



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2010; 24 (1): 11 - 15
http://www.fusabil.org

Kayseri İlinde Satılan Çiğ Sütlerde *Staphylococcus aureus* ve Enterotoksinlerinin Varlığı Üzerine Araştırmalar

Nurhan ERTAŞ
Zafer GÖNÜLALAN

Erciyes Üniversitesi
Veteriner Fakültesi,
Besin Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı,
Kayseri, TÜRKİYE

Bu çalışmada, Kayseri ilinde satışa sunulan çiğ sütlerde bulunan Staphylococcal Enterotoksinlerin (SEs) ELISA testleri ile tespiti ve çiğ sütlerden izole edilen *S.aureus* izolatlarının sahip olduğu enterotoksin genlerinin m-PCR metodu ile belirlenmesi amaçlandı.

Çalışmada, incelenen 100 adet çiğ süt numunesinin 60'ında (%60) *Staphylococcus* spp. üremesi tespit edildi. İncelenen 300 adet izolata yapılan katalaz ve koagülaz testi ile 42'sinin (%14) *S. aureus* olduğu belirlendi. Belirlenen 42 adet *S. aureus* izolatının m-PCR metodu ile incelenmesi sonucunda 31 izolatta (%73.8) enterotoksin genlerinin varlığı tespit edildi. Bu enterotoksinlerin sırasıyla 12'sinin (%38.7) *sea*, 2'sinin (%6.5) *seb*, 5'inin (%16.1) *sec*, 10'unun (%32.3) *sed* ve 2'sinin (%6.5) hem *sea* hem de *sed* gen dağılımına sahip olduğu belirlendi. Belirlenen 42 adet izolata ait çiğ sütlerin ELISA tekniği ile incelenmesi sonucunda ise 28 örnekte (%66.6) SEs varlığı belirlendi. Uygulanan ELISA testleri sonucunda numunelerdeki SEs'lerin sırasıyla 10'unun (%35.7) SEA, 2'sinin (%7.1) SEB, 5'inin (%17.8) SEC, 9'unun (%32.2) SED ve 2'sinin (%7.1) hem SEA hem de SED olduğu tespit edildi. *S. aureus* izole edilmeyen çiğ sütlerde SEs varlığına rastlanmadı.

Bu çalışmada, Kayseri ili ve merkez ilçelerde satışa sunulan çiğ sütlerde *S. aureus* ve enterotoksinlerinin varlığı ortaya konulmuş ve bu toksinlerin halk sağlığı açısından göz ardı edilmemesi gereken bir tehlike oluşturabileceği sonucuna varılmıştır.

Keywords: Çiğ Süt, *S. aureus*, Enterotoksin, ELISA, PCR.

Investigation of The Presence of *S. aureus* and Staphylococcal Enterotoxins in Raw Milk Samples Retailed in Kayseri

The aim of this study was to identify Staphylococcal enterotoxins (SEs) by ELISA in raw milk samples marketed in Kayseri, and to detect *S. aureus* isolates having enterotoxin genes using mPCR method in raw milk samples.

Sixty out of 100 raw milk samples (60%) were identified with *Staphylococcus* spp. 42 out of 300 isolates (14%) studied were identified as *S. aureus* using catalase and coagulase tests. The presence of *Staphylococcal* enterotoxin genes was identified in 31 out of 42 *S. aureus* isolates (73.8%) by using mPCR method. It was determined that these enterotoxins contained 12 (38.7%) *sea*, 2 (6.5%) *seb*, 5 (16.1%) *sec*, 10 (32.3 %) *sed* ve 2 (6.5%) both *sea* and *sed* gene distribution, respectively. The presence of SEs was identified in 28 out of 42 raw milk samples (66.6%) by using ELISA technique. It was determined that these SEs had 10 (35.7%) SEA, 2 (7.1 %) SEB, 5 (17.8 %) SEC, 9 (32.2%) SED ve 2 (7.1%) both SEA and SED distribution, respectively. No SEs was identified in raw milk samples without *S. aureus*.

In this study, the presence of *S. aureus* and their enterotoxins were effective in raw milk retailled in Kayseri and vicinity and it was concluded that these toxins should not be ignored for public health.

Anahtar kelimeler: Raw milk, *S. aureus*, Enterotoxin, ELISA, PCR.

