

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PEYNİR, TEREYAĞI VE KUMPIRDE PATOJENİK
MİKROFLORANIN BELİRLENMESİ VE BAZI
PATOJENLERİN VIDAS YÖNTEMİ İLE TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hatice İmge OKTAY

Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Programı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

MAYIS 2005

**PEYNİR, TEREYAĞI VE KUMİRDE PATOJENİK
MİKROFLORANIN BELİRLENMESİ VE BAZI
PATOJENLERİN VIDAS YÖNTEMİ İLE TAYİNİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Vet.Hek.Hatice İmge OKTAY
506021423**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 09 Mayıs 2005
Tezin Savunulduğu Tarih : 03 Haziran 2005**

**Tez Danışmanı : Prof.Dr. Dilek HEPERKAN
Diğer Jüri Üyeleri Prof.Dr. Muammer UĞUR (İ.Ü.)
Doç.Dr. Emine UBAY ÇOKGÖR (İ.T.Ü)**

Mayıs 2005

ÖNSÖZ

Ülkemizde büyük oranlarda tüketimi olan süt ve süt ürünleri mikrobiyal gelişime oldukça uygun gıdalardır. Özellikle de patojen mikroorganizmaları içerebilmesi açısından büyük tehlike oluşturmaktadırlar. Patojen mikroorganizmalardan özellikle yasalarla bu gıdaların 25 g'da hiç bulunmaması gereken *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes*'in tespiti için 5-7 gün gibi uzun süre gerekmektedir hızlı patojen tayin yöntemleri geliştirme çalışmaları devam etmektedir. Bu çalışmada da söz konusu patojenlerin tayininde klasik yöntem ile otomatik VIDAS yöntemi karşılaştırılmış ve İstanbul piyasasından temin edilen peynir, tereyağı ve kumpir örneklerinin mikrobiyal yükleri belirlenmiştir.

Bu tezin hazırlanması sırasında, değerli fikirleriyle çalışmamı yönlendiren danışmanım Sayın Prof Dr. Dilek HEPERKAN'a ve her zaman yanımda olan aileme çok teşekkür ederim.

Temmuz 2005

Hatice İmge OKTAY

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ	vi
ÖZET	vii
SUMMARY	ix
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1. Süt ve Süt Ürünlerinde Bulunan Mikroorganizmalar	3
2.1.1. Peynir ve tereyağında bulunan patojen mikroorganizmalar	5
2.1.1.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.1.1.2 Koliform bakteriler ve <i>Escherichia coli</i>	10
2.1.1.3 <i>Clostridium perfringens</i>	12
2.1.1.4 <i>Salmonella</i> spp.	13
2.1.1.5 <i>Listeria monocytogenes</i>	15
2.2. Kumpirde Bulunan Patojen Mikroorganizmalar	17
2.2.1. <i>Bacillus cereus</i>	18
2.3. Peynir, Tereyağı ve Kumpir İle İlgili Standartlar	20
2.3.1. Kaşar peyniri ile ilgili standartlar	20
2.3.2. Tereyağı ile ilgili standartlar	21
2.3.3. Kumpir ile ilgili standartlar	21
2.4. VIDAS'ın diğer yöntemler ile karşılaştırılmasına ait çalışmalar	22
2.4.1. <i>Listeria monocytogenes</i>	23
2.4.2. <i>Salmonella</i> spp.	24
3. MATERYAL VE METOT	26
3.1. Materyal	26
3.2. Metot	27
3.3. Örneklerin Analize Hazırlanması	27
3.4. Mikrobiyolojik Analizler	27
3.4.1. Koliform bakterilerin izolasyonu	27
3.4.1.1 Toplam Koliform izolasyonu	28
3.4.1.2 <i>Escherichia coli</i> izolasyonu	28
3.4.2. <i>Staphylococcus aureus</i> izolasyonu	28
3.4.3. <i>Clostridium perfringens</i> izolasyonu	28
3.4.4. <i>Bacillus cereus</i> izolasyonu	29
3.4.5. Maya ve küf izolasyonu	29
3.4.6. <i>Listeria monocytogenes</i> izolasyonu	29
3.4.6.1 <i>Listeria monocytogenes</i> 'in klasik yöntem ile izolasyonu	29
3.4.6.2 <i>Listeria monocytogenes</i> 'in mini-VIDAS cihazı ile izolasyonu	30
3.4.7. <i>Salmonella</i> izolasyonu	32

3.4.7.1 <i>Salmonella</i> 'nın klasik yöntem ile izolasyonu	32
3.4.7.2 <i>Salmonella</i> 'nın mini-VIDAS cihazı ile izolasyonu	34
3.5. Örneklerde Nem, Su aktivitesi (a_w), pH ve Sıcaklık Analizleri	34
3.6. Aşılama Çalışmaları	35
3.6.1. <i>Listeria monocytogenes</i> aşılması	35
3.6.2. <i>Salmonella typhimurium</i> aşılması	35
3.7. İstatistiksel Analizler	36
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	37
4.1. Örneklerde Nem, a_w , pH ve Sıcaklık Bulguları	37
4.2. Kaşar Peynirine Ait Mikrobiyolojik Özellikler	38
4.2.1. Koliform bakteriler ve <i>Escherichia coli</i> sayımı	39
4.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i> sayımı	40
4.2.2.1 Koagülaz pozitif <i>Staphylococcus aureus</i> sayımı	40
4.2.3. <i>Clostridium perfringens</i> sayımı	40
4.2.4. <i>Listeria monocytogenes</i> analizi	40
4.2.5. <i>Salmonella</i> spp. analizi	41
4.2.6. Maya ve küf sayımları	42
4.3. Tereyağı Örneklerine Ait Mikrobiyolojik Özellikler	42
4.3.1. Koliform bakteriler ve <i>Escherichia coli</i> sayımı	42
4.3.2. <i>Staphylococcus aureus</i> sayımı	42
4.3.2.1 Koagülaz pozitif <i>Staphylococcus aureus</i> sayımı	42
4.3.3. <i>Listeria monocytogenes</i> analizi	44
4.3.4. <i>Salmonella</i> spp. analizi	45
4.3.5. Maya ve küf sayımları	45
4.4. Kumpir Örneklerine Ait Mikrobiyolojik Özellikler	45
4.4.1. Koliform bakteriler ve <i>Escherichia coli</i> sayımı	46
4.4.2. <i>Staphylococcus aureus</i> sayımı	46
4.4.2.1 Koagülaz pozitif <i>Staphylococcus aureus</i> sayımı	46
4.4.3. <i>Clostridium perfringens</i> sayımı	46
4.4.4. <i>Bacillus cereus</i> sayımı	46
4.4.5. <i>Listeria monocytogenes</i> analizi	47
4.4.6. <i>Salmonella</i> spp. analizi	47
4.4.7. Maya ve küf sayımları	47
4.5. <i>Listeria monocytogenes</i> ve <i>Salmonella typhimurium</i> İçin ISO ve Mini-VIDAS Yöntemlerinin Karşılaştırılması	49
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	61

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. <i>Bacillus cereus</i> ile ilişkili gıda kaynaklı hastalıklar.....	19
Tablo 2.2. Peynirlere ait mikrobiyolojik kriterler.....	20
Tablo 2.3. Tereyağına ait mikrobiyolojik kriterler.....	21
Tablo 2.4. Tüketime hazır günlük yemek ve mezelere ait mikrobiyolojik Kriterler.....	22
Tablo 4.1. Kaşar peyniri, tereyağı ve kumpire ait ortalama nem, su aktivitesi, pH ve sıcaklık değerleri.....	38
Tablo 4.2. Kaşar peyniri örneklerine ait mikroorganizma sayıları.....	38
Tablo 4.3. Mini-VIDAS ve ISO yöntemleri ile kaşar peyniri örneklerinde <i>Listeria</i> varlığı.....	41
Tablo 4.4. Kaşar peyniri örneklerinden izole edilen <i>Salmonella</i> şüpheli kolonilerin ait oldukları türler.....	41
Tablo 4.5. Tereyağı örneklerine ait mikroorganizma sayıları.....	43
Tablo 4.6. Mini-VIDAS ve ISO yöntemleri ile tereyağı örneklerinde <i>Listeria</i> varlığı	44
Tablo 4.7. Tereyağı örneklerinden izole edilen <i>Salmonella</i> şüpheli kolonilerin ait oldukları türler.....	45
Tablo 4.8. Kumpir örneklerine ait mikroorganizma sayıları.....	47
Tablo 4.9. Mini-Vidas ve ISO yöntemleri ile örneklerde <i>Listeria</i> varlığı....	50
Tablo 4.10. <i>Salmonella typhimurium</i> aşılansarak ile elde edilen yöntem karşılaştırılmasının sonuçları.....	53
Tablo 4.11. <i>Listeria monocytogenes</i> aşılansarak elde edilen yöntem karşılaştırılmasının sonuçları.....	54

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 3.1 :Mini-Vidas cihazının görünümü.....	26
Şekil 3.2 : <i>Listeria monocytogenes</i> 'in ISO 11290 yöntemine göre izolasyon akış şeması.....	31
Şekil 3.3 : <i>Salmonella</i> 'nın ISO 6579 yöntemine göre analizi.....	33

PEYNİR, TEREYAĞI ve KUMPIRDE PATOJENİK MİKROFLORANIN BELİRLENMESİ ve BAZI PATOJENLERİN VIDAS YÖNTEMİ İLE TAYİNİ

ÖZET

Süt ve süt ürünleri Türkiye ve dünyada sıklıkla tüketilen besinsel açıdan önemli gıdaların başında gelmektedir. Türkiye’de kayıtlar iyi tutulmamakta fakat bilinmektedir ki dünyada, süt ürünleri kaynaklı hastalıklar dolayısıyla çok sayıda salgın şekillenmektedir. Özellikle de süt ürünleri üretimi çiğ süttten yapılmaktaysa risk daha büyük olmaktadır.

Süt sanayiinde pastörizasyonun kullanımı ile birlikte çiğ süt ve ürünleri ile oluşan hastalıkların yayılımı ciddi oranlarda azalmıştır. Fakat yine de süt ve süt ürünleri üretiminin tüm aşamalarında (taşıma, depolama, imalat ve sağım gibi) patojen ve bozulma etmeni olan mikroorganizmalarla kontaminasyon şekillenebilmektedir. Süt ürünleri ile ilgili salgın hastalıkların başında *Salmonella*, *Listeria* ve *E.coli* O157:H7 gelmektedir. Bu salgınlar dolayısıyla ortaya çıkan ekonomik kayıplar da işin diğer boyutunu oluşturmaktadır.

Bu çalışmada materyal olarak süt ürünlerinden kaşar peyniri, tereyağı ve her ikisinin de katılarak tüketildiği kumpir kullanılmıştır. Çalışma iki aşamadan meydana gelmektedir. İlk aşamada İstanbul piyasasından temin edilen 42 kaşar peyniri, 42 tereyağı ve 38 kumpir örneğinde patojen mikroorganizma mevcudiyeti aranmıştır. İkinci aşamada yukarıda bahsi geçen ise 122 doğal kontamine örneğe ilave olarak ayrıca kaşar peyniri, tereyağı ve kumpir örnekleri *Salmonella typhimurium* ve *Listeria monocytogenes* ile 2 farklı konsantrasyonda aşılansarak ISO yöntemi ve mini-VIDAS otomatik sisteminin kullanıldığı yöntemlerle analizlenmiştir. Böylece iki yöntemin etkinliklerinin *L.monocytogenes* ve *Salmonella* spp. tayini açısından değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

Çalışmanın sonucunda 42 peynir örneğinde *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* sayıları sırasıyla ortalama 48 adet/g, 4.5×10^5 cfu/g, ve 1×10^3 adet/g’dir. Örneklerin 3’ünden (%7.1) *Listeria monocytogenes* izole edilmiştir. *Salmonella* spp. ise mevcut değildir. 42 tereyağı örneğinde ise *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* sayıları sırasıyla ortalama 3.8×10^3 adet/g ve 1.6×10^4 cfu/g’dür. Örneklerin hiçbirisinden *L.monocytogenes* ve *Salmonella* spp. izole edilmemiştir. İncelenen örneklerden patojen mikroorganizma içeriği en düşük tespit edilmiş olan kumpirin *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* ortalamaları sırasıyla 8.9×10^2 cfu/g, 24 adet/g ve 1.8×10^2 cfu/g’dır. *E.coli*, *L.monocytogenes* ve *Salmonella* spp. ise belirlenmemiştir. 42 peynir örneğinin %21.4’ü *E.coli*, %90.5’i *S.aureus*, %30.9’u *Cl.perfringens* ve %7.1’i *L.monocytogenes* açısından, 42 tereyağı örneğinin %52.4’ü *S.aureus*, %26.2’si *E.coli* açısından ve 38 kumpir örneğinin %44.7’si *S.aureus* ve %2.6’sı *Cl.perfringens* açısından Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine uygun olmadığı görülmüştür. Sonuçlar kaşar peyniri ve tereyağı üretiminde daha sıkı hijyenik ve teknolojik kontrollerin yapılması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Klasik yöntem ve mini-VIDAS sisteminin karşılaştırılmasına yönelik çalışmalar sonucunda ise her iki mikroorganizmanın tayini açısından $\alpha = 0.05$ önem düzeyinde yöntemler arasında istatistiksel anlamda farklılık olmadığı tespit edilmiştir

INVESTIGATION OF PATHOGENIC MICROORGANISMS AND ANALYSIS OF SOME PATHOGENS BY VIDAS SYSTEM IN BUTTER, CHEESE AND BAKED POTATO PRODUCT

SUMMARY

Milk and other dairy products are important foods for everyday human nutrition both in Turkey and in the world. Even though records are not good in Turkey, it is known that milk product related outbreaks occur very often in world. Especially if the dairy products made from raw milk, risk will be greater.

After pasteurization started to use in milk industry, raw milk and products related diseases became lesser. However, unfortunately every step of production (carrying, storage, milking) milk and dairy products may contain pathogenic and spoilage microorganisms. Dairy product related outbreaks occur mainly because of *Salmonella* spp., *Listeria* and *E.coli* O157:H7

In this study kashar cheese, butter and baked potato product 'kumpir' were used. The study has two steps. In the first step, 42 cheese, 42 butter and 38 baked potato samples were taken from Istanbul market and analyzed for detecting foodborne pathogen microorganisms. In the second step, in addition to these 122 naturally contaminated samples mentioned above, kashar cheese, butter and baked potato samples inoculated with 2 different concentrations of *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes*. All these naturally contaminated and inoculated samples were tested in mini-VIDAS and in parallel by the ISO traditional methods. Thus, this study was conducted to evaluate the efficacy both mini-VIDAS system and ISO method.

As a result, in 42 cheese samples counts of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* averaged 48 MPN/g, 4.5×10^5 cfu/g, ve 1×10^3 MPN/g respectively. 3 of the 42 cheese (%7.1) samples also contained *Listeria monocytogenes*. *Salmonella* spp. were not detected in any of the cheese samples. In 42 butter samples counts of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* averaged 3.8×10^3 MPN/g ve 1.6×10^4 cfu/g respectively. No *Listeria monocytogenes* or *Salmonella* spp. were detected in any of the butter samples. Averages of *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* of kumpir which contains the least pathogenic microorganisms are respectively 8.9×10^2 cfu/g, 24 adet/g and 1.8×10^2 cfu/g. *E.coli*, *L.monocytogenes* and *Salmonella* spp. were not detected in any of the kumpir samples. A proportion of 42 cheese samples has high counts for *E.coli* (%21.4), *S.aureus* (%90.5), *Cl.perfringens* (%30.9) and *L.monocytogenes* (%7.1) and are unacceptable to Turkish microbiological standards. A proportion of 42 butter samples has high counts for *S.aureus* (%52.4), *E.coli* (%26.2) and are unacceptable to Turkish microbiological standards. And the last group of 38 kumpir samples *S.aureus* (%44.7) ve *Cl.perfringens* (%2.6) and are unacceptable to Turkish microbiological standards. Results suggest the need for a

more strict and hygienic and technological control during cheese and butter manufacture.

In classical cultural method and mini-VIDAS system comparison, statistical differences at the 0.05 level of significance were not observed.

1. GİRİŞ

İnsan beslenmesinde çok önemli yeri olan süt ve süt ürünleri, protein, Ca, P, Mg ve diğer minerallerin kaynağı olması nedeniyle oldukça besleyici olmakla birlikte nötr civarında pH'sı ile mikroorganizmalar için mükemmel bir yaşam ve gelişme ortamı oluştururlar. Buna karşılık içerdikleri patojen mikroorganizmalar, toksinler (mikrobiyal veya bitkisel kaynaklı) ya da pestisit, ağır metal veya ilaç ve antibiyotik kalıntıları ile kontamine durumda olup, insan sağlığını tehdit edebilmektedirler.

Kaşar peyniri ve tereyağı ülkemizde yüksek oranlarda tüketilen süt ürünlerindendir. Kumpir ise; hazır yemek olarak sınıflandırılabilen, patatesin fırında pişirildikten sonra içerisine kaşar peyniri ve tereyağı katılıp sade olarak tüketilebildiği gibi; turşu, çeşitli sebze ve et ürünleri ile zenginleştirilerek tüketilen bir gıda çeşididir.

Peynirin mikrobiyolojisine ait bu güne kadar çok sayıda çalışma yapılmıştır (Sarımehmetoğlu ve diğ., 2004; Küçükçetin ve diğ., 2004; Araujo ve diğ., 2002; Yıldız, 2002; Dıraman, 1989; Şık ve diğ., 2004). Peynir mikrobiyolojisi ile ilgili yapılan çalışmalar sonucu büyük oranda fekal bulaşmaya maruz kaldığı, bunun yanı sıra patojen mikroorganizmalardan da *Staphylococcus aureus*, *Shigella*, *Yersinia* sp., *Aeromonas* sp., *Escherichia coli* ile yaygın şekilde kontamine olduğu ve *Salmonella* spp. ile *Listeria monocytogenes*'in de peynir yapımı sırasında canlı kalabildiği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Leuschner ve Boughtflower, 2002; Arıcı ve diğ., 1999).

Literatürde tereyağı mikrobiyolojisi ile ilgili de çok sayıda çalışma mevcuttur (Şimşek ve diğ., 1995; Bodur, 1993; Hayaloğlu ve Konar, 2001; Holliday ve diğ., 2003; Rue ve diğ., 2004). Finlandiya'da tereyağı ile ilişkili listeriosis salgını ortaya çıkmıştır. Ayrıca literatürde tereyağı örneklerinin peynirde olduğu gibi yüksek düzeyde fekal kontaminasyona maruz kaldığı ve *E.coli*, *S.aureus* ve *Listeria* sp.'nin de sıklıkla izole edilmiş patojen mikroorganizmalar olduğu belirlenmiştir.

Literatürde kumpire ait yapılmış herhangi bir çalışma mevcut değildir. Tüketime hazır yemek ve mezelerle ilgili yapılmış çalışmaların büyük çoğunluğu *Bacillus*

cereus üzerinedir. Bu mikroorganizma dışında *E.coli*, *L.monocytogenes*, *S.aureus*, *Clostridium perfringens*'in de bulunabildiği belirtilmektedir.

