

***Staphylococcus aureus* un enterotoksīnus veidojošie celmi tirgos realizācijā esošajā pienā un piena produktos Latvijā**

The Prevalence of Enterotoxigenic *Staphylococcus Aureus* Strains in Milk and Milk Products on Latvian Market

Rafaels Joffe

Pārtikas un veterinārā dienesta Nacionālais diagnostikas centrs, e-pasts: rafaels.joffe@ndc.gov.lv
The National Diagnostic Centre of Food and Veterinary Service, e-mail: rafaels.joffe@ndc.gov.lv

Edīte Birģele

LLU Veterinārmedicīnas fakultātes Preklīnikas institūts, e-pasts Edite.Birģele@llu.lv
Preclinical Institute of the Faculty of Veterinary Medicine, LLU, e-mail: Edite.Birģele@llu.lv

Abstract. *Staphylococcus aureus* is well-known as a one of the most important causative agents of food poisoning, especially in milk and milk products. However, most of the staphylococcal strains are enterotoxigenic. The paper presents the results of the investigations: prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in milk products marketed in Latvia, and possible relationship with milk from cows having mastitis and contamination of milk products with enterotoxigenic *Staphylococcus aureus*. It was found that 15.2% of *S.aureus* isolates from milk products can produce enterotoxins. Enterotoxigenic *S.aureus* is most common in cottage cheese (29.4%) and sour cream (11.3%). *S.aureus* is most common in Zemgale region (50.0%), but enterotoxigenic strains prevail in Vidzeme (27.0%) and Zemgale region (21.4 %), less they are found in Latgale (11.4 %) and Kurzeme (6.9%). The enterotoxin A (SEA) (43.0%), SEC (33%) and SEB (14.0 %) producing *S.aureus* are strains isolated from milk products marketed in Latvia.

Key words: *Staphylococcus aureus*, enterotoxins.

Ievads

Pasaules zinātniskajā literatūrā pieejams ne mazums datu par piena produktu kontamināciju ar stafilokoku enterotoksīniem. Lai arī dati par enterotoksīnus veidojošo *S.aureus* sastopamību piena produktos dažādās valstīs ir visai atšķirīgi, globāli tie rāda, ka visai bieži pārtikas toksikoinfekcijas izraisa piena produkti, kas kontaminēti ar enterotoksīnus veidojošiem stafilokokiem. Vairāku autoru darbos publicēti pētījumi par noteiktu piena produktu kvalitāti, kas tradicionāli tiek gatavoti noteiktā valsts reģionā un nelielā apjomā, kā izejvielu izmantojot atsevišķās saimniecībās iegūto pienu. Tā, Itālijā, veicot Boloņas apgabālā pārdošanā esošo dažādu siera šķirņu analīzes, siltākajos gada mēnešos konstatēja *S.aureus* prevalenci, turklāt 55.5% visu izdalīto koagulāzes pozitīvo stafilokoku spēja veidot vienu vai vairākus enterotoksīnu serotipus (De Luca et al., 1997; Normanno et al., 2005). Slovākijas zinātnieki pierādījuši, ka enterotoksīnus veido 39.2% no piena produktiem izdalīto *S.aureus* celmu (Holečkova et al., 2002).

Jāatzīmē, ka piena produktu kontaminācija ar enterotoksīnus veidojošiem stafilokokiem lielā mērā ir saistīta ar mastītu slimo govju pienu. Lielbritānijā aprakstīti saslimšanas gadījumi, ko bija izraisījis no mastīta slimo aitu piena gatavots siers (Adams, Moss,

1995). Enterotoksīnus veidojošo stafilokoku sastopamība ar mastītu slimo govju pienā uzsvērtā daudzu pasaules zinātnieku publikācijās (Adesiyun, 1995; Katsuda et al., 2005; Zschock et al., 2005). Ņemot vērā piena produktu ražošanas un aprites tradīcijas Latvijā un to, ka Latvijas tirgos tiek realizēts atsevišķās saimniecībās iegūts nepasterizēts piens un no tā gatavotie piena produkti, mūsu **darba mērķis** bija izpētīt enterotoksīnus veidojošo *S.aureus* celmu īpatsvaru Latvijas tirgos realizācijā esošajos piena produktos un noskaidrot iespējamo enterotoksīnus veidojošo stafilokoku izcelsmes saistību ar mastītu slimo govju pienu Latvijā.