Giriş

Staphylococcus aureus, mikrobiyal kaynaklı besin zehirlenmelerinin etiyolojik ajanı olarak oldukça önemli bir yere sahiptir (1, 2). Bu bakteri, insanlarda besin zehirlenmelerinin yanısıra septisemi, toksik şok sendromu (TSS), otoimmün hasatalıklar ve süt ineklerinde mastitise neden olur (3, 4, 5).

Staphylococcus aureus enterotoksijenik stafilokoklar içerisindeki en önemli türdür. Enterotoksin protein yapıda heterojen bir gruptur (6-9). Besin zehirlenmeleri ile ilişkili olarak beş temel (A, B, C, D, E) enterotoksin bulunmaktadır(1,9,10). Besin zehirlenmesine neden olan en yaygın enterotoksinler tip A ve tip D'dir (1, 9). Son dönemlerde yapılan çalışmalarda SEs yeni tiplerinin (G, H, I, J, K L, M, N ve O) var olduğu bildirilmiştir (1, 3, 11, 12). SEs'lerin hemen hemen tamamı gastroenteritis ve kusmaya neden olur. Ayrıca T

Geliş Tarihi : 01.07.2009
Kabul Tarihi : 22.01.2010

Yazışma Adresi Correspondence

Nurhan ERTAŞ
Erciyes Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Besin Hijyeni ve
Teknolojisi Anabilim Dalı,
Kayseri - TÜRKİYE
nertas@erciyes.edu.tr

hücrelerini stimule etmesinden dolayı süperantijen yeteneğine sahiptir (2,3). Moleküler alışmalar sonucunda SEs'lerin her birinin ayrı ayrı gen bölgeleri tarafından determine edildiği belirtilmiştir (3). SEs'lerin en önemli özelliği ısıya dayanıklı olmalarıdır (13-15). Gıdalardaki enterotoksinler pişirme, pastörizasyon veya diğer ısı uygulamaları ile tamamen inaktive edilememektedir (13,15).

Stafilokok etkenlerine bağlı gıda zehirlenmeleri genellikle 10^6 kob/g veya daha yüksek sayıya ulaşan bakteriler tarafından sentezlenen enterotoksinlerin besinler yolu ile alımı sonucu oluşmaktadır (16,17). Bu nedenle gıda zehirlenmelerinin oluşumunda enterotoksin ihtiva eden besinlerin tüketilmesi önemli rol oynamaktadır (1, 15). Zehirlenmeye neden olan aracı gıdaların ortak özelliği; çoğunlukla bu gıdaların pişirilmiş ya da az pişirilmiş, elle hazırlanmış olmalarıdır (2, 8, 13, 14, 18, 19).

Enzim- Linked Immunosorbent Assay (ELISA) metodu besinlerden SEs'lerin saptanmasında kullanılan yaygın bir metodur (10). Son dönemlerde, enterotoksijenik *S. aureus* identifikasyonu için, Polimerase Chain Reaction (PCR), PCR-ELISA gibi gelişmiş ve hızlı tekniklerden yararlanılmaktadır (9, 20-22). Türk Gıda Kodeksi yönetmeliği gıda maddelerindeki bulaşanların maksimum limitleri hakkındaki 2008/26 nolu tebliğ'de tüm gıda maddelerinde SEs'lerinin bulunmasının gıdanın tüketimine mani bir hal olarak değerlendirilmesi hükmü getirilmiştir (23).

Bu alışmada, Kayseri ili ve çevresinde satışa sunulan çiğ sütlerde bulunan *S. aureus* enterotoksinlerinin ELISA ile tespiti ve çiğ sütlerden izole edilen *S.aureus* izolatlarının sahip olduğu enterotoksin genlerinin mPCR metodu ile belirlenmesi ve çiğ sütün tüketici sağlığı açısından güvenilirliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Numuneler: Çalışmada, Kayseri ili ve çevresindeki farklı satış noktalarından Eylül 2008-Ocak 2009 tarihleri arasında 100 adet 50'şer ml çiğ süt numunesi toplandı. Numuneler, soğuk zincirde laboratuvara getirildi ve bekletmeden incelemeye alındı.