Literatürde *Salmonella* spp. ve *L.monocytogenes*'in kaşar peyniri, tereyağı ve kumpir örneklerinin 25 gramda hiç olmaması gerektiğine ilişkin yasal düzenlemeye dayanarak yapılan konvansiyonel yöntem ve mini-VIDAS otomatik sisteminin karşılaştırılmasına yönelik çalışmalarda birbirinden farklı sonuçlar alındığı görülmektedir. Kimi çalışmalarda otomatik sistemin patojenlerin tayininde daha etkili olduğu belirtilmekteyken, kimisinde aradaki farkın önemsiz olduğu görülmektedir.

Bu tez çalışması iki aşamadan meydana gelmektedir. İlk aşamada, İstanbul piyasasından temin edilen kaşar peyniri, tereyağı ve kumpir örnekleri patojen mikroorganizma yükleri açısından değerlendirilmiş, sadece *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* spp. tayinlerinde iki farklı yöntem uygulanmıştır. İkinci aşamada ise, *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes* tayini açısından yukarıda sözünü ettiğimiz doğal kontamine örnekler analiz edilmiş; ayrıca kaşar peyniri, tereyağı ve kumpir örnekleri *Salmonella typhimurium* ve *Listeria monocytogenes* ile 2 farklı konsantrasyonda aşılınmış yöntem karşılaştırması amacıyla ISO yöntemi ve mini-VIDAS otomatik sisteminin kullanıldığı yöntemlerle analizlenmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Süt ve Süt Ürünlerinde Bulunan Mikroorganizmalar

Sağlıklı bir hayvandan aseptik koşullarda sağılan taze süt çok az sayıda bakteri içermektedir. Süte mikrobiyal bulaşma sağım ile başlamakta ve en önemli bulaşma kaynakları hayvanın memesi, deri, kıl, insan eli, sağım makineleri, süt kapları ve soğutuculardır. Süt ürünlerine süt kaynaklı mikroorganizmalar dışında ilave olarak üretim sırasında insan eli, su, alet ve ekipmanlar, katkı maddeleri ve ambalajlama materyalinden gelen mikroorganizmalarla da bulaşma gerçekleşebilmektedir (Hocalar ve Hocalar, 2001).

Çiğ sütün florasını yaygın olarak *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* ve *Micrococcus* spp. cinslerine ait türler oluşturmaktadır. Bunların yanı sıra, sağıldıktan sonra süt ürünlerine işlenmek üzere soğukta depolanan sütlerde flora psikrotrof bakterilerce zengindir. Bu grupta gram negatif bakteriler %90'ını oluşturmaktadır. Bu mikroorganizmalardan en sıklıkla izole edileni *Pseudomonas fluorescens*'tir. İkinci sırada Enterobacteriaceae ailesi üyeleri yer almaktadır. *Flavobacterium*, *Chromobacterium* ve *Alcaligenes* ise gine sıkça izole edilen gram negatif psikrotrofik mikroorganizmalardır. Bu mikroorganizmalar ısıl işlem ile kolaylıkla öldürülebilirler. İkinci sırada yer alan önemli bakteriler ise ısıya dirençli mikroorganizmalardır. Bu grupta da en önemli mikroorganizma *Bacillus* ve *Corynebacteria* cinsine ait olanlardır (Chye ve diğ., 2004; Muir ve Banks, 2003).

Çiğ süt ile ilişkili patojen mikroorganizmalar ise *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Coxiella burnetii*, *Staphylococcus aureus*, *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Mycobacterium bovis* ve *Mycobacterium tuberculosis* şeklinde sıralanabilmektedir (Kınık ve diğ., 1998).

Süt ürünlerinin kontaminasyonunda başlıca rolü çiğ süt kullanımı üstlenmektedir. Süt ürünleri içerisinde önemli bir yeri olan peynirin yapımında kullanılan süte sağım, taşıma ve işleme sırasında çok farklı kaynaklardan çeşitli mikroorganizmalar

bulaşabilmektedir. Bu mikroorganizmalardan bazıları saprofit olup, peynirde bulunan protein, yağ, karbonhidrat gibi besin maddelerini kullanarak kötü tad ve aromaya sebep olan metabolitleri üretirler. Bunun sonucu olarak da peynirlerde acılaşma, kokuşma, ekşime gibi bozulmalar meydana gelerek ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Bu mikroorganizmaların bir kısmı ölümle sonuçlanabilen çeşitli hastalık ve gıda zehirlenmelerine yol açmaktadır (Dığrak ve Özçelik, 1996).

Süt sanayiinde pastörizasyonun kullanımı ile süt ve ürünlerinin insan sağlığı açısından oluşturdukları tehdit oldukça azalmıştır. Günümüzde süt kaynaklı enfeksiyonları yaratan mikroorganizmalar büyük ölçüde elimine edilmiştir. Fakat süt ürünlerinin işleme sonrası kontaminasyona duyarlı olduğu uzun süreden beri bilinmektedir (Donnelly, 1990).

Süt ve süt ürünlerinde halk sağlığı açısından günümüzde de önemini koruyan patojen mikroorganizmalar ise *Mycobacterium* sp., *Brucella* sp., *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* O157:H7 şeklinde sıralanabilmektedir (Papageorgiou, 2004). Bu patojenlere ait ayrıntılı bilgi ve çalışmalar bölüm 2.1.1’de verilmiştir.

Süt ve süt ürünlerinde sağlığa zararlı olabilecek diğerk bir mikroorganizma grubu da küfler ve oluşturdukları mikotoksinlerdir. Bazı *Aspergillus* spp. türleri tarafından üretilen aflatoksin B₁ (AFB₁) toksini ile kontamine yemlerle beslenen süt sığırları, laktasyon döneminde sütlerinde aflatoksin M₁ (AFM₁) salgılamaktadır. Genel olarak hayvandan hayvana, günden güne ve laktasyon dönemlerine göre değişmekle birlikte yemlerde mevcut olan AFB₁’in %1-3’ü sütte AFM₁ olarak ortaya çıkmaktadır (Sarımehmetoğlu ve diğ., 2004). Maya ve küfler, gram (-) mikroorganizmalarla birlikte gram (+) mikroorganizmalara nazaran ısıl işlemlere karşı daha hassas oldukları için pastörizasyonda yok edilmekte ve dolayısıyla ciddi bir problem oluşturmamaktadır (Kornacki ve Flowers, 1998). Fakat AFM₁ süt ve ürünlerinde ısıya ve işlemeye karşı oldukça dayanıklı olduğundan sütte mevcut ise ürünlerinde de mevcut olabilmektedir. Yapılan bir çalışmada, 100 kaşar peyniri örneğinin %85’inin AFM₁ ile kontamine olduğu ve bunun %34’ünün Kodekste belirtilen limitlerin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Tereyağında %92.6 ve bunun %3.7’si, kaşarda ise %88.68 bunun da %13.2’si Türk Gıda Kodeksi’nde belirtilen limitlerin üzerinde olmak üzere AFM₁ tespit edilmiştir (Ayçiçek ve diğ., 2005). Yaroğlu ve diğ. (2004),

200 kaşar peyniri örneğinin %6'sında AFM₁ bulmuştur. Bunun %1'i yasal sınırların dışındadır.

2.1.1. Peynir ve tereyağında bulunan patojen mikroorganizmalar

Peynir, birçok gıda kaynaklı hastalığın kökenini oluşturmaktadır. Çiğ ve yeterince ısıtılma işlem görmemiş sütlerden üretilen peynirler özellikle *Brucella*, *Listeria* ve *Shigella*'nın potansiyel taşıyıcısıdır (Marth ve Steele, 1998).

1973-1992 yılları arasında 32 peynir kaynaklı salgın ortaya çıktığı bunların 11'inde ölüm şekillendiği ve peynirlerin üretiminde çiğ ya da yeterli pastörizasyon görmemiş sütlerin kullanılması ve pastörizasyon sonrası kontaminasyonun en önemli etkenler olduğu tespit edilmiştir. Salgınlarda *Salmonella*, *Listeria* ve *E.coli* O157:H7'nin en yaygın rol oynayan mikroorganizmalar olduğu bildirilmiştir (Altekruse ve diğ., 1998).

Her peynir; çeşide bağlı olmaksızın, starter kültür ya da olgunlaştırıcı küf ya da mayalar dışında kendine ait mikrofloraya sahiptir. Peynirde mikroorganizmaların gelişebilmesi ya da en azından canlılığını sürdürebilmesi, diğer gıdalarda olduğu gibi pH, nem, tuz konsantrasyonu, asitlik, redoks potansiyeli, yarışmacı flora, sıcaklık ve aerobik/anaerobik şartlar gibi bazı kriterlere bağlıdır. Peynirin mikroflorasını mikroorganizma mevcudiyeti ve mikroorganizmanın gelişebilme yeteneği şeklinde iki faktör belirlemektedir (Marth ve Steele, 1998).

Yücel ve Ulusoy'un (2005), Ankara'da 200 çiğ süt ve peynir örneğinde *Yersinia* sp., toplam koliform ve *E.coli* taraması yaptıkları çalışmada çiğ süt örneklerinin %55, peynir örneklerinin %14 oranında, *Yersinia* sp. ile bulaşık oldukları *Y.enterocolitica* oranının ise çiğ sütte %47.3, peynirde %35.7 olduğunu belirlemişler ve *Yersinia* sp. ile kontamine örneklerin toplam koliform sayısının *E.coli*'den fazla olduğunu bildirmişlerdir. *Yersinia* sp. ile kontamine olan 6 peynir örneğinin toplam koliform ve *E.coli* sayısı da $>1.1 \times 10^5$ cfu/g olarak bulunmuştur.

Yaldız (2002), Kırklareli il merkezinde satışa sunulan 24 paketlenmiş taze kaşar örneğinin toplam aerobik mezofilik bakteri ve toplam koliform sayısını belirlemişlerdir. Sonuçta, taze kaşar peyniri örneklerinin toplam aerobik mezofilik bakteri ve toplam koliform sayısı sırasıyla en çok 1.31×10^6 cfu/g, 3.1×10^2 cfu/g; en az 4×10^4 cfu/g, 4×10^1 cfu/g ve ortalama 3.65×10^5 cfu/g, 6.54×10^1 cfu/g olarak saptanmıştır.

Dıraman'ın (1989), Trakya bölgesinde üretilen 16 adet vakum paketlenmiş taze kaşar peynirinin mikrobiyolojik özellikleri üzerine yaptıkları çalışmada, toplam koliform sayısı en çok 6.95×10^5 adet/g, en az 7.6×10^2 adet/g ve ortalama 1.45×10^3 adet/g olarak tespit edilmiştir. Maya ve küf sayısı ise $1.4 \times 10^3 - 1.8 \times 10^5$ adet/g arasında değişmiş ve ortalama 2.86×10^4 adet/g olarak belirlenmiştir.

Araujo ve diğ. (2002), Brezilya'da yaptıkları bir çalışmada Rio de Janerio'da marketlerden temin ettikleri 45 yumuşak peynir örneğinde *S.aureus*, enteropatojenik *E.coli*, *Aeromonas* sp. ve *Yersinia* sp. taraması yapılmış ve örneklerin %20'si *S.aureus*, %17.7 *Aeromonas* sp. ve %21.1'i de enteropatojenik *E.coli* (EPEC) ile kontamine bulunmuştur.

Leuschner ve Boughtflower (2002), düşük düzeyde (1-10 cfu/g) *E.coli* O157, *L.monocytogenes* ve *Salmonella* serotip *typhimurium*, *enteritidis* ve *dublin* ile aşıladıkları sütü laboratuvar şartlarında yumuşak peynir üretiminde kullanarak peynir yapım süreci sonunda patojen mikroorganizmaların durumuna bakmışlar ve her 3 patojeninde peynir üretiminde 1-50 cfu/g düzeyinde canlı kaldıklarını belirlemişlerdir.

Arıcı ve diğ. (1999), 10^3 adet/ml *L.monocytogenes* aşıladıkları inek ve koyun sütünden peynir üreterek 4°C'de 20 hafta depolayarak mikroorganizmanın durumunu incelemişlerdir. 8. hafta sonunda *L.monocytogenes* sayısı $>10^4$ adet/g iken 20. hafta sonunda inek peynirinde >10 adet/g ve koyun peynirinde >100 adet/g olmak üzere canlı kaldığını tespit etmişlerdir.

Şık ve diğ. (2004), Antalya piyasasından temin ettikleri 50 beyaz peynir örneğinde patojen taraması yaptıkları bir başka çalışmada %43 toplam koliform, %24 *S.aureus*, %8 oranında *Shigella* kontaminasyonu tespit etmişlerdir. Hiçbir örnekte *Salmonella* ya da *Cl.perfringens*' e rastlanmamıştır.

Tereyağının mikroflorasını oluşturan mikroorganizmaların kaynağını hammaddesi olan krema oluşturmaktadır (Kornacki ve Flowers, 1998). Peynirde olduğu gibi, krema da yapıldığı çiğ süttten gelen mikroorganizmaları içerebilmekte ve fiziksel yapısı nedeniyle yağ tanecikleri arasında mikroorganizmalar korunabilmektedirler. Psikrotrofik *Bacillus* ve *Clostridium* sp. türlerinin kremanın pastörizasyonunda canlı kalabildiği bildirilmiştir (Marth ve Steele, 1998).

Tereyağları uygun koşullarda saklandığı takdirde, mikrobiyal gelişmeye sık rastlanmaz. Gelişme olsa dahi çok yüksek sayılara ulaşmazlar fakat az sayı dahi lezzet bozukluklarına sebep olabilir.

Pastörize kremanın yaygın olarak kullanılmaya başlanmasında önce tereyağlarından sıklıkla *Salmonella*, *Sterptococcus* ve *Mycobacterium* sp. izole edilmiştir. Bunların dışında Irak'ta enteropatojenik *E.coli* ve *Listeria innocua* ve *monocytogenes* de izole edilmiştir. (Kornacki ve Flowers, 1998)

Tereyağı tüketimiyle ilişkili gıda zehirlenme vakaları, pastörizasyonun kullanımından önce bile oldukça düşük sayıda ortaya çıkmaktadır. Daha çok tifo ve difteri ortaya çıkmıştır. Pastörizasyondan sonra ise çevresel bulaşma sözkonusudur. Birkaç stafılakokal intoksikasyon olayı ABD'de ortaya çıkmıştır.

Şimşek ve diğ. (1995), Tekirdağ piyasasından temin ettikleri 14 kahvaltılık tereyağı örneğinin bazı nitelikleri üzerine yaptıkları çalışmada toplam koliform sayısını 4.10^5 ad/g ve maya-küf sayısını da 15.10^5 ad/g olarak tespit etmişlerdir.

Bodur (1993), Van piyasasında satışa sunulan 20 adet tereyağı örneğinin maya ve küf sayısı ve toplam koliform sayısı sırasıyla en düşük 17 adet/g, 2.5 adet/g; en yüksek 2.1×10^5 adet/g, 1.27×10^5 adet/g ve ortalama 2.6×10^4 adet/g, 9.6×10^3 adet/g olarak tespit etmiştir.

Hayaloğlu ve Konar (2001); 25 adet tereyağı örneği ile yaptıkları çalışmada ortalama toplam koliform ve maya sayısını sırasıyla 1.1×10^5 ve 7.3×10^6 olarak belirlemişlerdir.

Finlandiya'da Şubat 1999'da kontamine tereyağından kaynaklanan Listeriosis salgını ortaya çıkmıştır ve salgın etkeninin *L.monocytogenes* 3a serotipi olduğu tespit edilmiştir. Haziran 1998 – Nisan 1999 arasında 25 vaka hastaneye kaldırılarak tedavi edilmiştir (Maijala ve diğ., 2001).

Holliday ve diğ. (2002) tereyağı ve margarinde *Salmonella*, *Escherichia coli* 157:H7 ve *Listeria monocytogenes* üzerinde yaptıkları çalışmada; önce örneklerle yüzey aşılması uygulanmış ve ardından 4.4°C ve 21°C'lerde 21 güne kadar depolanmıştır. Her 3 patojen de 21°C'de tatlı krema ve tuzlu tereyağında (pH 6.40) 1-2 günde gelişmekteyken, *L.monocytogenes* aynı üründe 4.4°C'de 7-14 gün arasında gelişme göstermiştir. Patojenlerden hiçbiri tatlı krema ve tuzsuz tereyağında (pH 4.51), tuzlu diyet tereyağında (pH 4.58), diyet margarinde (pH 5.34) ne 4.4°C ne de 21°C'de 21

gün boyunca gelişme göstermemiştir. 3 patojenin de inaktivasyon hızı 4.4°C’de depolanan örneklerle göre 21°C’de daha hızlı olmuştur.

Belçika da yapılan bir başka çalışmada, 143 çiğ süt ve 100 çiğ süt ürünü (64 tereyağı, 16 peynir, 9 yoğurt, 7 dondurma, 4 taze peynir) toplam koliform, *E.coli* O:157, *S.aureus*, *Salmonella* sp., *Listeria* sp. ve *Listeria monocytogenes* taraması yapılmış ve Avrupa Birliği yasalarıyla karşılaştırılmıştır. Çiğ süt örneklerinin %0.7’sinde *E.coli*, %6.3’ünde *L.monocytogenes* bulunmuşken, *Salmonella* sp. gözlenmemiştir. Tereyağı örneklerinin %18.7’sinin *L.monocytogenes* ile ve hijyen belirteci olan toplam koliformlar açısından da yasaların belirlediği değerlerin üzerinde kontaminasyon olduğu belirlenmiştir (Rue ve diğ., 2004).

2.1.1.1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus cinsi ilk olarak 1884 yılında *Micrococcaceae* ailesine ait olarak tanımlanmıştır (Wong ve Bergdoll, 2002) . Gram (+), hareketsiz, spor oluşturmeyen, katalaz pozitif, fakültatif anaerob, 0.5-1.5 µm çapında tek, çift ya da düzensiz kümeler halinde bulunabilen kok şeklindeki hücrelerdir (Kınık ve diğ., 1998; Wong ve Bergdoll, 2002). Bu organizmanın optimum gelişme sıcaklığı 30-37°C’dir. *Staphylococcus* cinsi 23 türe ayrılmaktadır (*arlettae*, *aureus*, *auricularis*, *capitis*, *chromogenes*, *cohnii*, *epidermidis*, *gallinarum*, *haemolyticus*, *hominis*, *hyicus*, *intermedius*, *kloosii*, *lentus*, *lugdunensis*, *saprophyticus*, *schleiferi*, *sciuri*, *simulans*, *warneri*, and *xylosus*). En yaygın görülen türü insan ve hayvan derisinde bulunan ve nadiren hastalık oluşturan *Staphylococcus epidermidis*’tir (Cosenza-Sutton, 2004).