Materiāls un metodes

Kopumā analizēti 313 piena, krējuma un biežpiena paraugi, kas iegūti Kurzemes, Zemgales, Vidzemes un Latgales reģionu tirgos un atklātajās tirdzniecības vietās. *S.aureus* noteicām ar starptautiski atzītu un zinātniski pamatotu metodi „LVS EN ISO 6888-1:1999”, izmantojot selektīvu barotni Baird-Parker agaru un trušu asins plazmu koagulāzes pierādīšanai. Lai veiktu izdalīto plazmu koagulējošo stafilokoku identifikāciju, izvēlējāmies speciālus biokīmisko īpašību pārbaudes testus „API-Staph” (20500, BioMérieux, France), kas ļāva precīzi noteikt izdalītā celma piederību *S.aureus*.

Lai pierādītu enterotoksīnus veidojošos *S.aureus* celmus, izmantojām vienu no jaunākajām, pasaulē atzītajām metodēm – ar enzīmu saistītās imunofluorescences metodi (ELFA jeb ‘enzyme linked fluorescence assay’) (Pimbley, Patel, 1998), kas ir vispārzināma un atzīta metode stafilokoku enterotoksīnu noteikšanai. Stafilokoku enterotoksīnu klātbūtne izmeklējamā paraugā tika pierādīta, izmantojot Francijas firmas „BioMérieux” analizatoru „miniVIDAS” un speciālus enterotoksīnu noteikšanas testus „VIDAS Staph enterotoxin SET” (30701, BioMérieux, France).

Ar enzīmu saistītās imunofluorescences metodi izmantojām, lai identificētu enterotoksīnus veidojošos *S.aureus* celmus, jo tai ir augsta jutības pakāpe un specifiskums (ar tās palīdzību var noteikt enterotoksīnu serotipu A, B, C un D klātbūtni) (Pimbley, Patel, 1998). Lai nodrošinātu veikto analīžu ticamību, kontrolei izmantojām testu komplektācijā iekļautos enterotoksīnu standartšķīdumus. Šādu kvalitātes kontroli atkārtojām ik pēc 14 dienām. Precīzi noskaidrojot, tieši kuri no izdalītajiem *S.aureus* celmiem spēj veidot enterotoksīnus, mūsu turpmākais uzdevums bija noteikt, kādus enterotoksīnu serotipus veido konkrētie *S.aureus* celmi.

Enterotoksīnu serotipēšanai lietojām t.s. reversās pasīvās lateksa aglutinācijas metodi, izmantojot „SET-RPLA *Staphylococcus enterotoxin A, B, C, D detection kit*” (TD 9000, Oxoid, U.K., 1996) testus. Analīžu ticamības pārbaudei izmantojām testu komplektācijā esošos enterotoksīnu A, B, C un D standartšķīdumus. Šādas kvalitātes pārbaudes veicām katru reizi, kad analizējām pētāmos paraugus. Reversās pasīvās lateksa aglutinācijas metode ir starptautiski atzīta metode enterotoksīnu serotipēšanai. Tā izstrādāta, balstoties

uz imunoloģisko reakciju principiem, t.i., antigēnu (enterotoksīnu) saistību ar specifiskām antivielām, precīzi nosakot enterotoksīnu serotipus A (SEA), SEB, SEC un SED (Bankes, Rose, 1989). Pierādīts, ka šīs metodes jutība ir ekvivalenta ar enzīmu saistītās imunofluorescences metodes jutībai (Bankes, Rose, 1989). Līdz ar to, izmantojot šos testus, mums izdevās noteikt, kādus enterotoksīnus spēj veidot izdalītie *S.aureus* celmi un raksturot noteiktu enterotoksīnu serotipu veidojošo *S.aureus* populāciju Latvijas teritorijā.

Dati statistiski apstrādāti, izmantojot Pīrsona kritēriju un Krāmiera V koeficientu (Arhipova, Bāliņa, 2003; Paura, Arhipova, 2002).

Rezultāti un diskusija

Staphylococcus aureus un enterotoksīnus veidojošo celmu pētījumu rezultāti apkopoti 1. tabulā un 1. attēlā.

Redzams, ka no 313 analizētajiem piena produktu paraugiem *S.aureus* konstatēts 138 paraugos, t.i., 44.1% gadījumu. Biežāk *S.aureus* konstatējām krējuma paraugos – 54.6% gadījumu. Nedaudz mazāk tos izdalījām no nepasterizēta piena, t.i., 51 no 116 testētajiem paraugiem jeb 43.9% gadījumu, kā arī no biezpiena paraugiem – attiecīgi 34.0% gadījumu.