Standart Suş: Çalışmada izolasyon işleminin her aşamasında, *S. aureus* ATCT 29213 (SEA), *S. aureus* NCTC 10652 (SEA, SED), *S. aureus* NCTC 10654 (SEB), *S. aureus* NCTC 10655 (SEC) standart suşları kullanıldı.

Primerler: Çalışmada elde edilen izolatlar beş adet primer (Tablo 1) kullanılarak m-PCR tekniği ile incelendi.

Etken İzolasyonu: *Staphylococcus aureus* izolasyonu amacıyla çiğ süt numuneleri yayma plak yöntemi ile Egg-Yolk Tellurit (Merck 1.03785.0001) içeren Baird Parker Medium (BPM, Oxoid CM275) besiyerine ekildi ve 37° C'de 2 -3 gün inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda BPM'de üreyen *S. aureus*

şüpheli beş adet koloni tekrar BPM besiyerine yayma plak tekniği ile ekilerek 37° C'de 24 saat bekletildi. Üreyen şüpheli koloniler fenotipik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla Brain Heart İnfuzyon Broth (BHI, Acumedia, 7116A) besi yerine inokule edildi ve ekim 37° C'de 24 saat inkübe edildi (12,15).

İzolatların Fenotipik Karakterizasyonu: BHI'da üreyen şüpheli kültürleri Gram boyama, katalaz ve koagülaz testleri uygulandı (24).

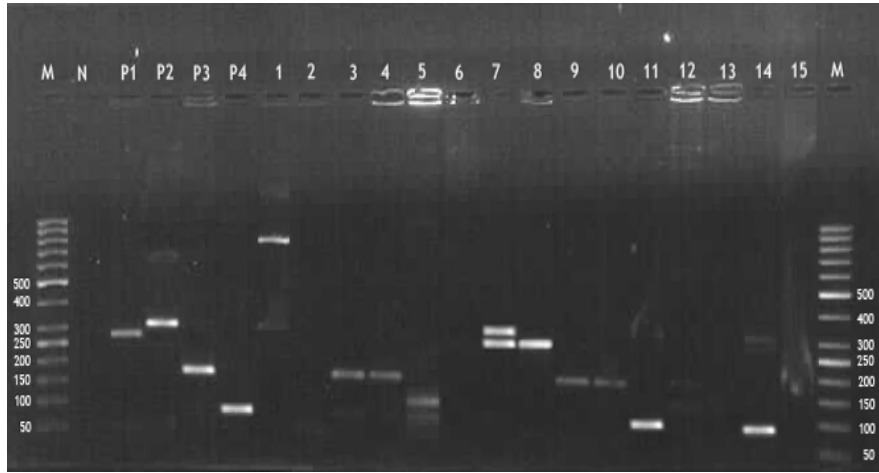
DNA Ekstraksiyonu: Baird Parker Medium besiyerinde üreyen şüpheli kolonilere ait DNA'lar GF-1 Nukleik asit ekstraksiyon kiti (Vivantis, GF-BA-100) kullanılarak ekstrakte edildi.

Multipleks PCR: m-PCR'da primer büyüklüğü 69 ile 306 bp arasında değişen tür spesifik primerler kullanıldı. Reaksiyon karışımı final konsantrasyonu 50 µl olacak şekilde hazırlandı. Reaksiyon karışımı; 2 µl DNA örneği, 5 µl 10x PCR buffer (Vivantis), 4 mM MgCl₂ (Vivantis), 0,2 mM dNTP Mix (Vivantis), 20-30 pmol SA-U, SA-A, SA-B, SA-C/ENT-C ve SA-D primerleri, 1 U Taq polimerase (Vivantis) olacak şekilde hazırlandı (9). Reaksiyon PCR cihazında (Thermo) 35 siklus olacak şekilde 94°C'de 30 s, 50°C'de 30 s ve 72°C'de 30 s, son ekstansiyon 72°C'de 2 dk olarak gerçekleştirildi. Amplifikasyon sonucunda elde edilen PCR ürünleri % 1,5'lik agaroz jelde 90 V gerilimde 45 d elektroforez (Thermo EC330) işlemine tabi tutulduktan sonra, UVP jel dökümantasyon sistemi (Vilber Laurmat ECX-20-M) kullanılarak görüntülendi (9).