Süt ve süt ürünlerinde sıklıkla rastlanan bir mikroorganizma olan enteropatojenik *S.aureus* suşlarının kaynağını özellikle mastitisli hayvanlardan sağılan sütler oluşturmaktadır. *S.aureus*, stafilokok türleri arasında enterotoksin üreterek gıda kaynaklı hastalıklara yol açmaktadır. *Staphylococcus intermedius* ve *hyicus*’un da gıdalarda enterotoksin üretebildiği belirlenmiştir. *Staphylococcus saprophyticus* ise sadece üriner sistem hastalığı oluşturmaktadır Koagülaz testi, *Staphylococcus aureus* koagülaz enzimi üreticisi olduğundan diğer stafilokok türlerinden ayırımında kullanılmaktadır (Kınık ve diğ., 1998).

S.aureus’un birçok suşu gıda zehirlenmesine sebep olan enterotoksin üreticisi olduğundan, gıdalarda gelişmesi halk sağlığı açısından tehlike oluşturmakta, Stafilakokal gıda zehirlenmesine neden olmaktadır. Özellikle çiğ gıdalardan, çiğ etler

ve kümes hayvanları stafilokoklarla bulaşmış durumda olabilmekte fakat yarışmacı floraya karşı dayanamamaktadır. Mikroorganizma uygun gıdada yerleşmiş ve gıda buzdolabında depolanmamış ise yeterli sayıya kadar çoğalarak, enterotoksin üretmektedir (Cliver ve Riemann, 2002).

İnsanlar *S.aureus*'un başlıca taşıyıcısıdır. Sağlıklı bireylerin %30-50'si burun, koltukaltı, cilt dokusu, yutak dokusu, göbek dokusu, sindirim sistemi, ürogenital organlarında bulunmakta ve bunların %40-50'si de enterotoksin üreticisidir (Cosenza-Sutton, 2004).

1914 yılında Dr. M. A. Barber isimli araştırmacı stafilokoklar tarafından üretilen toksik bileşenlerle ilişkili buzdolabında saklanmamış süt kaynaklı gıda zehirlenmelerini ortaya koymuştur. 15 yıl sonra 1929'da, Dr. Gail M. Dack aynı bulguyu krema dolgulu yılbaşı kekleriyle yaptığı bir çalışma sonucu yinelemiştir (Wong ve Bergdoll, 2002).

Isıtma *S.aureus* inaktivasyonunda en etkili yöntemdir. Pastörizasyon işlemi için kullanılan sıcaklık-zaman sütteki inaktivasyonunu sağlamak için yeterli olmaktadır (Araujo ve diğ., 2002).

S.aureus'un patojenitesi enfeksiyon ve intoksikasyon olmak üzere iki temel yolla ortaya çıkmaktadır. Asıl önemli olan Stafilakokal gıda zehirlenmelerinden sorumlu maddenin sindirim sistemi üzerine etkisinden dolayı enterotoksinlerdir. Serolojik olarak birbirinden farklı 9 enterotoksin tanımlanmıştır. Bunlar enterotoksin A (SEA), B (SEB), C (SEC), D (SED), E (SEE), G (SEG), H (SEH), I (SEI) ve J (SEJ) şeklindedir. SEA enterotoksini stafilakokal gıda zehirlenmelerinde en çok identifiye edilendir. SED ikinci sırada gelmektedir. Genellikle mikroroganizmanın gelişmesi ve çoğalması enterotoksin oluşumu için gerekliken, özellikle gıdalarda toksin üretimi gelişmeyle birlikte görülmeyebilmektedir. Mikroorganizma mevcut olmasa da toksin hastalığa sebep olmaktadır (Cosenza-Sutton, 2004, Kınık ve diğ., 1998, Cliver ve Riemann, 2002).

Stafilakokal gıda zehirlenmeleriyle bağlantılı gıdalardan başlıcaları et (tavuk, domuz, kırmızı et), et ürünleri (sosis, sucuk, salam), salatalar, kremalı fırıncılık ürünleri ve süt ürünleridir.

Stafilakokal gıda zehirlenmeleri dünyada oldukça sık görülmektedir. Amerika'da %1-5 oranında vakanın rapor edildiği bildirilmiştir. Gerçek durumun bunun 10 katı

olduğu tahmin edilmektedir. Bu kadar az düzeyde rapor edilmesinin sebebi çok kısa sürede kendiliğinden iyileşmesi, doktora ihtiyaç duyulmaması ve kalıcı hasara neden olmamasıdır (Kınık ve diğ., 1998).

Belirtileri kontamine gıdanın tüketiminden sonra 1-6 saat içinde şekillenmekte ve mide bulantısı, öğürme, kusma, mide krampları ve diare ile kendini göstermektedir. Şiddetli vakalarda baş ağrısı, ateş, kas krampları, kan basıncının düşüşü de eşlik edebilmektedir. Çoğu durumda iyileşme hızla birkaç saat ya da 1 gün gibi hızla olmaktadır. Ölüm oldukça seyrek olmakla birlikte özellikle çocuklarda meydana gelebilmektedir (Cosenza-Sutton, 2004, Cliver ve Riemann, 2002).

2.1.1.2. Koliform bakteriler ve *Escherichia coli*

Koliform bakteriler Enterobacteriaceae ailesi içinde yer alan çok sayıda cins ve türü kapsayan oldukça geniş bir gruptur. Avrupa Birliğinin yasal düzenlemelerinde Koliform grubu bakterilerin tanımı ‘çubuk şeklinde, spor oluşturmayan, gram (-), oksidaz negatif, aerobik ya da fakültatif anaerobik, tuz ya da ona eşit gelişmeyi inhibe edici diğer yüzey aktif bileşenlerin varlığında gelişebilen ve 48 saatte $37\pm1^{\circ}\text{C}$ ’de laktozu fermente ederek gaz ve asit (ya da aldehit) oluşturabilen mikroorganizmalar’ şeklinde yapılmıştır (Rompere ve diğ., 2002).

Koliform bakteriler fekal kontaminasyonun belirteci olarak yasal düzenlemelerle kontrol edilmektedir. Sıcakkanlı hayvanların barsak mikroflorasında en yaygın bulunan koliform bakteri *E.coli* olduğundan, gıdalarda mevcudiyeti temelde fekal kontaminasyonla ilişkilidir ve mevcudiyeti yasalarla düzenlenmiştir (Doğan ve diğ., 2001)

E.coli, enterobacteriaceae ailesinin bir üyesi olan gram (-), tek veya çiftli olarak bulunan düz çubuk şeklinde, spor oluşturmayan fakültatif anaerobik mikroorganizmalardır. Hareketli ve hareketsiz olabilmektedirler. Optimum gelişme sıcaklıkları 37°C ’dir (Kınık ve diğ., 1998, Cliver ve Riemann, 2002).

Escherichia coli’nin insanlarda hastalıklarla olan ilişkisi ilk olarak Alman bakteriyolojist Theodor Escherich tarafından 1885 yılında çocukların dışkılarından izole edildiğinden beri bilinmektedir. Bu bulgunun ardından doğal yaşam ortamının sıcakkanlı hayvan ve insanların kalın barsakları olduğu ortaya konmuştur. Fırsatçı patojen olarak sınıflandırılabilen ve genellikle dışkı mikroflorasının %1’ini

oluşturmaktadır. Çoğu *E.coli* suşu gastrointestinal hastalığa neden olmazken bazıları yaşamı tehdit eden diyarenin nedeni olabilmektedir (Deisingh ve Thompson, 2004).

E.coli serolojik olarak 3 ana yüzey antijenine göre sınıflandırılmaktadır: O (somatik), H (flagella) ve K (kapsül). Suşların serogrubu O (somatik) antijeni ve serotipi ise H (flagella) antijeni ile olan kombinasyonu ile tanımlanmaktadır. *E.coli*'nin 170'den fazla serogrubu tanımlanmıştır. Diyareye sebep olan *E.coli* izolatları patojenite mekanizmalarına, klinik sendromlarına ve spesifik O:H serotiplerine göre farklı gruplar altında toplanmıştır. Bu gruplar, enterotoksijenik *E.coli* (ETEC), enteropatojenik *E.coli* (EPEC), enteroinvasiv *E.coli* (EIEC), enteroagregative *E.coli* (EAEC) ve enterohemorajik *E.coli* (EHEC) şeklindedir (Cosenza-Sutton, 2004).

1940'lı yılların başlarında İngiltere'de yeni doğan bebeklerde görülen yaz ishali ile *E.coli*'nin 3 patojen suşu tanımlanmıştır. Bunlar enterotoksijenik *E.coli* (ETEC), enteropatojenik *E.coli* (EPEC), ve enteroinvasiv *E.coli* (EIEC). 1982'de bunlara *E.coli* O157:H7 serotipinin neden olduğu hemorajik kolit ve hemolitik üremik sendrom (HUS)'un şekillendiği olan 2 salgın görülmüş ve böylece dördüncü patojen suş olan enterohemorajik *E.coli* sınıflandırmaya dahil edilmiştir.

ETEC suşları ince barsak mukozasında tutunarak ısıya duyarlı ve ısıya dayanıklı olmak üzere iki enterotoksin üretmektedir. Diyare mikroorganizmanın mukozaya tutunmasıyla değil oluşturduğu toksinlerin etkisiyle şekillenmektedir. Kontamine gıdalar ve su, ETEC infeksiyonlarının en önemli kaynağıdır (Kınık ve diğ., 1998, Cliver ve Riemann, 2002).

Gelişmekte olan ülkelerde, ETEC yeni doğanlar, çocuklar ve yaşlılarda görülen akut diyarenin büyük ölçüde sorumlusu olduğu için ölüm vakalarıyla da ilgili bulunmaktadır. Bununla birlikte gelişmekte olan ülkeleri ziyaretleri sırasında turistlerde şekillenen turist ishalinin de etkenidir. İnsanlarda enfeksiyonun oluşabilmesi için 10^6 hücrenin alınması gereklidir. İnkübasyon süresi 8-44 saat arasında değişmekle beraber ortalama 26 saattir. Hastalık süresi ise 24-30 saat olup sulu ishal ve dehidrasyona neden olmaktadır (Kyriakides ve Bell, 2002b).

EAEC suşları çocuklarda ısrarcı ishalin sebebidir. Bu suşların toksin üretimi yoktur. Mukozada ilerleyerek diyareye bazende diyare ile birlikte kusmaya neden olmaktadır (Cosenza-Sutton, 2004).

EPEC suşları da toksin üretmez ve mukoza da lezyonlara neden olarak yeni doğmuş bebekler ve çocuklarda şiddetli ishale sebep olmaktadır (Cliver ve Riemann, 2002).

EIEC suşları genetik ve patojenik olarak *Shigella* sp. ile yakından ilişkilidir fakat shiga toksin üretimi yoktur. Bu suşlar mukozadaki epitel hücrelerine nüfuz edip, çoğalarak hücrelerin ölümüne neden olmakta ve kanlı diyare, ateş meydana getirmektedirler (Ünlütürk ve Turantaş, 2003).

EHEC grubuna dahil birçok serotip vardır fakat O157:H7 serotipi en yaygın gıda patojenidir. Bu serotip ilk olarak 1982 yılında az pişmiş kıyma tüketimiyle ortaya çıkan 2 hemorajik kolit salgınından sonra tanımlanmıştır. 1992-1993 yılları arasında 700'den fazla insan bu mikroorganizmadan etkilenmiş ve 4 ölüm görülmüştür. CDC (Center for Disease Control and Prevention)'a göre EHEC Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl 200.000'den fazla vaka ve 250 ölüme neden olmaktadır. Diğer suşların kaynağı insanken, EHEC'in asıl kaynağının dana eti ve süt olduğu ve gıdaya sığır dışkısı, et ve süt işletmeleri aracılığıyla bulaştığı belirlenmiştir. *E.coli* O157:H7'nin patojenitesi ürettiği shiga toksini ile ilgilidir. Hemorajik kolit genelde 2-9 gün sürmekte ve karında ağrı, kramplar, sulu diyare ve devamında kanlı diyare bazen ateş ile seyretmektedir. Hemolitik üremik sendrom (HUS) kanlı ishal ile başlamakta ve kan pıhtıları böbreklerde tıkanmalara neden olması ve böbreklerin görevini yapamaması ile şekillenmektedir. Ölüm oranı yüksektir (Deisingh ve Thompson, 2004).

2.1.1.3. *Clostridium perfringens*

Clostridium perfringens, Bacillaceae ailesine mensup, gram (+), nispeten büyükçe, çubuk şeklinde, sporlu, kapsüllü, anaerobik, hareketsiz bir mikroorganizmadır. Mezofilik bir mikroorganizma olmasına rağmen optimum gelişme sıcaklığı 43-45°C gelişme aralığı 15-50°C'dir (Cliver ve Riemann, 2002). 6°C'de gelişebildiğine dair veriler de mevcuttur. Düşük pH ve a_w 'ye karşı tolerans gösterememektedir. Minimum gelişme pH'sı 5.5 ve a_w ise 0.95 olarak belirtilmektedir (Gibbs, 2002).

Cl.perfringens ilk olarak Birinci Dünya Savaşı sırasında gazlı kangrenle olan ilişkisi ile ortaya çıkmıştır. Gıda kaynaklı hastalıklardaki rolü, 1940'larda İngiltere ve Amerika'daki yağ ve tavuk etinin taşıyıcı olduğu salgınlarda izole edildiğinde iyice belirginleşmiştir. 1950'lerde Hobbs ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarla *Cl.perfringens*'i ısıya dayanıklı (az ya da hemolitik olmayan) ve ısıya duyarlı

(hemolitik) olmak üzere iki kategoriye ayırmıştır. 1969'da gıda zehirlenmesinden enterotoksinin sorumlu olduğu anlaşılmıştır (Novak ve Juneja, 2002).

CDC'nin (Centers for Disease Control) 1999'da yayınladığı yıllık raporunda Amerika'da meydana gelen gıda kaynaklı hastalıklarda etken olarak *Cl.perfringens*, *Campylobacter* ve *Salmonella* spp.'nin ardından 3. sırada gelmektedir (Novak ve Juneja, 2002).

Cl.perfringens gıda zehirlenmesi ne gerçekten intoksikasyon ne de enfeksiyondur. Hastalık, sıcaklık ihlallerine maruz kalmış çok sayıda ($>10^8$) canlı vejetatif hücre içeren gıdanın tüketimiyle ortaya çıkmaktadır. Hücreler mideden geçerek ince barsaklarda sporlanmaktadır. *Cl.perfringens* enterotoksini (CPE) olarak bilinen enterotoksin de sporlanma sırasında üretilmektedir. Çoğu suşu laboratuvar ortamında nadiren spor oluşturmakta ve enterotoksin mevcudiyeti sporlanmayı göstermektedir (Cliver ve Riemann, 2002).

Cl.perfringens kaynaklı gıda zehirlenmesi sağlıklı bireylerde yaşamı tehdit etmemektedir. Pişirildikten sonra açıkta soğumaya bırakılan gıdalar en riskli grubu oluşturmaktadır. Tipik olarak, hastalığın semptomları akut diyare ve karında ağrı ile kendini gösteren hastalığın inkübasyon süresi 8-24 saattir. Ateş nadiren görülmektedir. Belirtiler herhangi bir tedaviyi gerektirmeden 24 saat içinde kaybolmaktadır. Bazen kramplar 1-2 gün sürmektedir. Ölüm başlıca yaşlı ve hastanede yatan hastalarda olmak üzere seyrek olarak görülmektedir. Mide asitine dayanıklı olmadığından hastalığın şekillenebilmesi için 10^6 gibi çok sayıda mikroorganizma içeren gıdanın tüketilmesi gerekmektedir. Hastalığın kısa sürmesi ve semptomlarının hafif olması nedeniyle gerçek görülme sıklığının oldukça altında rapor edilmektedir (Gibbs, 2002; Ünlütürk ve Turantaş, 2003).

2.1.1.4. *Salmonella* spp.

Gıda kaynaklı gastroenteritis etkeni olan gram (-) çubuk şeklinde mikroorganizmalar içinde en önemlisi *Salmonella* spp. cinsi üyeleridir. Bugüne kadar *Salmonella*'nın 2400'den fazla serotipinin tanımlanmış olması nedeniyle de sınıflandırma ve taksonomide sorunlar yaşanmaktadır. Serotiplerin sayısı gün geçtikçe artmaktadır.

Salmonella'nın sınıflandırması yıllar içinde değişmiştir ve bugün enterica ve bongori olmak üzere iki türe ayrılmıştır. *S.enterica* 6 alttüre ayrılmıştır ve her bir alttür de çok sayıda serotipe sahiptir. *S.bongori* ise tek tür olarak mevcuttur. Bazı *Salmonella*

serotipleri konak ile ilişkilidir. *S.gallinarum* ve kümes hayvanları, *S.choleraesuis* ve domuz, *S.typhi*, *S.paratyphi* A ve insan gibi. Bununla beraber bazı suşlar bazı hayvanlara karşı daha patojendir. *S.choleraesuis* domuz, *S.dublin* sığırlara karşı etkili olmasına rağmen yine de insanlarda da hastalık oluşturabilmektedirler (Heng, 2000).

Çevrede oldukça yaygın olarak bulunan ve çok çeşitli gıda maddesinde ortaya çıkan *Salmonella* genusu Enterobacteriaceae familyasına dahil, gram (-), spor oluşturmayan, kısa çubuk şeklinde, genellikle hareketli ve fakültatif anaerobik mikroorganizmalardır. Çoğu *Salmonella* türü hareketli olmasına karşın *Salmonella gallinarum* ve *Salmonella pullorum* gibi flagellasız türleri de mevcuttur. *Salmonella* için en iyi gelişme sıcaklığı 35-37°C iken 5-47°C aralığında gelişebilmesi de olasıdır. Gelişiminin tamamen inhibe olabilmesi pH<3.8, sıcaklık<7°C ya da aw<0.94 olduğunda mümkündür. %3-4 tuz içeren ortamlarda gelişimi engellenmektedir. Isıya da oldukça hassas bir mikroorganizmadır. *Salmonella* pişirme, kaynatma ya da eşdeğeri kızartma ve pastörizasyon ile elimine edilebilmektedir. Dolayısıyla, süt ürünlerinde mevcudiyeti pastörizasyon sonrası kontaminasyona işaret etmektedir. *Salmonella* sp.'nin doğal yaşam ortamı kuşlar, insan ve çiftlik hayvanları gibi hayvanların sindirim sistemidir. Dolayısıyla bu mikroorganizma dışkı yoluyla çok geniş alanlara yayılabilmektedir. *Salmonella* sıcak kanlı hayvanlar ve insanların sindirim sisteminde yerleştiğinden dolayı hayvansal kaynaklı gıdalar özellikle de fekal kontaminasyon şüphesi olanlar hastalığın kaynağı olarak rol oynamaktadır. *Salmonella* sp.'ye çok sayıda gıdada rastlanmasına karşın yumurta, kümes hayvanları, et ve et ürünleri en sık rastlanan taşıyıcı gıdalardır (Brehm-Stecher, 2002, El-Gazzar ve Marth, 1992).