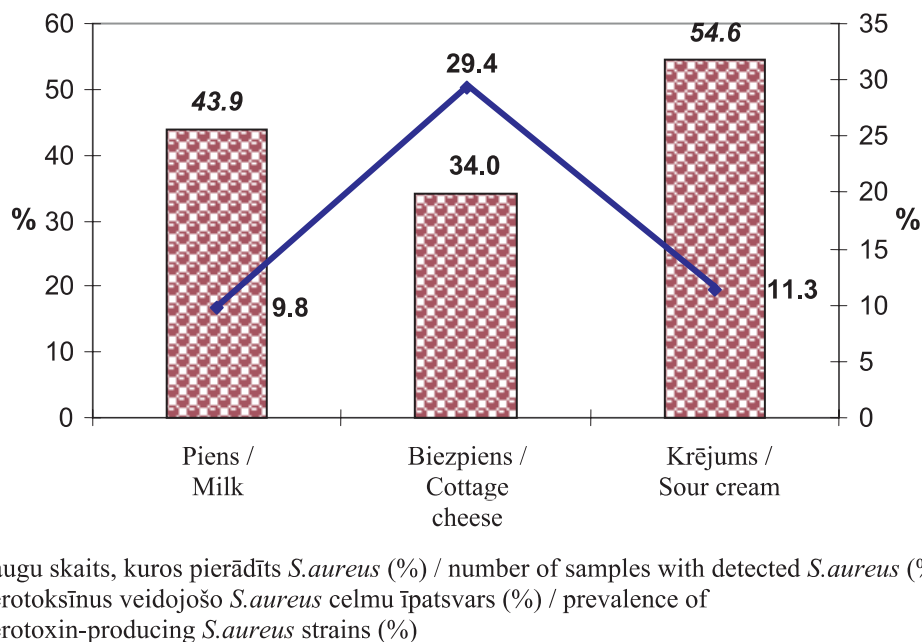
Tālāk, mērķtiecīgi analizējot izdalītās *S.aureus* kultūras, atklājām, ka no 138 *S.aureus* celmiem 21 (15.2%) spēj veidot enterotoksīnus. Aplūkojot datus par enterotoksīnus veidojošo *S.aureus* celmu sastopamību noteiktos produktos, redzams, ka visvairāk šos celmus nākas izdalīt no biezpiena – 29.4 % gadījumu –, bet ievērojami mazāk no krējuma un piena – attiecīgi 11.3% un 9.8% gadījumu (skat. 1. tabulu un 2. attēlu).

1. tabula / Table 1

Staphylococcus aureus un enterotoksīnus veidojošie celmi Latvijas tirgū realizācijā esošajā pienā un piena produktos

The prevalence of *Staphylococcus aureus* and enterotoxin-producing strains in milk and

Nosaukums / Name	Analizēto paraugu skaits / Number of analysed samples	Paraugu skaits, kuros pierādīts <i>S.aureus</i> / Number of samples with detected <i>S.aureus</i>		Paraugu skaits, kuros pierādīti enterotoksīnus veidojošie <i>S.aureus</i> celmi / Number of samples with detected enterotoxin- producing <i>S.aureus</i> strains	
		skaits / number	%	skaits / number	%
Piens / Raw milk	116	51	43.9	5	9.8
Biezpiens / Cottage cheese	100	34	34.0	10	29.4
Krējums / Sour cream	97	53	54.6	6	11.3
Piens un piena produkti kopā / Milk and milk products, total	313	138	44.1	21	15.2



1. att. *Staphylococcus aureus* un enterotoksīnus veidojošo celmu īpatsvars Latvijas tirgū realizētajā pienā un piena produktos.

Fig. 1. The prevalence of *Staphylococcus aureus* and enterotoxin-producing strains in milk and milk products marketed in Latvia.