Enzim- Linked Immunosorbent Assay (ELISA): Toplanan örneklerde, *Staphylococcus aureus* enterotoksinlerinin (SET A,B,C,D,E) varlığı Ridascreen® SET A,B,C,D,E (r-biopharm, Germany, Art.no:R1101) kiti kullanılarak Enzim-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) metodu ile belirlendi (25).

Bulgular

Çalışmada, incelenen 100 adet çiğ süt numunesinin 60'ında (%60) *Staphylococcus* spp. üremesi tespit edildi. İncelenen 300 adet izolata yapılan katalaz ve koagülaz testi ile 42'sinin (%14) *S. aureus* olduğu belirlendi. Bu izolatlardaki enterotoksin genleri (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*) m-PCR ile saptandı (Tablo 2). Belirlenen 42 adet *S. aureus* izolatının m-PCR metodu ile incelenmesi sonucunda 31 izolatta (%73.8) enterotoksin genlerinin varlığı tespit edildi. Bu SEs'lerin sırasıyla 12'sinin (%38.7) *sea*, 2'sinin (%6.5) *seb*, 5'inin (%16.1) *sec*, 10' unun (%32.3) *sed* ve 2'sinin (%6.5) hem *sea* hem de *sed* gen dağılımına sahip olduğu belirlendi (Resim 1). Belirlenen 42 adet izolata ait çiğ sütlerin ELISA testleri ile incelenmesi sonucunda ise 28 örnekte (%66.6) SEs varlığı belirlendi. ELISA yöntemi ile yapılan analizler sonucunda numunelerdeki SEs'lerin sırasıyla; 10'unun (%35.7) SEA, 2'sinin (%7.1) SEB, 5'inin (%17.8) SEC, 9'unun (%32.2) SED ve 2'sinin (%7.1) hem SEA hem de SED olduğu tespit edildi (Tablo 3). *S. aureus* izole edilmeyen çiğ sütlerde yapılan analizler sonucunda SEs varlığına rastlanmadı.



Şekil 1. Çiğ sütlerden *S.aureus* enterotoksin genlerinin mPCR ile identifikasyonu **M:** Marker (50 bp), **N:** Negatif Kontrol (steril distile su), **P1:** Pozitif kontrol (Enterotoksin A: ATCC 29231), **P2:** Pozitif kontrol (Enterotoksin D: NCTC 10652), **P3:** Pozitif Kontrol (Enterotoksin B: NCTC 10654), **P4:** Pozitif Kontrol (Enterotoksin C: NCTC 10655), **1 Nolu band:** *S.aureus* enterotoksin D (306bp,790 bp) **2 Nolu band:** Enterotoksin varlığına işaret eden herhangi bir band oluşumu gözlemlenmedi **3-4 Nolu bandlar:** *S.aureus* enterotoksin B (165 bp), **5 Nolu band :** *S. aureus* enterotoksin C (69 pb), **6 Nolu band :** Enterotoksin varlığına işaret eden herhangi bir band oluşumu gözlemlenmedi **7 Nolu Band :** *S. aureus* enterotoksin A (270 bp), *S. aureus* enterotoksin D (306 bp), **8 Nolu Band :** *S. aureus* enterotoksin A, **9-10 Nolu bandlar :** *S. aureus* enterotoksin B, **11 Nolu Band :** *S. aureus* enterotoksin C, **14 Nolu band :** *S. aureus* enterotoksin C. **15 Nolu band :** Enterotoksin varlığına işaret eden herhangi bir band oluşumu gözlemlenmedi

Tablo 1. Çalışmada Kullanılan Primerler

Primer Adı ve Büyüklüğü (nt ^a)	Primer Dizilimi	Gen Lokasyonu	PCR Ürün Büyüklüğü (bp)	Kaynak
SA-U (20) F	5'-TGTATGTATGGAGGTGTAAC3'	-	-	Sharma ve ark 2000
SA-A (18) R	5'-ATTAACCGAAGTTCTGT-3'	639-657	270	Sharma ve ark 2000
SA-B (18) R	5'-ATAGTGACGAGTTAGGTA-3'	564-582	165	Sharma ve ark 2000
SA-C (20) R	5' – AAGTACATTTTGTAAGTTCC-3'	457-477	69	Sharma ve ark 2000
ENT-C (25)R	5'-AATTGTGTTTCTTTATTTTCATAA-3'	485-510	102	Sharma ve ark 2000
SA-D (20) R	5'- TTCGGGAAAATCACCCCTAA-3'	676-696	306	Sharma ve ark 2000

