyük çoğunlukla A tipi enterotoksin oluşturan suşlar olması ile açıklanabilir (8,38,39).

Bu çalışmada, kakaolu ürünlerde (supangile ve kakaolu kremalı pasta) *S. aureus*'un daha yüksek oranda bulunması dikkat çekicidir (Tablo 1). Bu durum, Castellani ve ark. (40)'nın bildirdiği gibi, kakaonun serin amino asidinin *S. aureus* üzerine olan inhibitör etkisini nötralize etmesiyle açıklanabilir. Diğer bir dikkat çekici nokta, kremalı pastalarda *S. aureus*'un bulunma sıklığının, puding türü sütü tatlılara göre daha yüksek olmasıdır. Bu fark; puding türü tatlıların kremalı pastalara göre daha yüksek ısı işlemi görmeleri (4), kremalı pastaların kremalarının hazırlanmasında çiğ kremaların kullanılması ve personel ve işletme hijyeninin eksikliği (21,22,30) ve kremalı pasta hazırlanması sırasındaki işlemlerin çokluğu ile açıklanabilir. Ecker ve Lenz (35)'e göre, işletmelerde yeterli temizliğin ve dezenfeksiyonun yapılmadığı durumlarda *S. aureus*'lar uzun süre alet ve ekipmanlar üzerinde canlı kalabilmektedir.

Araştırma sonuçlarına göre, Van'da tüketime sunulan puding türü sütü tatlı ve kremalı pastaların halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği kanaatine varılmıştır. Eğer ürünler hijyenik koşullar dikkate alınarak hazırlanır, yeterli ısı işlemi ile muamele edilir, soğukta yeterli ve sürekli muhafaza edilir ve rekontaminasyonlardan korunursa enterotoksijenik *S. aureus*'lar tüketici sağlığı açısından sağlık riski oluşturmayabilir. Tüketiciler açısından riskleri mümkün olduğu kadar minimuma indirmek için, üretim esnasında muhakkak uygun teknolojik üretim tekniklerine (good manufacturing practices, GMP) uyulması veya geleneksel üretimden uzak endüstriyel bir üretim söz konusu ise daha detaylı bir kalite güvenliği sistemi olan tehlike analizleri ve kritik kontrol noktaları (hazard analysis and critical control

points, HACCP) sisteminin prensiplerinin uygulamaya konulması önemlidir.

Sonuç olarak, stafilokokkal gıda intoksikasyonunun oluşumu için, ısı işlemleri uygulaması ile mikroflorası elimine edilmiş ve sonra *S. aureus* ile kontamine olmuş gıdaların

önemli rol oynadığı görüşü dikkate alınır, sütü tatlıların enterotoksijenik stafilokoklar yönünden tüketici açısından potansiyel sağlık riski taşıdığı, ciddi bir kontrol sisteminin gerekliliği ve özellikle de personel ve işletme hijyenine önem verilmesinin zorunlu olduğu görüşüne varılmıştır.