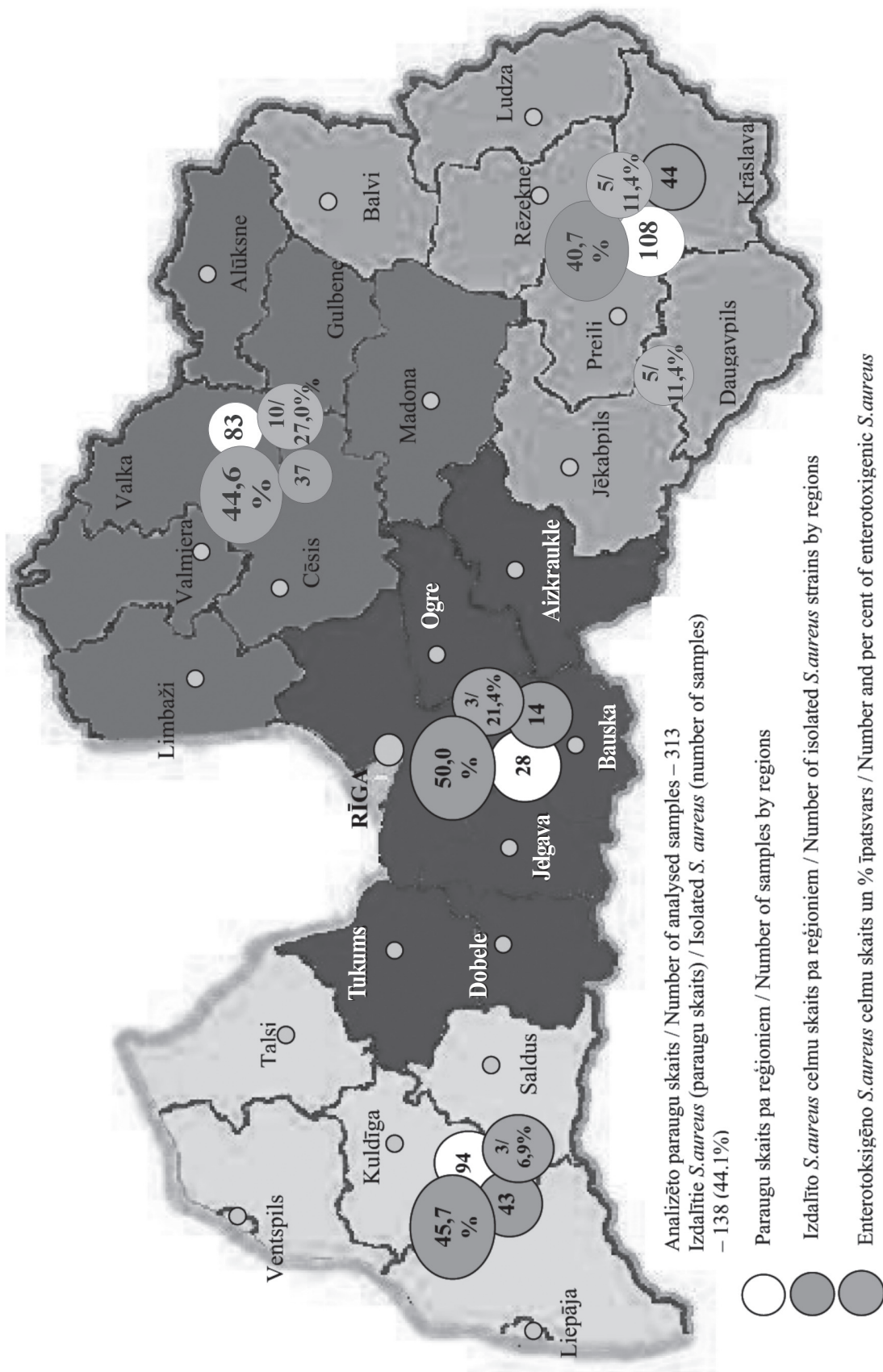
Zinot, ka enterotoksīnus veidojošo *S. aureus* celmu izcelsme var būt saistīta ar govju tesmeņa iekaisumu (Holeckova et al., 2002), zināmā mērā var uzskatīt, ka enterotoksīnus veidojošo *S. aureus* īpatsvars pienā ir visai zems. Var pieņemt, ka tirgū realizācijā nonākušais piens ir jau termizēts, kas daļēji samazina sākotnējo baktēriju koncentrāciju pienā. Tomēr, ja analizē *S. aureus* gadījumu skaitu piena paraugos, tas ir visai augsts – 43.9% gadījumu. Jāņem vērā fakts, ka konkrētā saimniecība pārdod koppienu, kas iegūts no vairākām govīm, tādēļ nākotnē būtu stingri jāanalizē konkrētas saimniecības sanitārhygiēniskais stāvoklis un subklīniskā mastīta izplatība.

Kas attiecas uz *S. aureus* enterotoksīnu klātbūtni biezpiena un krējuma paraugos, redzams, ka to daudzums ir salīdzinoši lielāks nekā pienā (skat. 1. tabulu un 1. att.). Zināms, ka biezpiens un krējums ir piena tauku un proteīna koncentrāts, līdz ar to šajos produktos to gatavošanas procesā piens tiek koncentrēts kopā ar visām tajā esošajām baktērijām, kas noved pie enterotoksīnus veidojošo stafilokoku īpatsvara pieauguma šajos produktos. Ja rūpnieciskā procesa laikā lielākā daļa baktēriju šūnu tiek atdalītas ar separatoru un centrifūgu palīdzību, tad individuālajās saimniecībās gatavotajos piena produktos šīs tehnoloģijas pārsvarā netiek izmantotas. Kā zināms, stafilokoki ir rezistenti pret izžūšanu, tādēļ nepietiekami tīri trauki var būt papildus piena produktu kontaminācijas avots to