Tablo 2. Çiğ sütlerden izole edilen *S. aureus* ve SEs Prevalansı

Numune	N	İzole edilen <i>Staph. spp</i>	Tespit edilen <i>S. aureus</i> izolatu	<i>S. aureus</i> enterotoksin varlığı	
				mPCR	ELISA
Çiğ Süt	100	60 (% 60)	42 (%14)	31 (%73.8)	28 (%66.6)

Tablo 3. Çiğ süt numunelerinde mPCR ve ELISA ile belirlenen SEs'lerin dağılımı

SEs	SEs pozitif numune sayısı;			
	mPCR	%	ELISA	%
SEA	12	38.7	10	35.7
SEB	2	6.5	2	7.1
SEC	5	16.1	5	17.8
SED	10	32.3	9	32.2
SEA-SED	2	6.5	2	7.1
Total	31	73.8	28	66.6

Ayrıca bu çalışmada 1 Nolu örnek için kullanılan primerlerin, iki farklı base pair (*S.aureus* enterotoksin D 306bp, 790 bp) büyüklüğünde bandlar oluşturduğu daha önceki araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (9).

Tartışma

Staphylococcus aureus'un gıdalara bulaşması genel olarak insanlar, hayvanlar ve ekipmanlar aracılığı ile gerçekleşir. *S.aureus* insanların el ve üst solunum yollarında bulunabilmekte, süt ve süt ürünlerine bu yolla bulaşabilmektedir (18, 26).

Çalışmada, incelen 100 adet çiğ süt numunesinin 42'sinden *S. aureus* izole edildi. Yapılan mPCR reaksiyonu sonucunda 42 adet *S. aureus* izolatının 31'inde enterotoksin genlerinin ve bu izolatlara ait çiğ sütlerin 28'inde ELISA testleri ile SEs varlığı tespit edildi (Tablo 2). Bu izolatların sırasıyla 12'sinin *sea*, 2'sinin *seb*, 5'inin *sec*, 10'unun *sed* ve 2'sinin hem *sea* hem de *sed* enterotoksin genlerini taşıdığı belirlendi (Şekil 1). Bu izolatların elde edildiği çiğ süt numunelerine uygulanan ELISA testleri sonucunda 10'unun SEA, 2'sinin SEB, 5'inin SEC, 9'unun SED ve 2 tanesinin hem SEA hem de SED SEs'lerini içerdiği belirlendi (Tablo 3). *S. aureus* izole edilmeyen çiğ sütlerde yapılan analizler sonucunda SEs varlığına rastlanmadı.

Çalışmamızda, *sea* gen bölgesi taşıyan 2 ve *sed* gen bölgesi taşıyan 1 izolata ait çiğ süt numunelerine yapılan ELISA testleri sonucunda herhangi bir SEs varlığına rastlanmadı. Bu durum enterotoksijenik *S. aureus*'ların ilgili gen bölgelerine sahip olmalarına rağmen süte enterotoksin salgılamayabileceği sonucunu düşündürmektedir.

Küplülü ve ark (27) 250 adet pastörize süt numunesinin 2'sinde SEA enterotoksini saptamışlardır. Bu çalışmada 100 adet çiğ süt numunesinden 28'inde SEs'leri belirlendi. Çalışmada, enterotoksin tespit edilen süt sayısının yüksek çıkmasının nedeni incelenen süt numunelerinin çiğ olmasına bağlanabilir. Boynukara ve ark (28), 408 süt numunesinden elde ettikleri 106 *S. aureus* suşunun 27 tanesinin enterotoksijenik olduğunu belirtmişlerdir. Reverse Passive Latex Agglutination

(RPLA) testi ile 25 (%23.6) suşun SEA, 2 (%1.9) suşun ise SEB yönünden pozitif olduğunu bildirmişlerdir. Umoh ve ark (29) inceledikleri 42 çiğ süt örneğinin 13'ünden (%31) enterotoksijenik *S. aureus* izole etmişlerdir. İzolatların 5'inin SEA, 3'ünün SED SEs'lerini ürettiğini bildirmişlerdir.