Kaynaklar

- Untermann, F.: Staphylokokken-Enterotoxinen. Ed.: Blobel, H und Schliesser, T. Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren. Vol. II/1: Staphylokokken-Infektionen und Enterotoxine. Gustav-Fischer Verlag, Stuttgart, 252-267, 1994.
- Beckers, H.J., Coutinho, R.A., Jansen, J.T.: Staphylococcal food poisoning by consumption of sterilized vanilla custard. Antonievan-Leeuwenhoek., 1980; 46: 224-225.
- Costanzo-Anunciacao, L.L., Linaddi, W.R., do Carmo, L.S., Bergdoll, M.S.: Production of staphylococcal enterotoxin A in cream filled cake. Int. J. Food Microbiol., 1995; 26: 259-263.
- Alişarlı, M.: Vermehrung von *Staphylococcus aureus* und Enterotoxinbildung in türkischen Puddingspeisen. Inaug. PhD Thesis, Zürich, 1997.
- Alişarlı, M., Sağun, E., Alemdar, S., Akkaya, L.: Kremalı pastalarda enterotoksin oluşturan *S. aureus* suşlarının çoğalma ve enterotoksin oluşturma özellikleri üzerine etki yapan faktörler. Turk J. Vet. Anim. Sci., 2002; 26: 535-542.
- Varadaraj, M.C., Nambudripad, V.K.N.: Growth and production of Thermostable deoxyribonuclease and enterotoxin by *S. aureus* in milk. Milchwissenschaft, 1983; 38: 23-26.
- Su, Y.C., Wong, A.C.L.: Current perspectives on detection of staphylococcal enterotoxins. J. Food Prot., 1997; 60: 195-202.
- Wieneke, A.A.: Enterotoxin production by strains of *Staphylococcus aureus* isolated from foods and human beings, J. Hyg. Camb., 1974; 73: 255-261.
- Notermans, S., Tips, P., Heuvelmann, C.J.: Einfluss der Milieu-Bedingungen auf das Wachstum von *S. aureus* und die Enterotoxinbildung. Fleischwirtschaft, 1984; 64: 1490-1496.
- Bergdoll, M.S., do Carmo, L.S., Sikorski, W., de Olivera Filho, M.: Staphylococcal food poisoning in Brazil. 3rd World Congress/Foodborne infections and intoxications (WHO-FHO) B35: 320-322, 1992.
- Zaadhof, K.J.: Nachweis von Staphylokokken in Lebensmitteln. Arch. für Lebensmittelhyg., 1992; 43: 25-48.
- Bryan, L.F.: Public health aspects of cream-filled pastries. A review. J. Milk Food Technol., 1976; 39: 289-296.
- Jeppesen, C., Ewald, S.: *S. aureus* and its significance in food toxicology. Dansk. Veterinaertidsskrift., 1983; 66: 921-927.
- Neumayr, L., Krämer, J.: Vergleichende Untersuchung zur Bildung von Enterotoxin A und Thermonuclease durch *S. aureus* in Sojamilch(-) und Milchprodukten. Arch. für Lebensmittelhyg., 1989; 40: 3-7.
- Baumgart, J.: Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. Behrs Verlag, Hamburg, 1993.
- Lachia, R.V.F., Genigeorgis, C., Hoeprich, P.D.: Metachromic agar-diffusion methods for detecting staphylococcal nuclease activity. Appl. Microbiol., 1971; 21: 585-587.
- Rose, S., Bankes, P., Stringer, M.: Detection of staphylococcal enterotoxins in dairy products by the reserved passive latex agglutination (SET-RPLA) kit. Int. Food Microbiol., 1989; 8: 65-72.
- Özer, İ., Özalp, E., Çakırgöz, M., Aytaç, H., Ünal, T., Ceran, A., Burgu, İ.: Ankara pastanelerinde satılan yağ pastaların bakteriyolojik nitelikleri üzerinde araştırmalar. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 1968; 3-4: 391-397.
- Dantas, R.A., Silva, M.C.C.: Microbiological analysis of meals prepared in canteens. Cater. Hlth, 1988; 1: 23-49.
- Khalafalla, G.M., Zahra, M.K., El-Shenawy, M., Mahmoud, O.S.: Enterotoxin producing staphylococci in some bakery products. Ann. Agricul. Sci., Ain Shams Uni., 1991; 36: 347-353.
- Erol, İ., Sırıken, B., Şireli, U.T., Kısa, Ö., Albay, A., Gün, H., Kaymaz, Ş.: Kremalı pastaların mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 1996; 43: 405-411.
- Sumner, S.S., Albrecht, A.L., Peters, D.L.: Occurrence of enterotoxigenic strains of *S. aureus* and enterotoxin production in bakery products. J. Food Prot., 1993; 56: 722-724.
- Shulze, K.: Lebensmittelrechts-Handbuch, V. Hygienerecht, Ioseblattsammlung. In: Pichhardt K., Lebensmittelmikrobiologie. 3. Auflage. Springer Verlag, Berlin, New York, Paris, Tokyo, London, Budapest. Pp: 293, 1993.
- DGHM (Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie): Empfehlungen für mikrobiologische Richt- und Warnwerte zur Beurteilung von Teigwaren, Gewürzen und Trocken-Suppen. Bundesgesundhbl., 1988; (31): 93-94. In: Pichhardt, K., Lebensmittelmikrobiologie. 3. Auflage. Springer Verlag, Berlin, New York, Paris, Tokyo, London, Budapest, 1993.
- Muser, A.E.: Zur Verbreitung und Enterotoxinbildung von Staphylokokken in Lebensmittelverarbeitenden Betrieben. Inaug. PhD Thesis, Berlin, 1983.
- Park, C.E., De Melo Serrano, A., Landgraf, M., Huang, J.C., Stankiewicz, Z., Rayman, M.K.: A survey of microorganisms for thermonuclease production. Can. J. Microbiol., 1980; 26: 532-535.