Salmonella insanlarda hafif veya şiddetli gıda zehirlenmeleri (gastroenteritis), veya daha şiddetli durumlarda tifo, paratifo, bakteriyemi, sepsisemi şeklinde klinik hastalıklara yol açabilmektedir. Şiddetli vakalarda salgınlar ve ölümler meydana gelebilmektedir (Donnelly, 1990).

İnsanların *Salmonella* nedeniyle hasta olabilmesi için canlı bakteri içeren gıdanın tüketilmesi gerekmektedir. Patojen sindirim sistemine girerek ince barsaklarda geliştikten sonra enterokolit ile sonuçlanan ince barsak yangısına neden olmaktadır. Salmonellosis semptomları kontamine gıdanın tüketiminden yaklaşık 12-36 saat sonra ortaya çıkmakta ve karında kramplar, mide bulantısı, kusma, diare ve ateş olarak kendini göstermektedir. Bazen dehidrasyon, baş ağrısı da görülebilmektedir.

Sonuçta *Salmonella* enfeksiyonunun mortalitesi düşük olmasına rağmen bebekler ve yaşlılar için yüksek olabilmektedir. Çoğu insan *Salmonella* enfeksiyonuna duyarlı olmasına rağmen gençler, yaşlılar, kronik hastalığı olan ya da bağışıklık sistemi baskılanmış kişiler daha duyarlıdır. Hastalık sırasında *Salmonella* dışkı ile çıkmakta sonrasında ise gittikçe azalarak kesilmektedir. Nadir olmakla birlikte bazı durumlarda kişi kronik taşıyıcı olabilir (Kyriaides ve Bell, 2002c).

Salmonella için enfektif doz yıllardır 10^6 'nın üzeri olarak bilinirken özellikle çikolata, peynir ve salam gibi yağ içeriği yüksek bazı gıdalarla ilişkili salgınlara neden olan enfektif dozun 10-100 hücre gibi oldukça az olduğu belirlenmiştir. Su aktivitesi ≥ 0.98 gibi yüksek gıdalarda *Salmonella* kolaylıkla sıcaklık ile ölmektedir. Fakat yağlı gıdalar gibi su aktivitesi düşük gıdalarda mikroorganizmayı öldürmek için daha yüksek sıcaklık gerekmektedir. Dondurulmuş gıdalarda su aktivitesi düşük olduğu için *Salmonella* aylarca hatta yıllarca canlılığını sürdürebilmektedir (Peng, 2000).

1993-97 yılları arasında CDC'nin raporuna göre *S. enteritidis* en yaygın görülen türdür. *S. enteritidis*, *S. typhimurium* ve *S. heidelberg* insanlardan her yıl en sık izole edilen üç serotiptir.

Süt ürünleri kaynaklı *Salmonella* salgınlarına bakıldığında 1985 yılındaki Chicago salgını pastörize süt tüketiminden kaynaklanmış ve 23.000 vaka bildirilmiştir (Kınık ve diğ., 1998). 1984 yılında Kanada da cheddar peyniri tüketimi ile >1500 vaka bildirilmiş ve 1983 yılında ise ABD'de mozzarella peyniri kaynaklı 16 vaka bildirilmiş ve bunların 2'si ölümle sonuçlanmıştır.

2.1.1.5. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes 1980'lerin başından itibaren gıda kaynaklı patojen olarak anılmaya başlanmıştır. Doğada oldukça yaygın olarak bulunmakta ve zaman zaman tüm çiğ gıda maddelerinde görülmektedir. Çiğ gıdalardaki mevcudiyetinin tamamen önlenmesi mümkün olmamakla beraber iyi hijyen uygulamaları ile gıdalarda rastlanma sıklığının ve miktarının azaltılabilmesi mümkündür.

Listeria cinsi *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* ve *Brochothrix* cinsleriyle birlikte Bacilli sınıfına dahildir. *Salmonella*'nın tersine *Listeria* cinsindeki mikroorganizmalar birbirinden çok farklı özelliklere sahiptir. *Listeria* ailesi içinde *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri* ve *L. grayi* olmak

üzere 6 tür mevcuttur. *L.monocytogenes* ve *L.innocua* gıdalarda en yaygın bulunan türlerdir. Bunlardan *L.monocytogenes*, *L. ivanovii* patojen türlerken, *L.ivanovii* seyrek olarak insanlarda hastalık meydana getirmektedir. *L.seeligeri* birkaç listeriosis vakasında izole edilmesine rağmen yinede patojen olmayan türler arasında yer almaktadır. Diğer patojen olmayan türler indikatör olarak rol oynamaktadır. Bunların gıdalardaki mevcudiyeti, patojen olan türlerin de mevcut olabileceğinin bir göstergesidir (Cosenza-Sutton, 2004, Kınık ve diğ., 1998, Ryser ve Marth, 1999).

Listeria monocytogenes gram (+), çubuk şeklinde, spor oluşturmayan , kapsülsüz, fakültatif anaerob, çevrede çok yaygın olarak bulunan bir mikroorganizmadır. *Listeria* sp. 20-25°C’de geliştiğinde birkaç peritrik flagella ile hareketlidir. Çok farklı çevresel koşullara dayanıklı olan mikroorganizmanın en önemli özelliği buzdolabı sıcaklığında bile yaşamını sürdürüp çoğalabilmesidir. Bu özelliği ile süt ürünlerinde önemli olmaktadır. Optimum gelişme sıcaklığı 30-37°C olan psikrotrof mikroorganizma 0°C ve 45-50°C’ler arasında da gelişebilmektedir. Nispeten tuza (%10’da gelişebilmekte, %20-30’da canlılığını sürdürebilmekte) ve düşük pH’ya (4.4’de gelişebilmekte) dayanıklıdır (Kyriakides ve Bell, 2002a).

Listeria monocytogenes’in neden olduğu gıda kaynaklı enfeksiyona listeriosis denilmektedir. Avrupa ve ABD’de yılda milyonda 2-10 vaka gibi çok az olay ortaya çıkmaktadır. Listeriosis vakalarına seyrek olarak rastlanmasına karşın mortalitesi %30’lara ulaştığından dolayı oldukça önem kazanmaktadır (Kınık ve diğ., 1998). Center for Disease Control and Prevention (CDC)’ın verilerine göre (http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/listeriosis_g.htm) ABD’de yılda yaklaşık 2500 listeriosis vakası ortaya çıkmakta ve bunun da %20’si ölümle sonuçlanmaktadır. Dolayısıyla gıdalarda hızlı tespitini sağlayan teknikler korunmada çok önemlidir.

Listeriosis’e karşı riskli grubu oluşturan kişiler organ nakli yapılmış hastalar, AIDS hastaları, hamileler, kanser hastaları ve yaşlılardır. *L.monocytogenes* çok çeşitli enfeksiyonlara neden olmakla birlikte uterus enfeksiyonuna neden olabilmekte, merkezi sinir sistemini etkileyebilmekte ve hamilelerde düşüklere, erken doğumlara ya da bebeğin hasta doğmasına neden olmaktadır. Bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde listeriosis’in klinik belirtileri menenjit ve septisemi şeklindedir. Hastalığın inkübasyon periyodu hastalığa maruz kalan kişinin hassasiyeti ve alınan doza bağlı olarak değişiklik göstermekle birlikte 24 saat ile 91 gün arasında olduğu

bildirilmektedir. Hastalığın semptomları da oldukça değişkendir. Üşütme benzeri kusma ve diareiden sepsisemi ve menenjitte kadar farklı semptomlar görülmektedir. Hamile kadınlar için özellikle önemli olan listeriosis düşüklerle neden olmaktadır. Fakat özellikle yaşlılar, yeni doğanlar ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde ölüm görülmektedir. *L.monocytogenes* hayvanlarla direk temas, yeni doğmuş bebeklerin hastanede çapraz kontaminasyonu ve gıda kaynaklı olmak üzere üç ana yolla bulaşmaktadır (Brehm-Stecher, 2002; Schlech, 2000).

Listeria doğada toprak, su, atıklar, çeşitli gıdalar ve insan, hayvan dışkısı gibi çok çeşitli kaynaktan izole edilmiştir. Bugüne kadar listeriosis vakalarıyla en çok ilişkili olan gıdalar yumuşak peynirler ve diğer süt ürünleri, et ürünleri, salatalar, tüketime hazır yemekler ve mezeler şeklinde listelenebilmektedir. Marketlerde satılan et ürünleri, pate ve sosisli sandviçler listeriosis salgınları ile ilişkili bulunmuştur. Bu ürünlerdeki nitrit mikroorganizma sayısını azaltmasına rağmen, gelişmesini önleyememektedir. *L.monocytogenes* çiğ meyve ve sebzelerde de oldukça yaygındır (Cliver ve Riemann, 2002).

L.monocytogenes pastörizasyonda canlı kalmamakta dolayısıyla süt ürünleri kaynaklı salgınların sebebinin pastörizasyon sonrası bulaşma neticesinde olduğu bildirilmektedir (Kınık ve diğ., 1998).

2.2. Kumpirde Bulunan Patojen Mikroorganizmalar

Bu çalışmada kumpirin seçilmesinde asıl etken içerisine tereyağı ve kaşar peyniri koyularak tüketilmesidir. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde tüketime hazır yemek ve mezeler bölümüne dahil edilerek ele alınmıştır. Peynir ve tereyağından gelebilecek patojen mikroorganizmalar dışında literatürde patates salatası ile ilişkili çok sayıda *Bacillus cereus* kaynaklı gastroenteritis salgını şekillendiği de görülmektedir.

Kanada'da 2002'de meydana gelen gastroenteritis salgınından sonra yapılan araştırma sonucu etken olan *B.cereus* patates salatasından izole edilmiştir (Gaulin ve diğ., 2002).

2.2.1. *Bacillus cereus*

Bacillus cereus, Bacillaceae ailesinin *Bacillus* cinsine aittir. Gelişmesinin başlangıcında vejetatif hücreler gram (+) fakat sonra değişebilen, sporlu, hareketli, fakültatif anaerobik çubuk şeklinde mikroorganizmalardır. Gelişme sıcaklıkları 5/15-35/50°C'ler arası, pH 4.3-9.3 arası a_w brot'da 0.95 ve pişmiş pirinçte 0.91 olarak belirtilmektedir. *Bacillus* cinsi oldukça karışık olmasına rağmen, 6 alt gruba ayrılabilir. Spor morfolojilerine dayanarak, *B.cereus* *B.subtilis* grubunun içinde sınıflandırılabilir. Bu grup içindeki 34 türden 2'si *B.cereus* ve *B.anthraxis* en yaygın patojenlerken yalnızca *B.cereus* gıda kaynaklı hastalıklarda rol oynamaktadır (Cosenza-Sutton, 2004; Gibbs, 2002).

Bacillus sp. türlerinin en önemli özelliği endospor oluşturmalarıdır. Bu sporlar ısıya, kurutmaya, gıda koruyucularına ve diğer çevresel koşullara vejetatif hücrelerden daha dayanıklıdır. *Bacillus* cinsi içindeki bakteriler genellikle bir taşıyıcıya ihtiyaç duymadan bağımsız olarak canlılıklarını sürdürmekte ve sporları doğada yaygın olarak bulunmaktadır. *Bacillus* sp. türleri toprakta saprofit olarak yaygın şekilde bulunarak makarna, pirinç, et, yumurta ve süt ürünleri gibi çok çeşitli gıdayı kontamine edebilmektedir (Cliver ve Riemann, 2002).

Normalde *B.cereus* çevresel suşları 10°C altındaki sıcaklıklarda gelişme göstermemektedir. Fakat son yıllarda, buzdolabı sıcaklıklarında depolanan gıdalardan psikrotrofik suşlar izole edilmiş ve gıda endüstrisinde hazır yemekler açısından artan bir öneme sahip olmuştur. Çeşitli çalışmalar *B.cereus*'un buzdolabı sıcaklığında dahi enterotoksin oluşturabildiğini göstermiştir (Duffrene ve diğ., 1994).

Bacillus cereus gıda patojenidir ve diyare ve emetik olmak üzere iki tip gıda zehirlenmesine neden olduğu bilinmektedir. Diyare-tip 1955'de Hauge tarafından yapılan gönüllülerin katıldığı deneysel çalışma ile kanıtlanmıştır. Diyare-tipi *B.cereus*'un vejetatif hücrelerinin ince barsaklarda ürettiği enterotoksin nedeniyle meydana gelmektedir. Diyare-tipin sebebi olan enterotoksin tam olarak aydınlatılamamış olmasına rağmen ısıya ve aside karşı duyarlı, protein yapısındadır. Diyare tipi gıda zehirlenmesinin inkübasyon süresi 8-16 saat arasında değişmekte olup, hastalık 12-24 saat sürmektedir. Zehirlenme belirtileri karında kramplar, ishal ve seyrek olarak da mide bulantısı şeklindedir. Bu semptomları ile *C.perfringens* zehirlenmesine benzemektedir. (Cosenza-Sutton, 2004, Ünlütürk ve Turantaş, 2003).

Gıda kaynaklı bir hastalık olan emetik tip ise mikroorganizmanın gıdalarda gelişmesi ve toksin üretmesi sonucu oluşmaktadır. Toksin ısıya ve pepsin, tripsin başta olmak üzere aside dayanıklıdır. Daha ağır seyreden emetik tip gıda zehirlenmesinde ise inkübasyon süresi 0.5-5 saat ve hastalık süresi 6-24 saattir. Belirtileri arasında mide bulantısı, kusma ve seyrek olarak da diyare görülmektedir. Hastalık *S.aureus* zehirlenmesine benzemektedir. Her iki tipte de ölüm seyrek olarak görülmektedir (Gibbs, 2002). Tablo 2.1’de diyare ve emetik tipin özellikleri gösterilmiştir.

Tablo 2.1. *Bacillus cereus* ile ilişkili gıda kaynaklı hastalıklar (Cliver ve Riemann, 2002)

Özellik	Diyare tip	Emetik tip
İnkubasyon periyodu	8-16 saat	0.5-5 saat
Hastalık süresi	12-24 saat (>24)	6-24 saat
Enfektif doz	10^5 - 10^7 sindirimde	Gıdada 10^5 - 10^8 hücre/g
Semptomlar	Karında ağrı, sulu diyare, seyrek olarak mide bulantısı	Mide bulantısı, kusma, seyrek olarak diyare
Salgınlarla ilişkili gıdalar	Et ürünleri, çorbalar, süt ve süt ürünleri, sebzeler, puding ve soslar	Pirinç, makarna, hamur işi ürünler

Gıdalar ısıtılma işlemi görsen sporlar canlı kalmakta ve ısıtılma işlemi sporların germinasyonuna neden olmakta ve yarışmacı flora olmadığı takdirde *B.cereus* iyi bir şekilde gelişebilmektedir. Özellikle servis öncesi bir süre bekletilen nişastalı gıdalar *B.cereus* zehirlenmesine duyarlı gıdalardır (Duffrene ve diğ., 1994).

Mikroorganizma, sayısı $>10^5$ gibi yüksek olduğu sürece toksin üretmekte ve tüm insanlarda enfeksiyona neden olabilmektedir. Gastroenteritis’e neden olmakta ve uzun vadede bir etkisi görülmemektedir. Bitkisel orijinli tüm çiğ gıdalar *B.cereus*’un kaynağı olarak rol oynamaktadırlar. Organizmanın geniş dağılımı, sporlarının ısıtılma direnci ve depolamada canlı kalabilmesi dolayısıyla tüketime hazır yiyeceklerin çoğu bu mikroorganizma ile kontamine olabilmektedir. Gıdalar dışında da doğada toz, toprak, su ve atıklarda da oldukça yaygındır (Robinson ve diğ., 2000).

B.cereus kaynaklı gıda zehirlenmelerinin çoğunda pişmiş gıdaların yavaşça soğutulup yanlış depolandıkları görülmüştür. Emetik tipte zehirlenmelerin çoğunun

pirinç ürünleri ya da patates ve makarna gibi nişastalı ürünlerin tüketimiyle ilişkili olduğu görülmektedir. Diyare-tipte ise *B.cereus*'un gelişerek yüksek sayılara kadar çoğalabildiği tüm gıdalar sorumludur (Gibbs, 2002, Robinson ve diğ., 2000).

2.3. Peynir, Tereyağı ve Kumpir ile İlgili Mikrobiyolojik Standartlar

Dünyada uygulanan mikrobiyolojik standartlar ülkelere göre farklılık göstermektedir. Çalışmamızda uygulanan mikrobiyolojik analizlerin belirlenmesi ve sonuçların yorumlanması, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı ile Sağlık Bakanlığı tarafından hazırlanıp 2.9.2001 tarihli resmi gazetede yayınlanmış olan 'Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği' (TGKMKT-Tebliğ No: 24511) esas alınarak yapılmıştır.

Nem içeriği ile ilgili olarak kaşar peyniri için 3272 (1989) no.lu, tereyağı için 1331 (1989) no.lu Türk Standardı temel alınmıştır. Kumpir için ise ABD Tarım Bakanlığına (USDA) ait gıdaların besin değerlerinin verildiği veritabanı kullanılmıştır.

2.3.1. Kaşar peyniri ile ilgili standartlar

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde peynirlere ait genel kriterler mevcuttur. Kaşar peyniri için ayrı standart yoktur. Bu tebliğde yer alan peynirlere ait mikrobiyolojik kriterler Tablo 2.2'de görülmektedir.

Tablo 2.2. Peynirlere ait mikrobiyolojik kriterler (TGKMKT, 2001)

	n	c	m	M
Koliform*	5	1	9	95
E.coli*	5	0	<3	—
Salmonella sp.	5	0	25 g'da bulunmayacak	
L.monocytogenes	5	0	25 g'da bulunmayacak	
S.aureus (kob/g)	5	1	1.10 ¹	1.10 ²
Cl.perfiringens(kob/g)	5	1	1.10 ¹	1.10 ²
Maya** (kob/g)	5	2	1.10 ²	1.10 ³
Küf** (kob/g)	5	2	1.10 ¹	1.10 ²

* EMS tablosuna göre (/g)

** Küf starterleri ve/veya maya ile olgunlaştırılan peynirlerde küf ve maya sayımı yapılmayacaktır.

Eritme peynirlerde aerobik mezofilik bakteri sayısı; n:5, c:2, m:1.10³, M: 1.10⁴’dür.

TS 3272 (1989)’da kaşar peynirinin nem içeriğinin kütlege en çok %40 olabileceği belirtilmektedir.

2.3.2. Tereyağı ile ilgili standartlar

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği’nde belirtilen tereyağına ait değerler Tablo 2.3’de görülmektedir.

Tablo 2.3. Tereyağına ait mikrobiyolojik kriterler (TGKMKT, 2001)

	n	c	n	M
Koliform*	5	2	<3	9
E.coli*	5	1	<3	9
S.aureus (kob/g)	5	2	1.10 ¹	1.10 ²
Salmonella sp.	5	0	25 g’da bulunmayacak	
L.monocytogenes	5	0	25 g’da bulunmayacak	
Maya (kob/g)	5	1	1.10 ¹	1.10 ²

* EMS tablosuna göre (/g)

TS 1331 (1989)’a göre kahvaltılık ve mutfak tereyağlarının nem miktarı kütlege en çok %16 olmalıdır.