Çiğ sütlerde enterotoksin genlerinin varlığının tespiti amacı ile Tkacikova ve ark (21) 75 çiğ süt örneğinin 32'sinden *S. aureus* izole etmişlerdir. İzolatlara yapılan mPCR sonucunda 32 izolatın 15'inden *sec*, 15'inden *sed* ve 2'sinden *sea* ve *seb* genlerinin varlığını tespit etmişlerdir. Adwan ve ark (14) inceledikleri 250 çiğ süt numunesinin 100'ünden *S. aureus* izole etmişlerdir. Araştırmacılar 100 adet *S. aureus* izolatının 4'ünde *sea*, 20'sinde *seb*, 4'ünde *sec*, 6'sında *sed*, 3'ünde *see* geninin varlığını bildirmişlerdir. Tkacikova ve ark (21) ve Adwan ve ark (14) tarafından yapılan araştırmalar SEs tipleri açısından bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir.

Sonuç olarak, Kayseri ili ve çevresinde satışa sunulan çiğ sütlerin, *S. aureus* ve SEs bakımından % 60'nın Türk Gıda Kodeksi yönetmeliği gıda maddelerindeki bulaşanların maksimum limitleri hakkındaki 2008/26 nolu tebliğine uygun olmadığı ve dolayısı ile halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği sonucuna varılmıştır. Yetersiz hijyenik koşullar nedeni ile sütler *S. aureus* ile kontamine olmaktadır. Tüm dünyada önemli bir hayvansal gıda olan süt, Türkiye'de genellikle çiğ olarak satışa sunulmaktadır. Çiğ sütlerde hızla üreyen *S. aureus*'ların ürettikleri enterotoksinler sütün kalitesini ve hijyenini önemli ölçüde etkilemektedir. SEs ihtiva eden sütlerin kaynatılması veya pastörize edilmesi, sütteki enterotoksinlerin ortadan kaldırılmasında yeteri kadar etkili değildir. Bu nedenle tüketici sağlığı açısından HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point) sisteminin uygulanması önemlidir. Bütün bu bilgiler ışığında, hayvan sağlığından başlayarak sağımda kullanılan araç ve gereçlerin, sağımdan sonra kullanılan saklama ve taşıma kaplarının temizliğine dikkat edilerek sütte *S. aureus* üremesi ve enterotoksin varlığı kontrol altına alınabilir ya da en aza indirilebilir.

Kaynaklar

- Rosec JP, Guiraud JP, Dalet J, Richard N. Enterotoxin production by *Staphylococci* isolated from foods in France. Food Microbiol 1997; 35: 213-221.
- Orwin PM, Fitzgerald JR, Leung DYM, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* enterotoxin L. Infection and Immunity 2003; 71(5): 2916-2919.
- Omoe K, Imanishi K, Hu D, et al. Biological properties of *Staphylococcal* enterotoxin-like toxin type R. Infection and Immunity 2004; 72(6): 3664-3667.
- Hata E, Katsuda K, Kobayashi H, et al. Bacteriological characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from humans and bulk milk. J Dairy Sci 2008; 91: 564-569.
- Stevens DL, Ma Y, Salmi DB, et al. Impact of antibiotics on expression of virulence-associated exotoxin genes in methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Infect Dis 2007; 195(15): 202-211.
- Gran HM, Wetlesen A, Mutukumira AN, Rukure G, Narvhus CA. Occurrence of pathogenic bacteria in raw milk, cultured pasteurized milk and naturally soured milk produced at small-scale dairies in Zimbabwe. Food Control 2003; 14: 539-544.
- Ünlütürk A, Turantaş F. Gıda güvenliği, mikrobiyolojik kriterler ve hızlı mikrobiyolojik yöntemler. İzmir: Mengi Tan Basımevi, 1999; 20, 289-294.
- Soejima T, Nagao E, Kubota T, Yamagata H, Kagi H. Comparison between ultrafiltration and trichloroacetic acid precipitation method for concentration of *Staphylococcus*