27. Müller, C.: Charakterisierung von Staphylokokken aus Mastitsmilchproben der Region Nordostschweiz. Inaug. PhD Thesis, Zürich, 1993.
28. Garcia, M.L., Moreno, B., Bergdoll, M.S.: Characterization of staphylococci isolated from mastitic cows in Spain. Appl. Environ. Microbiol., 1980; 39: 548-553.
29. Guitierrez, L.M., Menes, I., Garcia, M.L., Moreno, B., Bergdoll, M.S.: Characterization and enterotoxigenicity of staphylococci isolated from mastitic ovine milk in Spain. J. Food Prot., 1982; 45: 1282-1286.
30. Kısa, Ö., Albay, A., Erol, İ., Sırıken, B., Esin, N., Gün, H., Yurtyeri, A.: Kremalı pastalarda izole edilen koagulaz pozitif stafilocokların enterotoksin oluşturma özelliklerinin vidas yöntemiyle belirlenmesi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 1996; 43: 405-411.
31. Ng, D.L.K., Tay, L.: Enterotoxigenic strains of coagulase-positive *S. aureus* in drinks and ready-to-eat foods. Food Microbiol., 1993; 10: 317-320.
32. Niskanen, A., Koironen, L.: Correlation of enterotoxin and thermonuclease production with some physiological and biochemical properties of staphylococcal strains isolated from different sources. J. Food Prot., 1977; 40: 543-548.
33. Ibrahim, G.F., Baldock, A.K.: Thermostable deoxyribonuclease content and enterotoxigenicity of cheddar cheese made with subnormal starter activity. J. Food Prot., 1981; 44: 555-560.
34. Hirooka, E.L., Salzberg, S.P.C., Bergdoll, M.S.: Production of staphylococcal enterotoxin A and thermonuclease in cream pies. J. Food Prot., 1987; 50: 952-955.
35. Ecker, C., Lenz, W.: Enterotoxinnachweis und Lysotypie bei *Staphylococcus aureus* in Rahmen der Speiseüberwachung. Arch. für Lebensmittelhyg., 1990; 41: 120-126.
36. Evenson, M.L., Hinds, M.V., Bernstein, R.S., Bergdoll, M.S.: Estimation of human dose of staphylococcal enterotoxin A from a large outbreak of staphylococcal food poisoning involving chocolate milk. Int. J. Food Microbiol., 1988; 7: 311-316.
37. Gilmour, A., Harvey, J.: Staphylococci in milk and milk products. J. Appl. Bacteriol. Symposium Supplement, 1990; 147-166.
38. Polledo, J.J.F., Garcia, M.L., Moreno, B., Menes, I.: Importance of food handlers as a source of enterotoxigenic staphylococci. Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig., 1985; B (181): 364-373.
39. Adesiyun, A.A., Raji, I., Yobe, V.: Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* from anterior nares of dining hall workers. J. Food Prot., 1986; 49: 955-957.
40. Castellani, A.G., Makowski, R., Bradley, W.B.: The inhibiting effect of serine upon the growth of indigenous flora of cream filling. Appl. Microbiol., 1955; 3: 132-135. In: Minor E.T., Marth H.E.: Staphylococci and their significance in foods. Elsevier Scientific Publishing Company, Chapter 12: 235-250, 1976.