2.3.3. Kumpir ile ilgili standartlar

Tebliğde kumpir ile ilgili birebir değerler mevcut değildir. Bu çalışmada tüketime hazır günlük yemek ve mezelere ait mikrobiyolojik değerler kullanılmıştır ve bu değerler Tablo 2.4’de gösterilmiştir.

Tablo 2.4. Tüketime hazır günlük yemek ve mezelere ait mikrobiyolojik kriterler (TGKMKT, 2001)

	n	c	n	M
E.coli*	5	2	<3	9
B.cereus	5	1	1.10 ²	1.10 ³
S.aureus	5	2	1.10 ¹	1.10 ²
Cl.perfiringens	5	1	1.10 ¹	1.10 ²
Salmonella sp.	5	0	25 g'da bulunmayacak	

* EMS tablosuna göre (/g)

2.4. VIDAS'ın Diğer Yöntemler ile Karşılaştırılmasına Ait Çalışmalar

Gıdalarda patojen mikroorganizmaların tayininde kullanılan konvansiyonel yöntemler oldukça zaman almakta ve işgücü gerektirmektedir. Özellikle *Salmonella* ve *Listeria monocytogenes* gibi minimum enfektif dozu tam olarak belirlenememiş mikroorganizmalar için dünyada pek çok ülkede gıdaların 25 gramında bulunmayacak şeklindeki yasal düzenlemeler nedeniyle bu mikroorganizmaların tayininde sadece negatif sonuç almak yeterli olmaktadır.

Gıdalarda patojen mikroorganizmaların tayininde kullanılmak amacıyla klasik yöntemlerin dışında daha hızlı tekniklerde her gün yeni gelişmeler sağlanmaktadır. Analiz yöntemlerini, standart analiz teknikleri ve hızlı teknikler olarak ikiye ayırmak yanlış olmaz. Gıdaların mikrobiyolojik analizinde kullanılan hızlı mikrobiyolojik teknikler ana başlıklar halinde aşağıdaki şekilde sıralanabilir:

1. Hidrofobik Grid Membran Filtre Tekniği (HGMF)
2. Direkt Epifluoresans Mikroskopi Tekniği (DEFT)
3. ATP Biyoluminesans Yöntemi
4. Elektrik İmpedans Yöntemi
5. Enzim İmmunesesey Yöntemi
6. Polimeraz Zincir Reaksiyonları (PCR)

7. DNA Hibridizasyon Yöntemi

Bu çalışmada kullanılan tamamen otomatik mini-VIDAS cihazı hızlı teknikler içinde yer alan enzim immunoassay yöntemi olan ELFA (Enzyme-linked fluorescent assay) prensibi ile çalışmaktadır. Cihaz *Salmonella* ve *Listeria monocytogenes* antijenlerini Enzim Bağlantılı Floresan Analiz (Enzyme-linked fluorescent assay - ELFA) prensibi ile tespit etmekte ve iki kompartmanında aynı anda 12 numune analizleyebilmektedir. Katı Faz Haznesi (SPR), katı faz olarak kullanılmakta ve analiz için pipet görevi görmektedir. SPR'nin iç kısmı, yüzeyine adsorbe edilmiş anti- *L. monocytogenes* ve *Salmonella* spp. antikorları ile kaplanmıştır. Testlerde görev yapan antikorlar monoklonal antikorlardır. Analizin reaktifleri, kapalı reaktif şeritleri içerisinde kullanıma hazır ve önceden dağıtılmış durumdadır. Analizin son kademesinde substrat (4-metil-umbelliferil fosfat) fluorens veren ürünlere (4-metil-umbelliferon) hidrolize olmakta ve bu fluorens 450nm'de ölçülerek cihaz tarafından sonuç pozitif/negatif şeklinde kalitatif olarak alınmaktadır.

2.4.1. *Listeria monocytogenes*

Listeria genellikle gıdalarda az sayıda bulunduğundan, tayini zor bir bakteridir. Tespit edebilmek için sayısını artırmak amacıyla önzenginleştirme ve selektif zenginleştirme olmak üzere iki aşamalı zenginleştirme uygulanmaktadır. *Listeria monocytogenes*'in klasik yöntem ile tayin ve identifikasyonu; önzenginleştirme, selektif zenginleştirme, selektif izolasyon ve doğrulama olmak üzere 4 aşamadan oluşmaktadır. Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO), Uluslararası Sütçülük Federasyonu (IDF), ABD Gıda-İlaç Kuruluşu (FDA) tarafından belirtilen klasik yöntemler birbirinden kullanılan besiyerleri ve inkübasyon süreleri ile ayrılmaktadır.

Konvansiyonel yöntem çok kullanılmasına rağmen negatif ya da pozitif sonuç almak için en az 5 güne ihtiyaç duyulması ve kısa raf ömrü olan gıdalara uygulanamayabilir olması dolayısıyla bazı sorunlar yaratmaktadır. Antikorlara (ELISA) ya da moleküler tekniklere (DNA hibridizasyon) dayalı olarak geliştirilen yöntemler çok hassas oluşları, baskılanmış ya da hasarlı mikroorganizmaları da tespit edebilmeleri ve daha ileri düzeyde tür düzeyinde tayin sağlamaları nedeniyle diğer yöntemlere karşı avantajlara sahiptir. Avantajları yanı sıra saf kültüre ve tayin aşamasında 10^4 - 10^5 gibi yüksek düzeyde mikroorganizmaya ihtiyaç duyulması da dezavantajlarıdır. Diğer bir

genetiğe dayalı yöntem olan Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), yalnızca *Listeria monocytogenes*'te bulunan DNA parçasını hedef alarak çapraz reaksiyonları en aza indirmektedir. Diğer yöntemlerde olduğu gibi bu yöntemde de 48 saat zenginleştirmeye gereksinim duyulmaktadır. Son yıllarda RNA'yı hedef alan moleküler teknikler geliştirilmiştir. Bu testler yalnızca hücre canlılığını ölçmekle kalmaz aynı zamanda kantitatif analizlerde de kullanılabilir. Ayrıca özellikle epidemiyolojik araştırmalarda alttürlerin karakterizasyonunda kullanılmak üzere çok sayıda test mevcuttur (Gasnov ve diğ.,2005).

Vaz-Velho ve diğ. (2000); mini-VIDAS cihazının *Listeria monocytogenes* tayinindeki etkinliğini belirlemek amacıyla Portekiz'deki 3 işletmeden temin ettikleri taze ve soğuk-isli balık örneklerinde çalışmışlardır. 295 balık örneği hem mini-VIDAS *Listeria monocytogenes* hem de ISO 11290 konvansiyonel yöntemuna göre analizlenmiştir. Sonuçta mini-VIDAS cihazı 11 doğrulanmış pozitif örneğin 8'ini tespit etmiş ve 11 hatalı pozitif sonuç vermiştir. Mini-VIDAS-LMO sisteminin spesifikliğı 0,96 ve hassasiyeti 0,73 olarak bulunmuştur.

Sewell ve diğ. (2003); 324 doğal kontamine örnek (44 çiğ süt ürünü, 4 çiğ yumurta, 105 çiğ balık, 81 çiğ et, 90 çiğ sebze) klasik yöntem ve VIDAS cihazı kullanılarak *Listeria* spp. mevcudiyeti açısından analizlenmiştir. VIDAS cihazının etkinliğı %97,5 olarak bulunurken hassasiyet %98,1 spesifiklik ise %97 bulunmuştur. Hatalı negatif ve pozitif sonuç verme oranı sırasıyla %1,9 ve %3 olarak bulunmuştur.

VIDAS cihazı ve standart kültür yönteminin *Listeria monocytogenes*'in tayinindeki etkinliğinin araştırıldığı bir başka çalışmada dondurma, peynir, pişmiş et, dondurulmuş yeşil fasulye olmak üzere 4 farklı gıda, mikroorganizma ile düşük ve yüksek olmak üzere iki düzeyde aşılandıktan sonra her iki yöntemle analize alınmıştır. İki yöntem arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark tespit edilmemiştir (Silbernagel ve diğ., 2004).

2.4.2. *Salmonella* spp.

Salmonella'nın klasik yöntem ile tayininde önzenginleştirme, selektif zenginleştirme, selektif katı besiyerine sürme, biyokimyasal testler ve serolojik doğrulama vardır. Bu yöntem işgücü ve 5-7 gün arasında zaman gerektirmektedir. Bu yöntemde *L.monocytogenes*'te olduğu gibi çeşitli kuruluşlar tarafından farklı besiyerleri ve inkübasyon sıcaklıkları önerilmektedir.

Daha hızlı ve hassas yöntemler olan DNA hibridizasyon, enzim immunoassay yöntemi (ELISA), polimeraz zincir reaksiyonu ve bakteriyofaj yöntemleri ile *Salmonella* tayininde güvenilir sonuçlar alınmıştır. Zamandan ciddi tasarruf sağlaması ve tür düzeyinde tayin yapması bu yöntemlerin en önemli avantajlarıdır. Gıdalarda *Salmonella* sayısı az olduğu için hızlı yöntemler için yine 2 basamaklı zenginleştirme kullanılmaktadır (Peng, 2000).

Günümüzde *Salmonella* için çok sayıda ticari doğrulama yöntemi bulunmakta ve bunun yanı sıra klasik yöntemi kısaltmak ve duyarlılıklarını artırmak için çalışmalar yapılmaktadır.

Walker ve diğ. (2001); California'da suthanelerde filtrelerden ve tanklar içindeki sütlerden aldıkları 600  rneği konvansiyonel yöntem ve VIDAS cihazı kullanılarak *Salmonella* açısından analizlenmiştir. İki yöntem arasındaki korelasyon %95,57 olarak bulunmuştur.

McMahon ve diğ. (2004), FDA'nın klasik yöntemi ve AOAC'nin VIDAS cihazı ile gıdalarda *Salmonella* sp. tayinindeki etkinliğini belirlemek için yaptıkları çalışmada iki yöntem arasında istatistiki olarak fark olmadığını belirlemişlerdir.

Kümes hayvanlarının etlerinde *Salmonella* tayininde klasik kültürel yöntem, modifiye yarı-katı Rappaport-Vassiliadis (MRSV) yöntemi ve VIDAS cihazının etkinliğinin karşılaştırıldığı bir başka çalışmada, yöntemler arasında  onemli fark bulunmamışken, VIDAS sistemi zamandan tasarruf sağlaması ile, MRSV yöntemi ise ucuz oluşu ile klasik yöntemden daha avantajlı olduğu sonucuna varılmıştır (De Medici ve diğ., 1998).

Uyttendaele ve diğ. (2003), kümes hayvanı ve kırmızı ette *Salmonella* tayininde PCR, VIDAS ve klasik yöntemi karşılaştırmışlardır. Sonuçta klasik yöntemin PCR yöntemi ile %92, VIDAS yöntemi ile %95 düzeyinde uyum sağladığı bulunmuştur.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu araştırmada kullanılan 42 tereyağı, 42 kaşar peyniri ve 38 kumpir rneği, şubat 2005-Mayıs 2005 tarihleri arasında İstanbul piyasasından temin edilmiştir. 250'şer gram tereyağı ve kaşar peyniri rneği steril stomacher torbalarına konulmuş, soğutma modülleri içeren izolasyonlu çanta içerisinde laboratuvara götürülerek 24 saat içinde analize alınmıştır.

Aşılama çalışmalarında kullanılmak üzere *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) ve *Salmonella typhimurium* (ATCC 1428) saf kültürleri İstanbul İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'nden temin edilmiştir.

Yöntem karşılaştırılmasında kullanılan mini-VIDAS (BioMerieux, Vitek) cihazı bioMerieux Türkiye'den temin edilmiştir. şekil 3.1'de cihazın resmi verilmiştir.



şekil 3.1. Mini-VIDAS cihazının görünümü

3.2. Metot

Çalışmaya İstanbul piyasasından elde edilen örneklerde patojen mikroorganizma aranmasıyla başlanmıştır. Bu amaçla, örneklerde, Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine göre toplam koliform, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, ile toplam maya ve küf analizleri yapılmıştır.

Çalışmada ayrıca; yöntem karşılaştırması için tereyağı, kaşar ve kumpir örnekleri; *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella typhimurium* ile aşılandıktan sonra geleneksel yöntem ve mini-VIDAS cihazı kullanılarak analizlenmiştir.

3.3. Örneklerin Analize Hazırlanması

Örneklerde önce mikrobiyolojik analizler yapılmış, kalan kısmı nem, pH ve su aktivitesi (a_w) analizlerinde kullanılmak üzere ayrılmıştır.

10 g örnek steril stomacher torbasına, aseptik şartlarda tartılarak üzerine 90 ml. peptonlu su ilave edilmiş ve stomacher (seward 400) cihazında yüksek hızda 2 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Homojenize edilen bu sıvıdan $1:10^2$ - $1:10^6$ dilüsyonları hazırlanarak koliform grubu bakteriler ile *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, küf ve maya analizlerinde kullanılmıştır.

25 g örnek 225 ml tamponlu pepton su içeren kavanozlara tartılarak *Salmonella* spp. analizi için önzenginleştirme işlemi yapılmıştır.

25 g örnek steril stomacher torbasına tartılarak üzerine 225 ml. fraser broth ilave edilmiş ve stomacher cihazında 2 dakika yüksek hızda homojenize edilerek *Listeria monocytogenes* analizi için önzenginleştirme işlemi yapılmıştır.

3.4. Mikrobiyolojik Analizler

3.4.1. Koliform bakterilerin izolasyonu

Tereyağı, kaşar peyniri ve kumpirde koliform ve *E.coli* izolasyonu Harrigan (1998)'da belirtilen EMS yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

3.4.1.1. Toplam Koliform izolasyonu

Örnekler 1:10 oranında steril peptonlu su (%0.1) ile stomacher cihazında homojenize edildikten sonra 10^{-2} , 10^{-3} dilüsyonlarının herbirinden durham tüpü içeren 3'er adet Modifiye Lauryl Sulphate Tryptose Brot (MLTB) besiyerine 1'er ml ekim yapılarak 35°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gaz oluşumu gözlenen tüpler pozitif olarak kaydedilmiş ve pozitif tüp kombinasyonu belirlenerek en muhtemel sayı (EMS) tablosundan ilgili kombinasyon için verilen sayı 'gramda toplam koliform sayısı' olarak değerlendirilmiştir.

3.4.1.2. *Escherichia coli* izolasyonu

İnkübasyon süresi sonunda gaz oluşumu gözlenen MLTB tüplerine Kovac's ayırıcı eklenerek indol reaksiyonu gözlenmiştir. Kovac's ayırıcı ilave edildikten sonra kırmızı renk oluşan tüpler indol pozitif olarak kabul edilmiş ve pozitif tüp kombinasyonu kaydedilerek en muhtemel sayı (EMS) tablosundan sözkonusu tüp kombinasyonu için verilen sayı 'gramda *Escherichia coli* sayısı' olarak değerlendirmeye alınmıştır.

3.4.2. *Staphylococcus aureus* izolasyonu

S.aureus izolasyonu için bölüm 3.3'de belirtildiği şekilde hazırlanan dilüsyonlardan Baird-Parker Agar (BPA) besiyerine 0,3, 0,3, 0,4 ml olacak şekilde 3 petriye yayma plak yöntemiyle ekimler yapılmış, 35-37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. 48 saat inkübasyon sonunda yuvarlak, 2-3mm çapında düzgün kenarlı konveks gri/siyah renkli etrafında şeffaf bir zon bulunan koloniler şüpheli *S.aureus* kolonileri olarak kabul edilmiş ve koagülaz testi uygulanmıştır. Koagülaz pozitif olan kolonilere katalaz testi ve gram boyama uygulanmıştır (ISO/6888-1, 1999).

3.4.3. *Clostridium perfringens* izolasyonu

Clostridium perfringens izolasyonu için bölüm 3.3'de belirtildiği şekilde hazırlanan dilüsyonlardan Differential Reinforced Clostridial brot (DRCM) besiyerine EMS yöntemine göre ekim yapılarak anaerobik ortam sağlamak amacıyla tüplere sıvı parafin (%2'lik agar) ilave edilip üzerleri kapatıldıktan sonra 35°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Siyah renk alan tüpler pozitif kabul edilmiş ve pozitif tüp kombinasyonu belirlenerek en muhtemel sayı (EMS) tablosundan ilgili kombinasyon için verilen sayı 'gramda *Cl. perfringens* sayısı' olarak ifade edilmiştir (Harrigan, 1998).

3.4.4. *Bacillus cereus* izolasyonu

Bacillus cereus izolasyonu için tekrar bölüm 3.3’de belirtildiği şekilde hazırlanan dilüsyonlardan Mannitol Egg-yolk Polymyxine (MYP) agar besiyerine mikroorganizma sayısının düşük olabileceği düşünülerek 0.3, 0.3, 0.4 ml olacak şekilde 3 petriye ekim yapıldıktan sonra 30-32°C’de 18-40 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petrilere gelişmiş olan pembe/mor renkli, etrafi opak zon ile çevrili koloniler şüpheli kabul edilmiş ve saflaştırma amacıyla koloniler nutrient agar besiyerine alınarak, 30°C’de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Saf halde izole edilen kolonilere doğrulama amacıyla glikoz ve Voges-Proskauer testleri uygulanmıştır (ISO 7932, 2004).

3.4.5. Maya ve küf izolasyonu

Maya ve küf sayımında geleneksel agar ekimine alternatif olarak geliştirilmiş daha hızlı kültürel bir teknik olan petrifilm kullanılmıştır (Robinson ve diğ., 2000). Bölüm 3.3’de belirtildiği şekilde hazırlanan dilüsyonlardan paralel olarak petrifilm’e 1ml ekim yapılmış ve 45°C’de 5 gün süre ile inkübe edilmiştir. 3. gün düzgün kenarlı, yeşil renkli, küçük koloniler sayılarak maya sonucu olarak kaydedilmiş, 5.gün sonunda ise yaygın, kenarları düzgün olmayan, büyük, kahverengi koloniler sayılarak küf sonucu olarak kaydedilmiştir (Taniwaki ve diğ., 2001).

3.4.6. *Listeria monocytogenes* izolasyonu

Listeria monocytogenes izolasyonu amacıyla klasik ve mini-VIDAS yöntemi olmak üzere iki farklı yöntem kullanılmıştır. Aşağıda her iki yöntem de ayrıntılı olarak anlatılmıştır.