izgatavošanas procesā (Sinell, 1980; Halpin-Dohnalek, Marth, 1989; Miwa et al., 2001). Personāla hygiēnas nozīme pārtikas produktu gatavošanas laikā ir būtiska sevišķi tad, kad tiek izmantots roku darbs, kā tas ir biezpiena ražošanas procesā individuālajās saimniecībās. Jāatzīmē, ka stafilokoki ir izturīgi pret termisko apstrādi zemākās temperatūrās (< 55 °C) (Adams, Moss, 1995). Ja ieraudzētā piena uzkaršēšana biezpiena gatavošanas procesā nav pietiekama, lai iznīcinātu tajā esošās baktērijas, turklāt piena sākotnējā mikrobioloģiskā piesārņojuma līmenis ir bijis augsts, palielinās arī iespēja biežāk izdalīt stafilokokus un enterotoksīnus veidojošos celmus. Tātad varam secināt, ka tirgos realizācijā esošo piena produktu kvalitāti nosaka gan izejvielas kvalitāte, gan produktu gatavošanas process, gan arī uzglabāšanas un realizācijas apstākļi.

Analizējot iegūtos rezultātus, kas rāda *S. aureus* enterotoksīnu klātbūtni piena un piena produktu paraugos, mēs noskaidrojām enterotoksīnus veidojošo *S. aureus* celmu izplatību Latvijas reģionos (skat. 2. tabulu).

Izrādījās, ka *S. aureus*, t.sk. enterotoksīnus veidojošie *S. aureus* celmi, ir sastopami visos Latvijas reģionos, bet ne vienādā daudzumā (skat. 2. tabulu un 2. attēlu). Potenciāli visbiežāk ar *S. aureus* būtu jāreķinās Zemgales reģionā, jo tieši no Zemgales reģionā iegūtajiem piena produktu paraugiem kopumā *S. aureus*



2. att. Enterotoksigēno *S. aureus* celmu izplatība ar masfītu slimojošo govju pienā Latvijas teritorijā.
 Fig. 2. Prevalence of enterotoxigenic *S. aureus* isolated from bovine mastitis milk in Latvia.

***Staphylococcus aureus* un enterotoksīnus veidojošie celmi Latvijas tirgū realizācijā esošajā pienā un piena produktos**
The prevalence of *Staphylococcus aureus* and enterotoxin-producing strains isolated from milk and milk products marketed in Latvia

Reģions / Region	Analizēto paraugu skaits / Number of analysed samples	Paraugu skaits, kuros pierādīts <i>S.aureus</i> / Number of samples with detected <i>S.aureus</i>		Enterotoksīnus veidojošo celmu skaits / Number of enterotoxin-producing strains	
		skaits / number	%	skaits / number	%
Kurzeme	94	43	45.7	3	6.9
Zemgale	28	14	50.0	3	21.4
Vidzeme	83	37	44.6	10	27.0
Latgale	108	44	40.7	5	11.4
Kopā /Total	313	138	44.1	21	15.2

tika izdalīti visvairāk – 14 no 28 paraugiem jeb 50.0% gadījumu. Kas attiecas uz Zemgales reģionā konstatēto enterotoksīnus veidojošo *S.aureus* celmu skaitu, tad no 14 izdalītajām *S.aureus* kultūrām 3 kultūras (jeb 21.4% gadījumu) veidoja enterotoksīnus. Vidzemes un Latgales reģionā *S.aureus* celmu, kuri producē enterotoksīnus, īpatsvars piena produktos ir salīdzinoši zemāks – attiecīgi 27.0% un 11.4%. Kas attiecas uz Kurzemes reģionu, *S.aureus* īpatsvars, kas producē enterotoksīnus, ir 6.9% no visām izdalītajām kultūrām.

Tātad varam secināt, ka Latvijas tirgos realizācijā esošajā pienā un piena produktos *S.aureus* celmi sastopami 40–50% gadījumu (skat. 2. tabulu). Bet mūsu pētījumos diferencēto A, B, C un D enterotoksīnus producējošo *S.aureus* celmu skaits nav tieši proporcionāls tam paraugu skaitam, kuros ir pierādīts *S.aureus* (skat. 3. attēlu). Piemēram, no 45.7% Kurzemes reģionā konstatēto *S.aureus* celmu skaita tikai 6.9% gadījumu ir izdalīti *S.aureus* celmi, kas producē A, B, C un D enterotoksīnus. Bet attiecīgi Vidzemes reģionā no 44.6% konstatēto *S.aureus* skaita enterotoksīnus veidojošie celmi ir izdalīti 27.0% gadījumu.