- aureus* enterotoxin in dairy samples. Int J Food Microbiol 2004; 93: 185-194.
9. Sharma NK, Rees CED, Dodd CER. Development of a Single-Reaction multiplex PCR toxin typing assay for *Staphylococcus aureus* strains. App Env Microbiol 2000; 66(4):1347-1353.
 10. Strachan NJC, John PG, Milliar IG. Application of a rapid automated immunosensor for the detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxin B in cream. Int J Food Microbiol 1997; 35: 293-297.
 11. Omoe K, Ishikawa M, Shimoda Y, et al. Detection of seg, seh, and sei genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *S. aureus* isolates harboring seg, seh, or sei genes. J Clin Microbiol, 2002; 40: 857-862.
 12. Scherrer D, Corti S, Muehlherr JE, Zweifel C, Stephan R. Phenotypic and genotypic characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from raw bulk-tank milk samples of goats and sheep. Vet Microbiol 2004; 101: 101-107.
 13. Jay JM. *Staphylococcal* gastroenteritis, In: Modern Food Microbiology. 4th Edition, New York: Avi Book, 1992; 455-471.
 14. Adwan G, Abu-Shanab B, Adwan K. Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in raw milk in the North of Palestina. Türk J Biol 2005; 29: 229-232.
 15. Rall VLM, Vieira FP, Rall R, et al. PCR detection of *Staphylococcal* enterotoxin genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw and pasteurized milk. Vet Microbiol 2008; 132: 408-413.
 16. Erol İ, İşeri Ö. *Staphylococcal* Enterotoksinler AÜ Vet Fak Derg 2004; 51: 239-245.
 17. Sutherland J, Varnam A. Enterotoxin-producing *Staphylococcus*, *Shigella*, *Yersinia* *Vibrio*, *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In: Blacburn CW, McClure J. (Editors). Foodborne Pathogens, Hazard, Risk Analysis and Control. Washington DC: CRC Press, 2002; 384-415.
 18. Normanno G, Firinu A, Virgilio S, et al. Coagulase-positive *Staphylococci* and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. J Food Microbiol, 2005; 98: 73-79.
 19. Lindqvist R, Sylven S, Vagsholm I. Quantitative microbial risk assessment exemplified by *Staphylococcus aureus* in unripened cheese made from raw milk. Int J Food Microbiol 2002; 78: 155-170.
 20. Cremonesi P, Vimercati C, Pisoni G, et al. Identification of enterotoxin genes in *Staphylococcus aureus* isolates from bovine and caprine milk. Vet Res Commun 2006; 30(1): 241-243.
 21. Tkacikova L, Tesfaye A, Mikula I. Detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxin by PCR. Acta Vet 2003; 72: 627-630.
 22. Gilligan K, Shipley M, Stiles B, Hadfield TL, Sofi IM. Identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxins A and B genes by PCR-ELISA. Molecular and cellular probes 2000; 14: 71-78.
 23. Anon. Gıda maddelerinde belirli bulaşanların maksimum seviyelerinin belirlenmesi hakkında tebliğ. Tebliğ No: 2008/26.
 24. Vargun F, Vatanserver L. Isolation of *Staphylococci* from milk and cream sold at the Kars market and detection of their enterotoxigenicity. Medycyna Wet 2007; 63(5): 538-540.
 25. Anon. Ridascreen SET A,B,C,D,E Enzym Immunoassay for the detection of *Staphylococcus* enterotoxins. R-biopharm, 2008; Art No: R4101.
 26. da Silva ER, Boechat JUD, da Silva N. Coagulase gene polymorphism of *Staphylococcus aureus* isolated from goat mastitis in Brazilian dairy herds. Let Appl Microbiol 2005; 42: 30-34.
 27. Küplülü Ö, Sarımehtemetoğlu B, Kaymaz Ş. Pastörize sütlerde ELISA tekniği ile *Stafilokokal* enterotoksin varlığının belirlenmesi. Türk Vet Anim Sci 2002; 26: 631-637.
 28. Boynukara B, Gulhan T, Alişarlı M, Gurturk K, Solmaz H. Classical enterotoxigenic characteristic of *Staphylococcus aureus* strain isolated from bovine subclinical mastitis in Van, Turkey. Int J Food Microbiol 2008; 125: 209-211.
 29. Umoh VJ, Adesiyun AA, Comwalk NE. Enterotoxigenicity of *Staphylococci* isolated from raw milk obtained from settled and nomadic herds around Zaria, Nigeria, Revue Med Vet 1990;43(1):43-47.