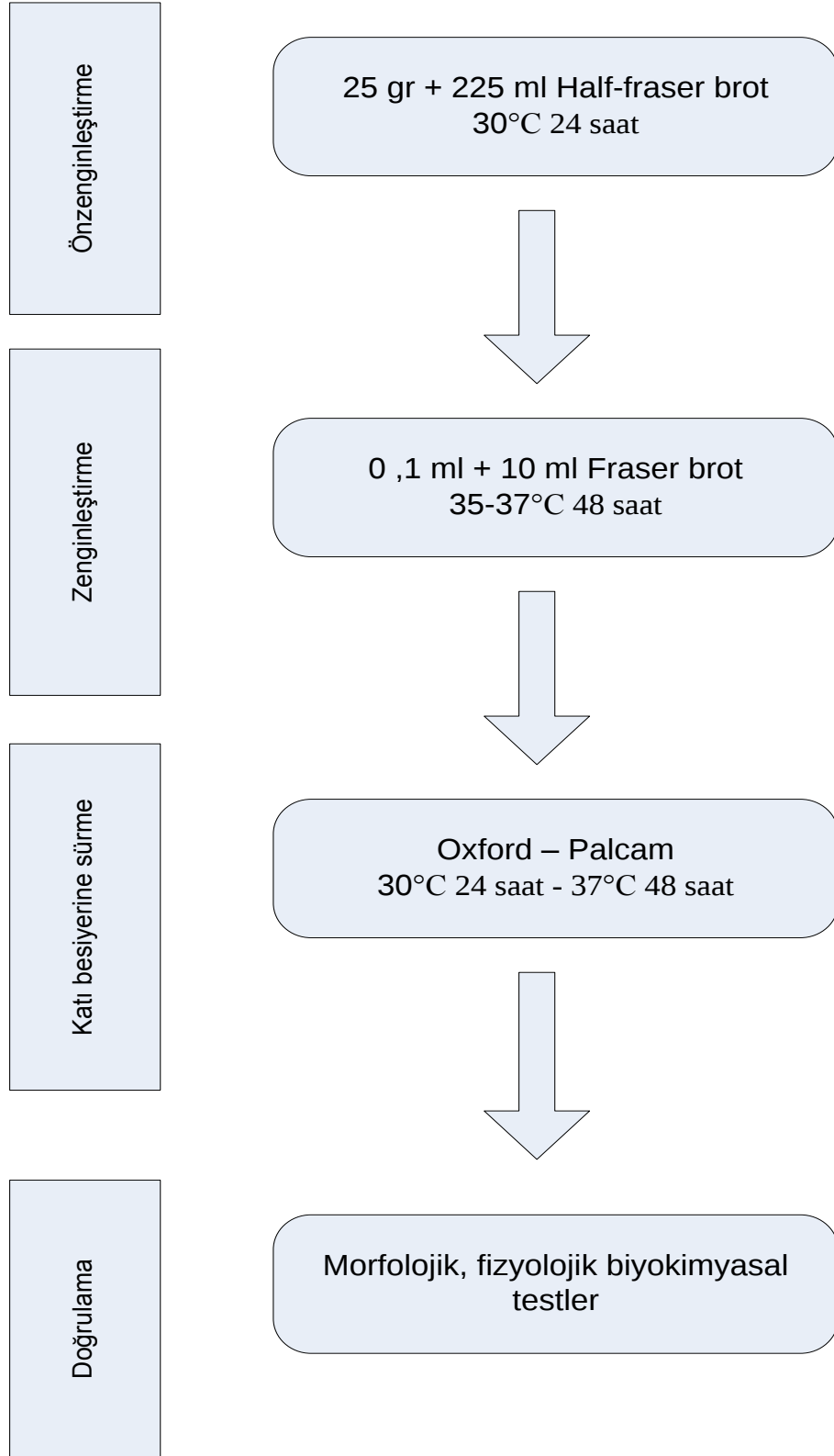
3.4.6.1. *Listeria monocytogenes*’in klasik yöntem ile izolasyonu

L.monocytogenes’in klasik yöntem ile izolasyonunda Şekil 3.2’de gösterilmiş olan ISO 11290 metodu kullanılmıştır. Yöntemde önzenginleştirme amacıyla steril stomacher torbasına 25 gr. tartılan örnek üzerine 225 ml. half-fraser brot ilave edilerek yüksek hızda 2 dakika süreyle homojenize edildikten sonra 30°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda önzenginleştirme kültüründen 10 ml fraser brot içeren besiyerine 0,1 ml ekim yapılarak 35-37°C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Fraser brot kültüründen PALCAM agar ve/veya OXFORD agar besiyerlerine sürme ekim yapılarak OXFORD için 30°C’de 24 saat ve PALCAM için

37°C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda PALCAM agardaki gri-yeşil, siyah zonlu, yuvarlak koloniler ve OXFORD agardaki kahverengi-siyah, siyah zonlu, yuvarlak, küçük koloniler şüpheli kabul edilerek doğrulaması yapılmıştır. Doğrulama için şüpheli kolonilerden Tryptic Soy Yeast Ekstrakt Agara (TSYEA) ekim yapılarak 35-37°C’de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. TSYEA besiyerinde gelişen 1-2 mm çapında konveks, renksiz-opak kolonilere katalaz testi ve gram boyama testi uygulanmıştır. Gram pozitif, uçları yuvarlak, kısa çubuk görünümünde katalaz pozitif kolonilerden hemoliz testi için kanlı agara sürme ekim yapılarak 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

3.4.6.2. *Listeria monocytogenes*’in mini-VIDAS cihazı ile izolasyonu

Listeria monocytogenes’in mini-VIDAS cihazı ile analizinde AFNOR (Association Française de Normalisation) BIO 12/9-07/02 no’lu yöntem takip edilmiştir. Önzenginleştirme amacıyla 25 gr örnek steril stomacher torbasına tartıldıktan sonra üzerine 225 ml half-fraser brot ilave edilerek stomacher cihazında yüksek hızda 2 dakika süreyle homojenize edilip, 30°C’de 24-26 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda 1 ml alınarak 10 ml. fraser brot içeren tüplere aktarılmış ve 30°C’de 24-26 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 500 µl alınarak mini-VIDAS cihazında analizlenmek üzere kite konulmuş ve sonuç 70 dakikada alınmıştır. Pozitif sonuç alınan örneklerin doğrulamasının yapılması için fraser brot’daki kültürden PALCAM ve/veya OXFORD selektif besiyerlerine sürme ekim yapılarak 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kahverengi-siyah koloniler şüpheli kabul edilerek gram boyama ve katalaz testi uygulanıp kanlı agara ekimleri yapılmıştır. Kolonilerin tür düzeyinde belirlemelerinin yapılması amacıyla API kiti (BioMerieux) kullanılmıştır. API kiti kullanım talimatında belirtildiği şekilde hazırlanarak 24 saat 30°C’de inkübe edilmiş, sonuç bilgisayar programı kullanılarak alınmıştır.



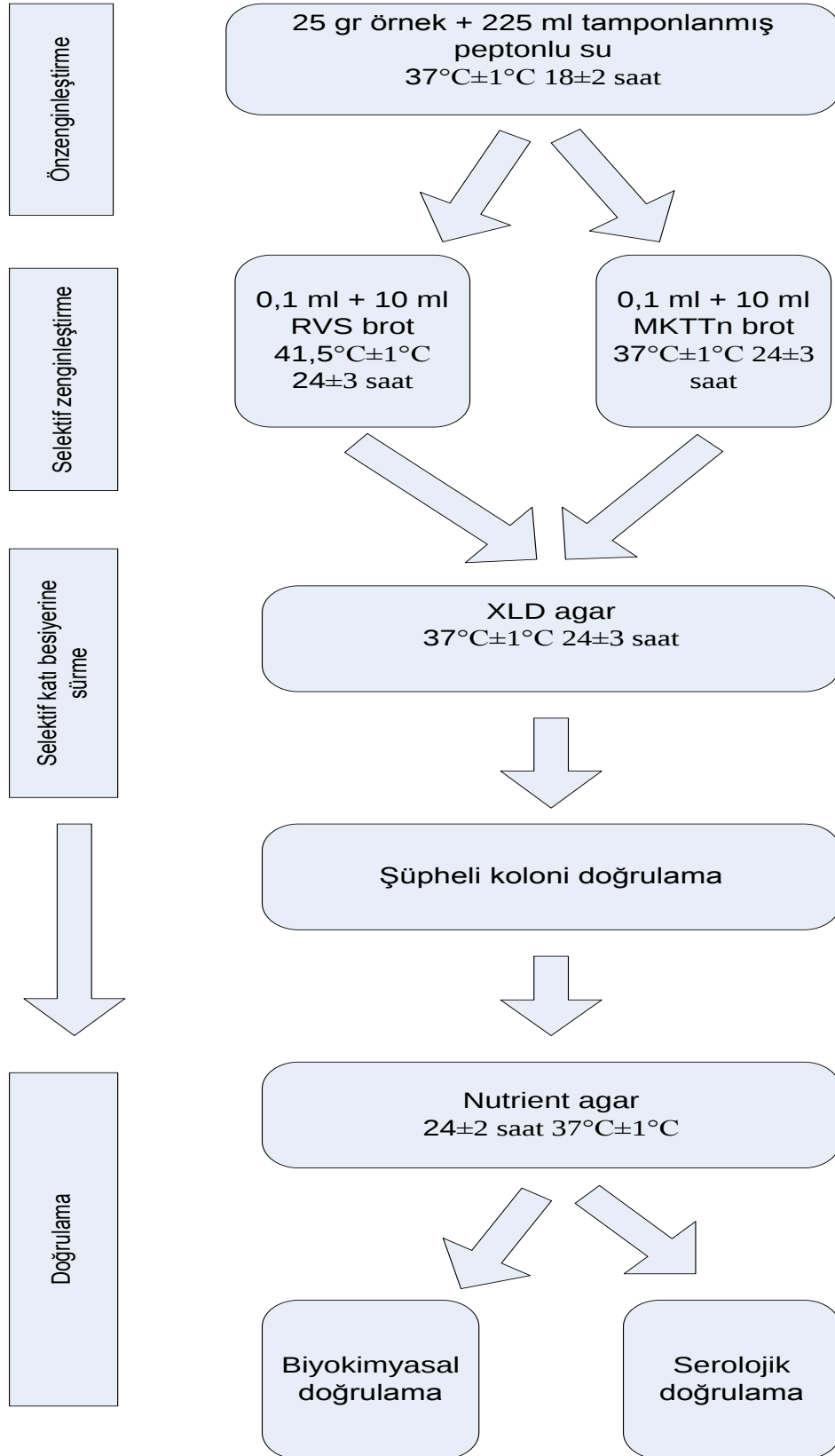
Şekil 3.2. *Listeria monocytogenes*'in ISO 11290 yöntemine göre izolasyon akış şeması

3.4.7. *Salmonella* spp. izolasyonu

Salmonella spp. izolasyonu amacıyla *L.monocytogenes*'de olduğu gibi klasik ve mini-VIDAS cihazı olmak üzere iki yöntem kullanılmıştır. Her iki yöntem de aşağıda detaylı olarak anlatılmıştır.

3.4.7.1. *Salmonella*'nın klasik yöntem ile izolasyonu

Salmonella'nın klasik yöntem ile izolasyonunda ISO 6579 yöntemi kullanılmış, akış şeması Şekil 3.3'de verilmiştir. Özenleştirme amacıyla 25 gr. örnek 225 ml. tamponlanmış peptonlu su içeren kavanozlara tartılarak 37°C'de 18 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda kültürden 0,1 ml. alınarak 10 ml. Rappaport Vassiliadis Soy Brot (RVS) içeren tüplere konulup 41,5°C±1°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Aynı kültürden 0,1 ml daha alınarak 10 ml. Muller-Kauffmann Tetrathionate-Novobiocin Brot (MKTn) içeren tüplere aktararak 37°C±1°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İki ayrı brottan Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar besiyerine sürme ekim yapılarak 37°C±1°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. XLD besiyerinde gelişen pembe koloniler merkezleri siyah veya tamamen siyah koloniler şüpheli kabul edilmiş ve doğrulama amacıyla Nutrient Agar (NA) besiyerine sürme ekim yapılarak 37 C±1°C'de 24±2 saat inkübe edilmiştir. Biyokimyasal doğrulanması amacıyla saf halde izole edilen şüpheli kolonilerin Triple Sugar Iron agar (TSI) ve Üre Brot (UB) besiyerlerine ekilerek; TSI agar besiyerinde glikozdan asit ve gaz oluşumu, laktoz ve/veya sakkarozun kullanımı, H₂S oluşumu ile Üre brot besiyerinde üre testi yapılmıştır. Üre brot besiyerinin inkübasyon sonunda kırmızı renkte kalması durumunda üre pozitifdir ve *Salmonella* mevcut değildir. Test sonucu negatif ise Triple Sugar Iron agar yatık besiyerine sürme ve dibe daldırma yapılır ve 35°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda dip kısmın sarı (glikozun kullanımı) ve siyah olması (H₂S oluşumu), yüzeyin kırmızı olması (laktoz veya sakkarozun kullanılmaması), besiyerinde gaz delikleri ve/veya yarıkların olması ve/veya besiyerinin yukarı doğru itilmesi (glikozdan gaz oluşumu) *Salmonella*'yı doğrulamaktadır.



Şekil 3.3. *Salmonella*'nın ISO 6579 yöntemine göre analizi

3.4.7.2. *Salmonella*'nın mini-VIDAS cihazı ile izolasyonu

Salmonella spp.'nin mini-VIDAS cihazı ile analizinde AFNOR (Association Française de Normalisation) BIO 12/01-04/94 no'lu yöntem izlenmiştir. Önzenginleştirme amacıyla 25 gr. örnek 225 ml. steril tamponlanmış peptonlu su içeren cam kavanozlara tartılarak $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 16-20 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda kültürden 0,1 ml. alınarak 10 ml. Rappaport Vassiliadis Soy Brot (RVS) içeren tüplere konulup $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 6-8 saat inkübasyona bırakılmıştır. Aynı kültürden 1 ml alınarak 10 ml Muller-Kauffmann Tetrathionate-Novobiocin Brot (MKTTn) içeren tüplere aktararak $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 6-8 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda RVS brot besiyerinden 1 ml, MKTTn besiyerinden 0,1 ml alınarak 10 ml. Mannose brot (M-brot) içeren tüplere aktarılıp, $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 16-20 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda iki tüpten 1'er ml steril tüpe alınıp 15 dakika 100°C 'deki su banyosunda tutularak oda sıcaklığına getirilmiş, 500 µl alınarak mini-VIDAS cihazına verilmiş, 40 dakika sonra sonuç alınmıştır. Sonucun pozitif olması durumunda M-brotlardan Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar SM ID agar, Bismuth Sulfite Agar (BSA), Hektoen Enteric Agar (HEA) besiyerlerine sürme ekim yapılarak $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edilmiştir. XLD besiyerinde gelişen pembe koloniler merkezleri siyah veya tamamen siyah koloniler, SM ID'de gelişen pembe koloniler, BSA'da gelişen kahverengi çevresinde metalik parlaklık olan koloniler ve HEA besiyerinde gelişen siyah merkezli renksiz, şeffaf koloniler şüpheli kabul edilmekte ve doğrulama amacıyla API kit kullanılarak $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 ± 2 saat inkübe edilmektedir. Doğrulama işlemi, klasik yöntemde anlatılan biyokimyasal testlerle de yapılabilmektedir.

3.5. Örneklerde Nem, Su aktivitesi (a_w), pH ve Sıcaklık Analizleri

Tereyağın nem içeriği TS 1331 (1989)'de belirtilen yöntem ve kaşar peynirinin nem içeriği ise TS 3272 (1989)'de belirtilen yöntem ile tayin edilmiştir. Kumpirin nem tayininde ise TS 11345 (1994) kullanılmıştır.

Hanna Instruments HI 9321 modeli pHmetre ile pH tayini ve 'Decagon pawkit' modeli cihaz ile su aktivitesi tayinleri yapılmıştır.

Alınan kumpir örneklerinin sıcaklıkları Vario Therm marka dijital termometre ile ölçülmüştür.

3.6. Aşılama Çalışmaları

3.6.1. *Listeria monocytogenes* aşılama

Tereyağı, taze kaşar ve kumpir örneklerinin aşılamaında *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) saf kültürü kullanılmıştır. Aşılamaında, Silbernagel ve diğ. (2004) ile Gangar ve diğ. (2000), yaptıkları çalışmalar esas alınmıştır. Buna göre *L.monocytogenes* kültürü öze ile alınarak %6 maya ekstraktı içeren Trypticase Soy Brot besiyerinde 30°C’de 24 saat inkübe edildikten sonra, Trypticase Soy Agar (Oxoid) besiyerine sürme ekim yapıp tekrar 35°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu sırada brottaki kültür +4°C’de saklanmışır. Aşılama iki düzeyde gerçekleştirilmiş, düşük düzeyde 1-5 hücre/25g ve yüksek düzeyde 10-50 hücre/25g hücre kullanılmışır. Örnekler rendelendikten sonra 3 gruba ayrılarak ilk ikisi düşük ve yüksek düzey olmak üzere inoküle edilmiş ve üçüncüsü negatif kontrol olmak üzere ayrılmıştır. Aşılama; uygun dilüsyonlarda hazırlanan kültürün aşılama miktarlarının ayarlanmasıının ardından rendelenmiş örneklere ilavesiyle yapılmıştır. Aşılamaından sonra mikroorganizmaların sayımında En Muhtemel Sayı (EMS) yöntemi (Gombas ve diğ., 2003) kullanılmışır.

3.6.2. *Salmonella typhimurium* aşılama

Tereyağı, taze kaşar ve kumpir örneklerinin aşılamaında *Salmonella typhimurium* (ATCC 1428) saf kültürü kullanılmışır. Aşılama işlemi McMahon ve Schultz (2004) çalışmasına uygun olarak yapılmıştır. *Salmonella* saf kültürü öze ile alınıp, Trypticase Soy Brot (TSB) besiyerinde 35°C’de 24 saat süreyle inkübe edildikten sonra XLD agar besiyerine ekilerek sayılmışır. Rendelenmiş örnekler *L.monocytogenes* aşılamaında olduğu gibi tekrar 3 gruba ayrılmış, ikisi 1-5 hücre/25g (düşük) ve 10-50 hücre/25g (yüksek), üçüncüsü ise negatif kontrol olacak şekilde aşılamaılmışır. Aşılamanın ardından mikroorganizma sayımları EMS yöntemi (Koivunen ve diğ., 2003; Escartin ve diğ., 1999) kullanılarak yapılmıştır.

3.7. İstatistiksel Analizler

Bu çalışmada tereyağı, taze kaşar ve kumpir örneklerinde *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella typhimurium* varlığının belirlenmesinde uygulanan ISO ve mini-VIDAS yöntemlerinin farklılıklarının analizinin istatistiksel olarak yorumlanmasında ki-kare (X^2) testi kullanılmıştır. Bu amaçla X^2 değeri Gangar ve diğ. (2000) çalışmasında belirtilen $(|a-b|-1)^2/(a+b)$ formülü ile hesaplanmıştır. Formülde yer alan değerlerden; a=VIDAS'la pozitif klasik kültürel yöntem ile negatif test sayısını, b=VIDAS'la negatif klasik kültürel yöntem ile pozitif test sayısını ifade etmektedir. İki yöntem arasındaki farklılık $\alpha = 0.05$ önem düzeyinde istatistiksel açıdan incelenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

İstanbul piyasasından temin edilen kaşar peyniri, tereyağı ve kumpir örnekleri 250 g. olarak steril stomacher torbaları içerisine konulmuş, soğutma modülleri içeren çanta içerisinde laboratuvara getirilmiştir.