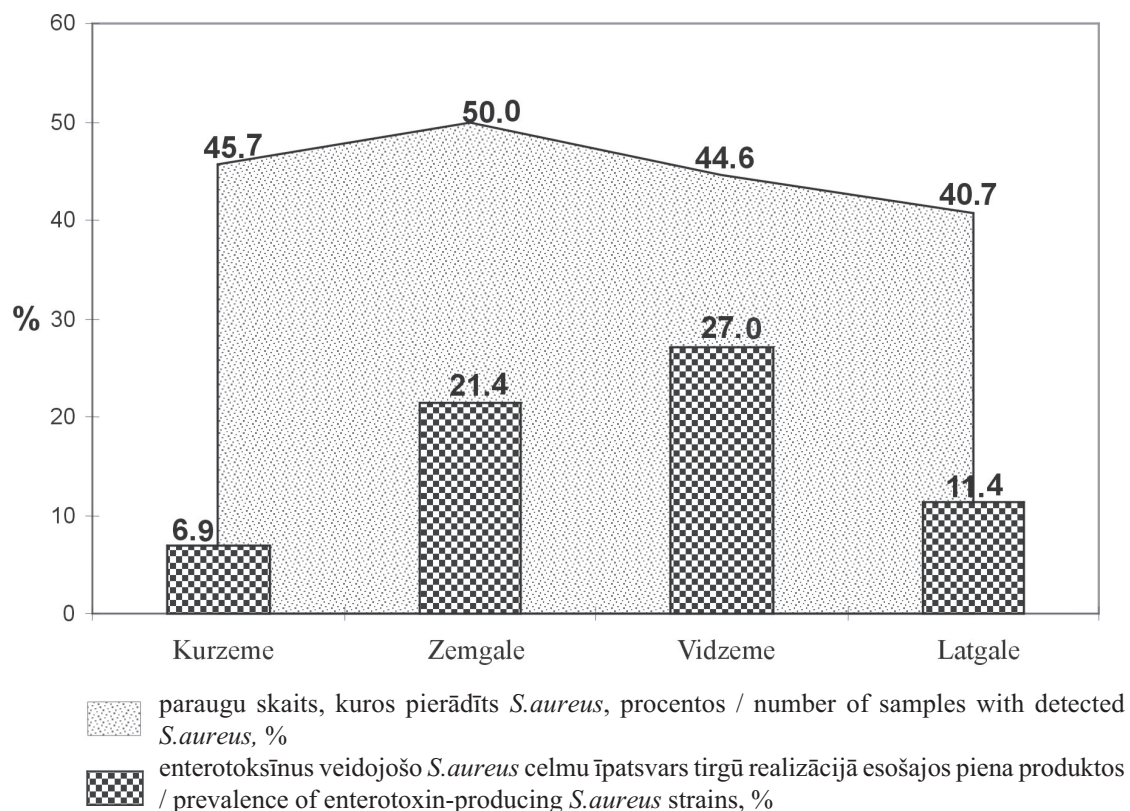
Jāatzīmē, ka arī citu autoru darbos izskanējis pieņēmums par noteiktas enterotoksīnus veidojošo *S.aureus* populācijas prevalenci kādā noteiktā produktā vai pat vienā paraugā. Tā, norvēģu zinātnieki pierādījuši, ka 48.0% no viena piena parauga izdalītajām *S.aureus* kultūrām veidoja enterotoksīnus, bet pārējiem celmiem šī īpašība netika pierādīta (Loncarevic et al., 2005).

Vērtējot mūsu iegūtos rezultātus, var pieņemt, ka Latvijas tirgū realizācijā esošā piena un piena produktu primārais kontaminācijas ar *S.aureus* avots ir piens, kas iegūts saimniecībās, kurās govīm ir izplatīts *S.aureus* ierosinātais mastīts. Ir vairāk vai mazāk pieņēmumu, ko apstiprina citu autoru darbos publicētie dati (Cenci-Goga et al., 2003; Loncarevic et al., 2005).

Izpētot enterotoksīnus veidojošo *S.aureus* celmu sastopamību piena produktos, kas realizēti Latvijas reģionu tirgos, viens no galvenajiem mūsu darba uzdevumiem bija pārbaudīt, konkrēti kādus enterotoksīnu serotipus veido izdalītie *S.aureus* celmi. Izmeklēti 138 piena un piena produktu paraugi, kuros konstatēts *S.aureus*. No tiem 21 gadījumā izdalīti enterotoksīni (skat. 1. tabulu). Ar reversās pasīvās lateksa aglutinācijas metodi iegūtie rezultāti atspoguļoti 4. attēlā.

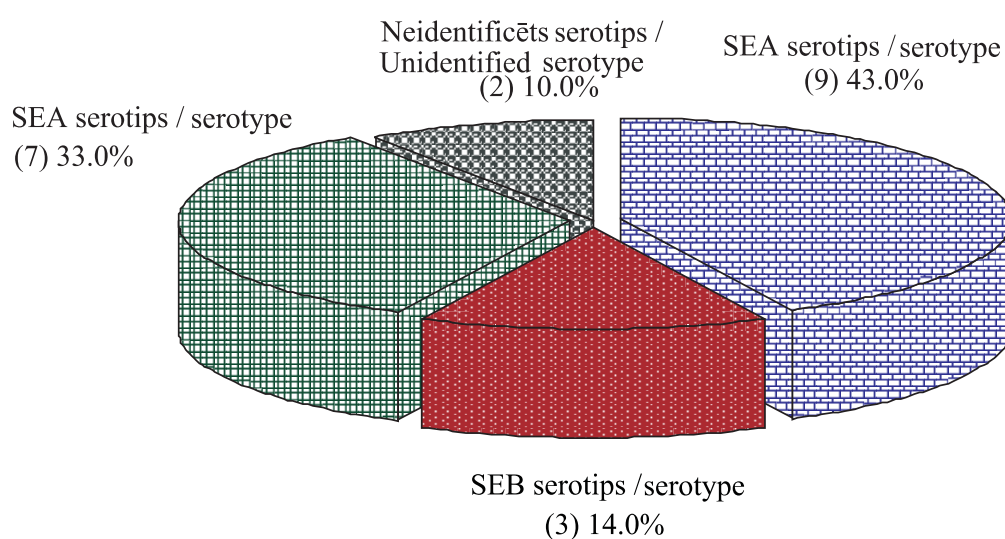
Redzams, ka 9 no 21 enterotoksīnus veidojošiem *S.aureus* pierādīta enterotoksīna A (SEA) veidošanās, savukārt 7 celmi veidoja enterotoksīnu C (SEC), bet 3 – enterotoksīnu B (SEB). Divus *S.aureus* celmu veidotos enterotoksīnus seroloģiski identificēt mums neizdevās, jo ar reversās pasīvās lateksa aglutinācijas palīdzību iespējams identificēt tikai enterotoksīnu serotipus A, B, C un D. Datu statistiskās apstrādes rezultāti (Kohrana Q kritērijs = 4.333 un p-vērtība = 0.115) norāda, ka paraugu īpatsvars ar konstatētu enterotoksīnu ir praktiski vienāds pierādītajiem serotipiem.

Šie mūsu iegūtie rezultāti daļēji saskan ar literatūras datiem, kuros arī tiek akcentēts, ka tieši enterotoksīna



3. att. *Staphylococcus aureus* un enterotoksīnus veidojošo celmu īpatsvars tirgū realizētajā pienā un piena produktos Latvijas reģionos.

Fig. 3 . The prevalence of *Staphylococcus aureus* and enterotoxin-producing strains in milk and milk products marketed in Latvian regions.



4. att. *S.aureus* enterotoksīnu serotipi Latvijas tirgū esošajos piena produktos.

Fig. 4. *S.aureus* enterotoxin serotypes in milk products marketed in Latvia.

A un C serotipa veidojošos *S.aureus* celmus visbiežāk pasaulē izdala no pārtikas produktiem, t.sk. piena produktiem (Hung et al., 1993; Holeckova et al., 2002; Normanno et al., 2005). Jāatzīmē, ka enterotoksīnus veidojošie *S.aureus* celmi literatūrā tiek aprakstīti kā vieni no pārtikas saindēšanās izraisītājiem, un pēdējo gadu publikācijās atrodami dati par citu enterotoksīnu serotipu saistību ar pārtikas saindēšanās gadījumiem (Yamashita et al., 2003; Ikeda et al., 2005).

Tādēļ varam secināt, ka enterotoksīnus veidojošo *S.aureus* celmu izplatība Latvijas tirgos realizētajā pienā un piena produktos mums joprojām ir aktuāla problēma. Turklāt jāņem vērā arī tendence izdalīt šobrīd vēl seroloģiski neidentificētus enterotoksīnu serotipus. Tas norāda uz stafilokoku populācijas mainību Latvijā un mudina turpināt pētījumus par enterotoksīnus veidojošo *S.aureus* sastopamību visos piena un piena produktu aprites posmos.

Secinājumi

1. Latvijas tirgū realizētajā pienā un piena produktos enterotoksīnus veidojošie *S.aureus* celmi sastopami 15.2% gadījumā.

2. *S.aureus* vairāk konstatēts krējuma un piena paraugos, bet enterotoksīnus veidojošo celmu īpatsvars attiecīgi ir lielāks biezpienā (29.4%) un krējumā (11.3%).

3. *S.aureus*, tajā skaitā enterotoksīnus veidojošie *S.aureus* celmi, ir sastopami visos Latvijas reģionos, bet ne vienādā daudzumā. Enterotoksīnus producējošo *S.aureus* celmu skaits nav tieši proporcionāls paraugu skaitam, kuros pierādīts *S.aureus*.

4. Visvairāk *S.aureus* pienā un piena produktos konstatēts Zemgales reģionā (50.0%), bet enterotoksīnus veidojošo celmu īpatsvars salīdzinoši lielāks ir Vidzemes reģionā (27.0%).