Yapılan çalışma iki aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada kaşar peyniri, tereyağı ve kumpir örnekleri Gıda Maddeleri Tüzüğü Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne uygunlukları açısından değerlendirilmiş ve ikinci kısımda ise *Salmonella typhimurium* ve *Listeria monocytogenes* tayininde klasik yöntem ve ELFA prensibi ile çalışan mini-VIDAS cihazı ile elde edilen bulgular karşılaştırılmıştır.

4.1. Örneklerde Nem, a_w , pH ve Sıcaklık Bulguları

pH değerleri peynir, tereyağı ve kumpir örneklerinde sırasıyla 4.90-5.91 arasında ve ortalama 5.35, 4.22-4.84 arasında ve ortalama 4.46 ve 5.41-5.86 arasında ve ortalama 5.69 olarak bulunmuştur.

Su aktivitesi değerleri peynir, tereyağı ve kumpir örneklerinde sırasıyla 0.965-0.980 ve ortalama 0.969, 0.875-0.900, ortalama 0.895 ve 0.965-0.985 ortalama 0.977 olarak bulunmuştur.

Nem miktarları ise peynir, tereyağı ve kumpir örneklerinde sırasıyla %33.5-41.7 ortalama %37.4, %9.1-17.7 ortalama %14.2 ve %72.8-78.2 ortalama %67.6 olarak bulunmuştur.

Alınan kumpir örneklerinin sıcaklıkları vakit geçirmeden ölçülmüş ve sıcaklıkların 60.2°C ile 77.6°C'ler arasında dağıldığı, ortalama 67.9°C olduğu belirlenmiştir. Tablo 4.1'de kaşar peyniri, tereyağı ve kumpire ait ortalama nem, su aktivitesi, pH ve sıcaklık değerleri gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Kaşar peyniri, tereyağı ve kumpire ait ortalama nem, su aktivitesi, pH ve sıcaklık değerleri

Örnek	Nem (%)	Su aktivitesi	pH	Sıcaklık (°C)
Kaşar peyniri	%37.4	0.969	5.35	—
Tereyağı	%14.2	0.895	4.46	—
Kumpir	%74.4	0.977	5.69	67.9

4.2. Kaşar Peynirine Ait Mikrobiyolojik Özellikler

Kaşar peyniri örneklerinde toplam koliform, *E. coli*, koagülaz pozitif *S. aureus*, *Cl.perfringens*, toplam küf ve maya sayıları Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2. Kaşar peyniri örneklerine ait mikroorganizma sayıları

Örnek No	Toplam koliform adet/g	<i>E.coli</i> Adet/g	<i>Clostridium perfringens</i> adet/g	<i>S.aureus</i> cfu/g	Koagülaz (+) <i>S.aureus</i> cfu/g	Maya cfu/g	Küf cfu/g
1	4	4	6×10^2	2.7×10^4	2×10^4	0	0
2	<3	0	6×10^2	9×10^2	9×10^2	0	2×10^2
3	<3	0	0	2.2×10^3	2.2×10^3	27×10^3	0
4	<3	0	0	1×10^5	0	46×10^3	3×10^2
5	<3	0	0	1.7×10^3	1.7×10^3	5×10^3	3×10^2
6	<3	0	0	1×10^2	1×10^2	1.9×10^3	5.1×10^4
7	<3	0	0	1.7×10^3	1.7×10^3	0	1.1×10^5
8	43	7	0	8.2×10^3	8.2×10^3	6×10^2	1.1×10^4
9	9	0	2×10^2	3.3×10^5	0	2.9×10^3	2×10^3
10	<3	0	2×10^2	1×10^5	1×10^5	1×10^3	2.5×10^4
11	<3	0	0	3.4×10^2	3×10^2	8.6×10^3	6.3×10^3
12	<3	0	0	8×10^1	8×10^1	0	1.7×10^3
13	<3	0	3.7×10^2	1.4×10^5	1.4×10^5	2×10^6	0
14	11	0	1×10^2	1.6×10^5	1.6×10^5	1.7×10^6	3×10^2
15	<3	0	0	0	0	0	0

Tablo 4.2. Kaşar peyniri örneklerine ait mikroorganizma sayıları devam

Örnek No	Toplam koliform adet/g	<i>E.coli</i> Adet/g	<i>Clostridium perfringens</i> adet/g	<i>S.aureus</i> cfu/g	Koagülaz (+) <i>S.aureus</i> cfu/g	Maya cfu/g	Küf cfu/g
16	<3	0	0	0	0	0	0
17	<3	0	0	1×10 ¹	1×10 ¹	5×10 ³	0
18	<3	0	1×10 ¹	0	0	2×10 ¹	1×10 ²
19	<3	0	3	2.8×10 ³	2.8×10 ³	2.8×10 ⁶	1×10 ¹
20	4	0	93	6×10 ²	6×10 ²	6×10 ⁵	0
21	4	0	0	2.1×10 ³	2×10 ³	5.7×10 ⁴	0
22	<3	0	0	4.1×10 ²	4.1×10 ²	3.8×10 ⁴	1×10 ²
23	1100	43	0	1.1×10 ⁴	1.8×10 ³	1.2×10 ²	0
24	<3	0	0	6.3×10 ⁴	6.3×10 ⁴	1×10 ¹	0
25	<3	0	1.1×10 ³	1.9×10 ⁴	0	1×10 ³	1×10 ²
26	9	4	4×10 ³	4.2×10 ³	0	0	0
27	2.4×10 ⁵	0	0	1.8×10 ⁶	0	3×10 ⁴	0
28	4×10 ³	0	7×10 ³	9.1×10 ⁵	0	2.7×10 ⁴	3×10 ³
29	11	7	1.1×10 ³	1.5×10 ⁵	0	4×10 ²	1×10 ²
30	460	240	120	2.2×10 ⁵	0	0	1×10 ³
31	<3	0	0	2.9×10 ⁴	1.2×10 ⁵	3.3×10 ⁵	1×10 ³
32	1100	120	0	2.2×10 ⁵	8×10 ⁴	5.1×10 ⁵	2×10 ²
33	<3	0	0	1×10 ³	1×10 ³	2.10 ¹	0
34	<3	0	0	1×10 ³	1×10 ³	2.10 ¹	0
35	<3	0	0	1.2×10 ⁶	0	0	0
36	<3	0	0	9.1×10 ⁵	0	0	0
37	9	4	0	6×10 ²	6×10 ²	0	0
38	43	0	21	1×10 ²	1×10 ²	5.10 ¹	0
39	7	4	0	3×10 ³	3×10 ³	0	3×10 ¹
40	<3	0	0	2×10 ⁶	0	0	0
41	<3	0	0	4.4×10 ⁶	0	0	1.4×10 ²
42	1100	0	0	4.8×10 ⁶	0	0	7×10 ¹

4.2.1. Koliform bakteriler ve *Escherichia coli* sayımı

Tablo 4.2’de görüldüğü gibi incelenen 42 kaşar peyniri örneğinde toplam koliform sayısı (<3) – (2.4×10⁵) adet/g arasında, ortalama 5.9×10³ ve *E.coli* sayısı (4) – (240) adet/g arasında, pozitif örneklerin ortalaması 48 adet/g’dır. Örneklerin 10 adedinde

toplam koliform sayısı 9 adet/g'ın üzerinde ve 9 adedinde *E. coli* sayısı <3 adet/g'ın üzerinde olup Türk Gıda Kodeksine (TGK) uygun değildir.

4.2.2. *Staphylococcus aureus* sayısı

İncelenen 42 kaşar peyniri örneğinin 39'unda (%92.9) *S.aureus* belirlenmiştir. Örneklerdeki *S.aureus* sayısı (1×10^1) – (4.8×10^6) cfu/g arasında olup pozitif sonuç elde edilenlerin ortalaması 4.5×10^5 cfu/g'dır. Örneklerin 38'inde *S.aureus* sayısı 1×10^1 'in üzerinde olup Türk Gıda Kodeksine uygun değildir.

4.2.2.1. Koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus* sayısı

Kaşar peyniri örneklerinde koagülaz pozitif *S.aureus* sayıları (1×10^1) – (1.6×10^5) cfu/g arasında değişmektedir. 42 kaşar peyniri örneğinin 26'sından pozitif sonuç elde edilmiş olup bunların ortalaması 2.7×10^4 cfu/g'dır. 39 adet *S.aureus* pozitif örneğin 26'sında (%66.7) koagülaz pozitif *S.aureus* mevcudiyetine rastlanmıştır.

4.2.3. *Clostridium perfringens* sayısı

İncelenen 42 kaşar peyniri örneğinin 15'inde (%35.7) *Cl.perfringens* belirlenmiştir. Örneklerdeki *Cl.perfringens* sayısı (3) – (7×10^3) adet/g arasında olup pozitif sonuç elde edilenlerin ortalaması 1×10^3 adet/g'dır. Örneklerin 13 adedinde *Cl.perfringens* sayısı 1×10^1 üzerinde olup TGK'ya uygun değildir.

4.2.4. *Listeria monocytogenes* analizi

42 kaşar peyniri örneğinin klasik yöntem (ISO) ile analizinde 4 örnekte *L.monocytogenes* şüpheli pozitif sonuç elde edilmiş ve API (Biomerieux) kiti kullanılarak yapılan doğrulama işlemi sonunda 3 örnekte (%7.14) *L.monocytogenes* olduğu tespit edilmiştir. Şüpheli pozitif bulunan dördüncü örnekteki *Listeria*'nın ise *L.ivanovii* olduğu görülmüştür. 42 kaşar peyniri örneğinin mini-VIDAS ile analizinde ise 3 örnekte şüpheli *L.monocytogenes* varlığı belirlenmiş, API (Biomerieux) kiti kullanılarak yapılan doğrulama çalışması sonucunda üçünde *L.monocytogenes* olduğu belirlenmiştir. Tablo 4.3'de ISO ve mini-VIDAS yöntemleri ile kaşar peynirinde elde edilen *L.monocytogenes* bulgularının karşılaştırılması verilmiştir.

Tablo 4.3. Mini-VIDAS ve ISO yöntemleri ile kaşar peyniri örneklerinde *Listeria* varlığı

	Şüpheli		Doğrulama			
	<i>L. monocytogenes</i>		<i>L. monocytogenes</i>		<i>L. ivanovii</i>	<i>L. innocua</i>
	Mini-VIDAS	İSO	Mini-VIDAS	İSO	İSO	
Peynir n=42	3	4	3	3	1	0

4.2.5. *Salmonella* spp. analizi

42 kaşar peyniri örneğinin ISO yöntemi ile analizinde 7 örnekte şüpheli kolonilere rastlanmıştır. API (Biomerieux) kiti kullanılarak yapılan doğrulama çalışmasında hiçbirisinin *Salmonella* olmadığı, şüpheli pozitif kolonilerin diğer enterobakteriaceae üyeleri oldukları belirlenmiştir. Tablo 4.4’de kaşar peyniri örneklerinden *Salmonella* şüphesi ile izole edilen diğer bakteri türlerine ait bilgiler verilmiştir.

Tablo 4.4. Kaşar peyniri örneklerinden izole edilen *Salmonella* şüpheli kolonilerin ait oldukları türler

KAŞAR PEYNİRİ (n=42)	POZİTİF ÖRNEK SAYISI
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	1
<i>Serratia liquefaciens</i>	1
<i>Citrobacter freundii</i> group	1
<i>Serratia odorifera</i>	1
<i>Proteus mirabilis</i>	1
<i>E. coli</i>	2

42 kaşar peyniri örneğinin mini-VIDAS yöntemi ile analizinde *Salmonella* pozitif sonuç elde edilmemiş, örneklerin *Salmonella* içermedikleri görülmüştür.

4.2.6. Maya ve küf sayımları

İncelenen 42 kaşar peyniri örneğinin 27'sinde (%64.3) maya belirlenmiş, maya sayısı (1×10^1) – (2.8×10^6) arasında, ortalaması 1.9×10^5 olup, 15 örnekte (%35.7) maya mevcudiyetine rastlanmamıştır.

42 kaşar peyniri örneğinin 23'ünde (%54.8) küf belirlenmiş, küf sayısı (1×10^1) – (1.1×10^5) arasında, ortalaması 5.1×10^3 olup, 19 örnekte (%45.2) küf sayısı 0'dır.

4.3. Tereyağı Örneklerine Ait Mikrobiyolojik Özellikler

Tereyağı örneklerinde toplam koliform, *E.coli*, *S.aureus*, koagülaz pozitif *S.aureus*, toplam maya ve küf sayıları Tablo 4.5'de verilmiştir.

4.3.1. Koliform bakteriler ve *Escherichia coli* sayımı

Tablo 4.5'de görüldüğü gibi incelenen 42 tereyağı örneğinde toplam koliform sayısı (<3) – (2.8×10^4) adet/g arasında, ortalaması 2.8×10^3 'dür. Örneklerin 23'ünde toplam koliform sayısı <3 adet/g üzerinde olup TKG'ne uygun değildir.

İncelenen 42 tereyağı örneğinin 12'sinde (%28.6) *E.coli* sayısı (3) – (2.8×10^4) adet/g arasında olup, pozitif sonuç elde edilenlerin ortalaması 3.8×10^3 'dür. Örneklerin 11'inde *E.coli* sayısı <3 adet/g üzerinde olup TKG'ne uygun değildir.

4.3.2. *Staphylococcus aureus* sayımı

İncelenen 42 tereyağı örneğinin 33'ünde (%78.6) *S.aureus* belirlenmiştir. Örneklerdeki *S.aureus* sayısı (1×10^1) – (1×10^5) arasında olup, pozitif sonuç elde edilenlerin ortalaması 1.6×10^4 'dür. Örneklerin 22'sinde (%52.4) adedinde *S.aureus* sayısı 1×10^1 üzerinde olup TKG'ne uygun değildir.

4.3.2.1. Koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus* sayımı

İncelenen 42 tereyağı örneğinin 16'sında (%38.1) koagülaz pozitif *S.aureus* belirlenmiştir. Örneklerdeki koagülaz pozitif *S.aureus* sayısı (1×10^1) – (1.4×10^3) arasında olup, pozitif sonuç elde edilenlerin ortalaması 6.6×10^2 'dir. 33 adet *S.aureus* pozitif tereyağı örneğinin 7'sinde (%21.2) koagülaz pozitif *S.aureus* mevcudiyetine rastlanmıştır.

Tablo 4.5. Tereyağı örneklerine ait mikroorganizma sayıları

Örnek No	Toplam koliform adet/g	<i>E.coli</i> adet/g	<i>S.aureus</i> cfu/g	Koagülaz (+) <i>S.aureus</i> cfu/g	Maya cfu/g	Küf cfu/g
1	<3	0	0	0	1.8×10 ⁶	0
2	<3	0	3×10 ¹	1×10 ¹	1.5×10 ⁶	0
3	<3	0	1×10 ¹	0	1.7×10 ⁴	0
4	<3	0	1×10 ¹	0	9×10 ³	0
5	4	4	6×10 ¹	0	2.2×10 ⁶	9×10 ²
6	<3	0	0	0	1.9×10 ⁶	10×10 ²
7	<3	0	0	0	3.9×10 ³	0
8	<3	0	0	0	3.3×10 ³	0
9	2.8×10 ⁴	4×10 ³	3.8×10 ⁴	1.5×10 ²	1.6×10 ⁶	0
10	4.3×10 ⁴	9×10 ³	4.7×10 ⁴	6×10 ²	1.3×10 ⁶	0
11	4×10 ³	11	2×10 ¹	0	1.1×10 ⁴	0
12	460	3	3.8×10 ²	0	6.6×10 ³	0
13	2.4×10 ⁴	2.8×10 ⁴	2.3×10 ³	3.8×10 ²	1.8×10 ⁶	0
14	4	0	0	0	1.7×10 ⁶	1×10 ¹
15	4×10 ³	0	9.8×10 ⁴	0	1.3×10 ⁶	0
16	4×10 ³	0	1×10 ⁵	0	1.6×10 ⁶	0
17	23	0	5×10 ¹	5×10 ¹	2×10 ⁵	0
18	<3	0	3.4×10 ²	3.4×10 ²	1.5×10 ⁵	0
19	4×10 ³	4×10 ³	1.4×10 ³	1.4×10 ³	1.8×10 ⁶	2×10 ¹
20	1100	120	9.2×10 ²	0	1.4×10 ⁶	0
21	<3	0	2×10 ¹	2×10 ¹	1×10 ³	2×10 ³
22	<3	0	4×10 ¹	4×10 ¹	4×10 ²	3×10 ³
23	<3	0	5.1×10 ³	0	5.1×10 ³	0
24	<3	0	9×10 ¹	0	2.8×10 ²	4×10 ²
25	<3	0	2.8×10 ²	0	2.4×10 ⁶	5×10 ¹
26	<3	0	0	0	1.4×10 ⁶	0
27	1100	0	9×10 ³	0	1.7×10 ⁶	0
28	1100	0	1.2×10 ⁴	0	2×10 ⁶	0
29	43	0	0	0	2.1×10 ⁶	2.8×10 ²
30	43	0	1×10 ³	1×10 ³	2.3×10 ⁶	0
31	<3	0	6×10 ¹	6×10 ¹	2.5×10 ⁶	1×10 ¹

Tablo 4.5. Tereyağı örneklerine ait mikroorganizma sayıları devam

Örnek No	Toplam koliform adet/g	E.coli adet/g	S.aureus cfu/g	Koagülaz (+) S.aureus cfu/g	Maya cfu/g	Küf cfu/g
32	<3	0	0	0	2.9×10^6	0
33	1100	21	0	0	9.6×10^3	0
34	1100	240	1.5×10^3	0	1.1×10^4	0
35	<3	0	2.2×10^4	6×10^2	1.2×10^4	0
36	9	0	1.8×10^4	1×10^2	1.2×10^4	0
37	93	0	2.9×10^3	0	1.4×10^4	0
38	1100	9	9.5×10^3	0	1.5×10^4	0
39	<3	0	2×10^2	0	9.6×10^5	2×10^1
40	<3	0	4×10^1	9×10^1	9.3×10^5	0
41	23	9	3.8×10^3	6×10^2	1.6×10^4	2×10^1
42	9	0	4.3×10^3	2×10^3	1.1×10^3	5×10^1

4.3.3. *Listeria monocytogenes* analizi

42 tereyağı örneğinin klasik yöntem (ISO) ile analizinde 2 örnekte *Listeria monocytogenes* şüpheli pozitif sonuç elde edilmiş ve API (Biomerieux) kiti kullanılarak yapılan doğrulama işlemi sonunda hiçbirisinin *L.monocytogenes* olmadığı tespit edilmiştir. 42 tereyağı örneğinin mini-VIDAS ile analizinde tüm örneklerden *L.monocytogenes* negatif şeklinde sonuç alınmıştır. Tablo 4.6’da ISO ve mini-VIDAS yöntemleri ile tereyağından elde edilen *L.monocytogenes* bulgularının karşılaştırılması verilmiştir.