5. Latvijas teritorijā tirgū realizācijā esošajā pienā un piena produktos izdalītie *S.aureus* celmi producē enterotoksīnu A (43.0%), C (33.0%) un B (14.0%).

Literatūra

1. Adams, M.R., Moss, M.O. (1995) *Food microbiology*. University of Surrey, Guildford, UK, pp. 205-210.

2. Adesiyun, A.A. (1995) Characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis milk: bacteriophage and antimicrobial agent susceptibility and enterotoxigenicity. *Journal of veterinary medicine*, Vol.42, pp. 129-139.

3. Arhipova, I., Balina, S. (2003) *Statistika ekonomika: risinājumi ar SPSS un Microsoft Excel*. Rīga: Datorzinību centrs, 349 lpp.

4. Bankes, P., Rose, A.S. (1989) Rapid detection of staphylococcal enterotoxins in foods with a modification of the reversed passive latex agglutination assay. *Journal of applied bacteriology*, Vol. 67, pp. 395-399.

5. Cenci-Goga, B.T., Karama, M., Rossitto, P.V., Morgante, R.A., Cullor, J.S. (2003) Research note on enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* isolated from mastitis cows. *Journal of food protection*, Vol. 66, No. 9, pp. 1693-1696.

6. De Luca, G., Zanetti, F., Stampi, S. (1997) *Staphylococcus aureus* in dairy products in the Bologna area. *Int. journal of food microbiology*, Vol. 35, issue 3, pp. 267-270.

7. Halpin-Dohnalek, I.M., Marth, H.E. (1989) *Staphylococcus aureus*: production of extracellular compounds and behaviour in foods – a review. *Journal of food protection*, Vol. 52, No. 4, pp. 267-282.

8. Holeckova, B., Holoda, E., Fotta, M., Kalinacova, V., Gondol, J., Grolmus, J. (2002) Occurrence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in food. *Ann. Agric. Environ. Med.*, Vol. 9, pp. 179-182.

9. Hung, S.S., Huang, T.P., Ko, H.C. (1993) Detection of staphylococcal enterotoxins in rice using enzyme immunoassay kits. *Journal of food and drug analysis*, Vol. 1, No. 3, pp. 297-304.

10. Ikeda, T., Tamate, N., Yamaguchi, K., Makino, S. (2005) Mass outbreak of food poisoning disease caused by small amounts of staphylococcal enterotoxins A and H. *Applied environmental microbiology*, Vol. 71, pp. 2793-2795.

11. Katsuda, K., Hata, E., Kobayashi, H., Kohmoto, M., Kawashima, K., Tsunemitsu, H., Eguchi, M. (2005) Molecular typing of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis milk on the basis of toxin genes and coagulase gene polymorphisms. *Veterinary microbiology*, Vol. 105, issues 3-4, pp. 301-305.

12. Loncarevic, S., Jorgensen, H.J., Lovseth, A., Mathisen, A., Rorvik, L.M. (2005) Diversity of *Staphylococcus aureus* enterotoxin types within single samples of raw milk and raw milk products. *Journal of applied microbiology*, Vol. 98, pp. 344- 350.

13. Miwa, N., Kawamura, A., Masuda, T., Akiyama, M. (2001) An outbreak of food poisoning due to egg yolk reaction-negative *Staphylococcus aureus*. *Int. journal of food microbiology*, Vol. 64, issue 3, pp. 361-366.

14. Normanno, G., Firinu, A., Virgilio, S. (2005) Coagulase-positive Staphylococci and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. *Int. journal of food microbiology*, Vol. 98, issue 1, pp. 73-79.

15. Paura, L., Arhipova, I. (2002) *Neparametriskas metodes: SPSS datorprogramma*. Jelgava: LLKC, 148 lpp.

16. Pimbley, D.W., Patel, P.D. (1998) A review of analytical methods for detection of bacterial toxins. *Toxins. Supplement to journal of applied microbiology*, Vol. 84, 98-109.

17. Sinell, H.J. (1980) *Einführung in die Lebensmittelhygiene*. Verlag Paul Paery, Berlin und Hamburg, 246 S.

18. Yamashita, K., Kanazawa, Y., Ueno, M., Ohta, H., Kitaguchi, M., Kawakami, T., Iwasaki, K., Tsujisawa, E., Morino, Y., Tabita, K. (2003) Significance of the detection of staphylococcal enterotoxin A gene in low fat milk which caused a serious outbreak of food poisoning. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, Vol. 44, pp. 186- 190.
19. Zschock, M., Kloppert, B., Wolter, W., Hamann, H.P., Lammler, C. (2005) Pattern of enterotoxin genes seg, she, sei and sej positive *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. *Veterinary microbiology*, Vol. 21, pp. 324-331.