Tablo 4.6. Mini-VIDAS ve ISO yöntemleri ile tereyağı örneklerinde *Listeria* varlığı

	Şüpheli		Doğrulama			
	<i>L. monocytogenes</i>		<i>L. monocytogenes</i>		<i>L. ivanovii</i>	<i>L. innocua</i>
	Mini-VIDAS	İSO	Mini-VIDAS	İSO	İSO	
Tereyağı n=42	0	2	0	0	1	1

4.3.4. *Salmonella* spp. analizi

42 tereyağı örneğinin ISO yöntemi ile analizinde 5 örnekte şüpheli kolonilere rastlanmıştır. API (Biomerieux) kiti kullanılarak yapılan doğrulama çalışmasında hiçbirisinin *Salmonella* spp. olmadığı, şüpheli pozitif kolonilerin diğer enterobakteriaceae üyeleri oldukları belirlenmiştir. Tablo 4.7’de tereyağı örneklerinden *Salmonella* şüphesi ile izole edilen diğer bakteri türlerine ait bilgiler verilmiştir.

Tablo 4.7. Tereyağı örneklerinden izole edilen *Salmonella* şüpheli kolonilerin ait oldukları türler

TEREYAĞI (n=42)	POZİTİF ÖRNEK SAYISI
<i>Hafnia Alvei</i>	2
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	1
<i>Citrobacter freundii group</i>	1
<i>Ent. Aerogenes</i>	1

42 tereyağı örneğinin mini-VIDAS yöntemi ile analizinde *Salmonella* pozitif sonuç elde edilmemiş, örneklerin *Salmonella* içermedikleri görülmüştür.

4.3.5. Maya ve küf sayımları

42 tereyağı örneğinin hepsinde (%100) maya belirlenmiş, maya sayısı (4×10^2) – (2.9×10^6) cfu/g arasında olup ortalaması 9.4×10^5 ’dir.

42 tereyağı örneğinin 13’ünde (%31) küf belirlenmiş, küf sayısı (1×10^1) – (3×10^3) arasında olup, ortalama 1.9×10^2 ’dir. 29 örnekte (%69) küf mevcudiyetine rastlanmamıştır.

4.4. Kumpir Örneklerine Ait Mikrobiyolojik Özellikler

Kumpir örneklerinde toplam koliform, *E.coli*, *S.aureus*, koagülaz pozitif *S.aureus*, *Cl.perfringens*, *L.monocytogenes*, *Salmonella* spp., toplam maya ve küf sayıları Tablo 4.8’de gösterilmiştir. Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği’nde kumpirde ilave olarak *Bacillus cereus* ile ilgili kriter olduğundan dolayı analizlere ilave edilmiştir.

4.4.1. Koliform bakteriler ve *Escherichia coli* sayımı

İncelenen 38 kumpir örneğinin toplam koliform sayısı Tablo 4.8’de görüldüğü gibi (<3) – (9) adet/g arasında değişmektedir.

38 kumpir örneğinin hiçbirisinde *E.coli*’ye rastlanmamıştır. Kumpir örneklerinin toplam koliform bakteri ve *E.coli* mevcudiyeti açısından tamamen yasal şartları sağladıkları görülmektedir.

4.4.2. *Staphylococcus aureus* sayımı

İncelenen 38 kumpir örneğinin 28’inde (73.7) *S.aureus* belirlenmiştir. Örneklerdeki *S.aureus* sayısı (1×10^1) – (5.7×10^3) cfu/g arasında olup pozitif sonuç elde edilenlerin ortalaması 8.9×10^2 ’dir. Örneklerin 17 adedinde *S.aureus* sayısı 1×10^1 ’in üzerinde olup TKG’ne uygun değildir.

4.4.2.1. Koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus* sayımı

İncelenen 38 kumpir örneğinin 10’unda (%26.3) koagülaz pozitif *S.aureus* belirlenmiştir. Örneklerdeki koagülaz pozitif *S.aureus* sayısı (1×10^1) – (5.7×10^3) arasında olup, pozitif sonuç elde edilenlerin ortalaması 1×10^3 ’dür. 28 adet *S.aureus* pozitif kumpir örneğinin 10’unda (%35.7) koagülaz pozitif *S.aureus* mevcudiyetine rastlanmıştır.

4.4.3. *Clostridium perfringens* sayımı

İncelenen 38 kumpir örneğinin 5’inde (%13.2) *Cl.perfringens* belirlenmiştir. Örneklerdeki *Cl.perfringens* sayısı (9) – (93) adet/g arasında olup, pozitif sonuç elde edilenlerin ortalaması 24 adet/g’dır. Örneklerin yalnızca 1 adedinde *Cl.perfringens* sayısı 1×10^1 üzerinde olup TKG’ya uygun değildir.

4.4.4. *Bacillus cereus* sayımı

İncelenen 38 kumpir örneğinin 3’ünde (%7.9) *B.cereus* belirlenmiştir. Örneklerdeki *B.cereus* sayısı (1.4×10^2) – (2.4×10^2) cfu/g arasında olup, pozitif sonuç elde edilenlerin ortalaması 1.8×10^2 cfu/g’dır. Örneklerin hiçbirisi TKG’da belirtilen yasal sınırların dışında *B.cereus* içermemektedir.

4.4.5. *Listeria monocytogenes* analizi

38 kumpir örneğinin klasik yöntem (ISO) ile analizinde hiçbir örnekte *Listeria monocytogenes* şüpheli pozitif sonuç elde edilmemiştir. Kumpir örneklerinin mini-VIDAS ile analizinde de tüm örneklerden *L.monocytogenes* negatif şeklinde sonuç alınmıştır.

4.4.6. *Salmonella* spp. analizi

38 kumpir örneğinin ISO yöntemi ile analizinde sadece 1 örnekte *Salmonella* şüpheli kolonilere rastlanmış ve API (Biomerieux) kiti kullanılarak yapılan doğrulama çalışmasında bunun *Salmonella* olmadığı ve enterobakteriaecae ailesinin üyelerinden *Enterobacter cloacae* olduğu belirlenmiştir. Kumpir örneklerinin mini-VIDAS ile analizinde tüm örneklerden *Salmonella* negatif şekilde sonuç alınmıştır.

4.4.7. Maya ve küf sayımları

38 kumpir örneğinin 3'ünde maya belirlenmiş, maya sayısı gibi $(1 \times 10^1) - (4.5 \times 10^3)$ cfu/g arasında olup ortalaması 1.5×10^3 'dür. 35 örnekte (%92.1) maya mevcudiyetine rastlanmamıştır.

38 kumpir örneğinin 5'inde küf belirlenmiş, küf sayısı $(1 \times 10^1) - (1 \times 10^2)$ cfu/g arasında olup ortalaması 3.4×10^1 'dir. 33 örnekte (% 86.8) küf mevcudiyetine rastlanmamıştır.

Tablo 4.8. Kumpir örneklerine ait mikroorganizma sayıları

Örnek No	Toplam koliform adet/g	<i>E.coli</i> adet/g	<i>Clostridium perfringens</i> adet/g	<i>B.cereus</i> cfu/g	<i>S.aureus</i> cfu/g	Koagülaz(+) <i>S.aureus</i> cfu/g	Maya cfu/g	Küf cfu/g
1	<3	0	0	0	4×10^1	0	0	0
2	<3	0	0	0	2×10^1	0	0	0
3	<3	0	0	1.4×10^2	4×10^1	0	0	1×10^2
4	<3	0	0	1.7×10^2	0	0	0	0
5	<3	0	0	0	1×10^1	0	0	0
6	<3	0	0	0	1×10^1	0	0	0
7	<3	0	0	0	3×10^1	0	0	0
8	<3	0	0	0	3×10^3	0	0	0
9	<3	0	0	0	4×10^1	0	0	0

Tablo 4.8. Kumpir örneklerine ait mikroorganizma sayıları devam

10	<3	0	0	0	5×10^3	2×10^3	0	0
11	<3	0	0	0	7×10^1	0	1×10^1	0
12	<3	0	0	0	2.4×10^2	0	0	0
13	<3	0	0	0	0	0	0	0
14	<3	0	0	0	2×10^2	0	0	0
15	<3	0	0	0	9×10^1	0	0	0
16	<3	0	0	0	3.1×10^2	0	0	0
17	<3	0	0	0	7.1×10^2	0	0	0
18	<3	0	0	0	2.4×10^2	0	0	0
19	<3	0	0	2.4×10^2	1.3×10^3	3×10^1	0	0
20	<3	0	0	0	3.3×10^2	1×10^1	0	0
21	9	0	0	0	0	0	1×10^1	0
22	<3	0	0	0	0	0	0	0
23	<3	0	0	0	5.7×10^3	5.7×10^3	0	1×10^1
24	<3	0	0	0	2×10^3	2×10^3	0	0
25	<3	0	0	0	4.2×10^2	4.2×10^2	0	0
26	<3	0	0	0	3×10^1	3×10^1	0	0
27	<3	0	0	0	2×10^2	2×10^2	0	0
28	<3	0	0	0	0	0	0	0
29	<3	0	0	0	1.2×10^3	0	4.5×10^3	1×10^1
30	<3	0	0	0	8.1×10^2	0	0	0
31	<3	0	0	0	0	0	0	0
32	<3	0	0	0	0	0	0	0
33	<3	0	9	0	2.9×10^2	2.1×10^1	0	0
34	<3	0	93	0	0	0	0	3×10^1
35	<3	0	9	0	0	0	0	0
36	<3	0	9	0	6×10^1	6×10^1	0	2×10^1
37	<3	0	0	0	2.7×10^3	0	0	0
38	<3	0	9	0	0	0	0	0

4.5. *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella typhimurium* İçin ISO ve Mini-VIDAS Yöntemlerinin Karşılaştırılması

42 tereyağı, 42 kaşar peyniri ve 38 kumpir örneğinin hiçbirisinde VIDAS yöntemi ile *Salmonella* belirlenmemiştir. Klasik yöntemde ise tereyağında 5, kaşar peynirde 7 ve kumpirde bir olmak üzere 13 örnekte şüpheli *Salmonella* varlığı belirlenmiştir. Klasik yöntemle elde edilen *Salmonella*-şüphesi olan mikroorganizmaların API (Biomérieux) sistemi ile identifikasyonu sonucunda hiçbirisinin *Salmonella* olmadığı görülmüştür. Şüpheli kolonilere ait tür düzeyindeki bulgular Tablo 4.3 ve 4.6'da gösterilmiştir. Sonuçta doğal kontamine örneklerde *Salmonella* spp. tayini açısından mini-VIDAS yönteminin hassasiyet ve spesifikliğin %100 olduğu söylenebilir. De Medici ve diğ. (1998) kümes hayvanı etleriyle yaptıkları çalışmada *Salmonella* tayini açısından hem doğal kontamine örneklerde hem de aşılama çalışmaları sonucunda iki yöntem arasında fark bulamamışlardır. Walker ve diğ. (2001) doğal kontamine örneklerle yaptıkları bir başka çalışmada yöntemlerden hiçbirinin tüm pozitif örnekleri saptayamadığı bulunmuş fakat VIDAS yönteminin standart yöntemlerle karşılaştırılabilir kadar etkili olduğu bildirilmiştir.

Tablo 4.8'de görüldüğü gibi mini-VIDAS yöntemi ile 42 peynir örneğinden 3 örnekte şüpheli *L.monocytogenes* varlığı belirlenmiş, yapılan doğrulama çalışması sonucunda bu 3 şüpheli mikroorganizmanın üçünün de *L.monocytogenes* olduğu belirlenmiştir. Tereyağı ve kumpir örneklerinde ise *L.monocytogene*'e rastlanmamıştır. ISO-11290 yönteminde ise 42 peynir örneğinden 4 örnekte şüpheli *L.monocytogenes* varlığı belirlenmiş, yapılan doğrulama çalışması sonucunda bu 4 örnekten izole edilen şüpheli kolonilerin üçünün *L.monocytogenes*, birisinin ise *L. ivanovii* olduğu belirlenmiştir. 42 tereyağı örneğinden 2 örnekte şüpheli *L.monocytogenes* varlığı belirlenmiş, yapılan doğrulama çalışması sonucunda bu 2 şüpheli örneğin ikisinin de *L.monocytogenes* olmadığı, birisinin *L.ivanovii* diğerinin ise *L.innocua* olduğu belirlenmiştir. Bu durumda ISO yöntemi peynir ve tereyağı örneklerinde *L.monocytogenes* olmayan *Listeria* kolonisini başlangıçta ayıramamıştır.

Özet olarak; toplam 42 peynir örneğinden VIDAS ile 3 örnek, klasik yöntemle 4 *L.monocytogenes* şüphesi olan örnek belirlenmiştir. VIDAS ile olan şüpheli

örneklerdeki organizmalar cihaz tarafından da *L. monocytogenes* olarak doğrulanmıştır.

Klasik yöntemle 4 örnekte belirlenen şüpheli kolonilerden ise 3 adedi *L. monocytogenes*, bir adedi *L.ivanovii* olarak belirlenmiştir. *L.ivanovii*, *Listeria*'nın patojen olmayan türüdür.

42 tereyağı örneğinde VIDAS ile şüpheli mikroorganizma belirlenmemiştir. Klasik yöntemde ise 3 şüpheli belirlenmiş bunlardan ikisinin *L.ivanovi*, birisinin *L. innocua* olduğu belirlenmiştir.

38 kumpir (sadece peynir ve tereyağı içeriyor) örneğinde ise her iki yöntemde de şüpheli *Listeria* bulgusuna rastlanmamıştır.

Sonuç olarak; patojenik *L. monocytogenes* varlığı açısından incelenen 42 kaşar peyniri örneğinin üçünde *L. monocytogenes* belirlenmiş, 42 tereyağı ve 38 kumpir örneğinde ise *L. monocytogenes*'e rastlanmamıştır. Bunların dışında örneklerde patojenik olmayan *Listeria* üyelerinin dağılımı ise; 32 kaşar peyniri örneğinde bir adet *L.ivanovii*, 32 tereyağı örneğinde 2 örnekte *L.ivanovii* ve 1 örnekte ise *L. innocua* dur. Kumpirde *Listeria*'ya rastlanmamıştır.

Tablo 4.9. Mini-VIDAS ve ISO yöntemleri ile örneklerde *Listeria* varlığı

	Şüpheli		Doğrulama			
	<i>L. monocytogenes</i>		<i>L. monocytogenes</i>		<i>L. ivanovii</i>	<i>L. innocua</i>
	Mini-Vidas	ISO	Mini-Vidas	ISO	ISO	
Peynir n=42	3	4	3	3	1	0
Tereyağı n=42	0	2	0	0	1	1
Kumpir n=38	0	0	0	0	0	0

Tablo 4.9.'daki sonuçlar ışığında doğal kontamine örneklerde *L.monocytogenes* analizinde klasik yöntemin spesifikliğı peynir için %99, tereyağı için ise %98 olarak bulunmuştur. Peynir ve tereyağı için hatalı pozitif örnek oranları ise sırasıyla %1 ve %2 şeklindedir. miniVIDAS sisteminin hassasiyeti ve spesifikliğı ise %100 olarak bulunmuştur. Bulgularımız Sewell ve diğ. (2003) yaptıkları çalışmada elde ettikleri sonuçlara benzemektedir. VIDAS sisteminin etkinliğinin tayini için doğal kontamine örneklerde yaptıkları çalışmada VIDAS sisteminin hassasiyeti %98.1 ve spesifikliğı

%97 olarak bulunmuştur. Aradaki farklılığın sebebinin toplam 324 olmak üzere çok çeşitli ürün gruplarıyla çalışmaları olabileceği düşünülmektedir. Nitekim kullandıkları 44 çiğ süt ürününün bulunduğu örnek grubunda 23 pozitif mevcutken hem klasik hem de VIDAS yöntemi ile tüm pozitif örnekler tespit edilebilmiştir. Vaz-Velho ve diğ. (2000), yaptıkları çalışmada ise 295 doğal kontamine örnek *L.monocytogenes* için iki yöntem ile analizlenmiş ve sonuçta miniVIDAS cihazının hassasiyeti %73 ve spesifikliği ise %96 olarak bulunmuştur. Örnek olarak balık ve çevresel kontaminantları kullanmış olmaları belki de aradaki farklılığın gıdaların farklı olmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Listeria monocytogenes ve *Salmonella typhimurium* aşılansarak yapılan yöntem karşılaştırılmasında Tablo 4.10'dan da görülebileceği gibi *Salmonella* tespiti açısından iki yöntem arasında fark yoktur. Fakat *L.monocytogenes* açısından bakıldığında (Tablo 4.11) düşük düzeyde aşılama sonrasında tespitinde klasik yöntemin hepsini tayin edemediği ve 3 hatalı pozitif sonuç elde edildiği görülmüştür. Fakat $\alpha=0.05$ önem düzeyinde X^2 değerinin 1.33 şeklinde bulunduğu ve 3.84'ten küçük olması dolayısıyla iki yöntem arasındaki bu farklılığın istatistiksel açıdan önemi yoktur.

Çalışmanın başlangıcında bu aşılama çalışması ile düşük düzeyde aşılama iki yöntem arasında fark olduğu görüldükten sonra örnek sayısı artırılarak çalışma tekrarlanmıştır. 3 örnekle yapılmışken X^2 değeri 0.5 iken örnek sayısı 9'a çıkarıldığında X^2 değeri 1.33'e yükselmiştir. Karşılaştırma çalışmaları özellikle *Listeria* sayısının çok düşük olduğu durumlarda VIDAS'ın daha doğru sonuç verdiği yönündedir.

Hem *salmonella* hem de *L.monocytogenes* aşılamasından sonra yapılan analizlerde mini-VIDAS cihazının bütün pozitif örnekleri tayin ettiğinden dolayı spesifikliği %100 ve hatalı pozitif oranı da %0 olarak bulunmuştur. Silbernagel ve diğ. (2004) farklı ürünler ile yaptıkları aşılama çalışmasında iki yöntem arasında *L.monocytogenes* tayini açısından istatistiksel olarak fark bulamamış olmaları bulgularımız ile tamamen uyum içerisindedir. McMahon ve diğ. (2004) *Salmonella* aşılansarak yaptıkları iki yöntemin karşılaştırılması çalışmasında yine bulgularımızla uyum içinde olan $\alpha=0.05$ önem düzeyinde istatistiksel açıdan fark olmadığı bildirilmiştir.

Geçmişte yapılmış bir çalışmada (Blackburn ve diğ. 1994) bildirildiğine göre, *Citrobacter freundii*'nin bazı suşlarının VIDAS cihazı ile *Salmonella* tayin çalışmasında çapraz reaksiyon vererek hatalı pozitif sonuçlara neden olduğu bildirilmiştir. Fakat bu çalışmada böyle bir sorun ile karşılaşılmamıştır.

Tablo 4.10. *Salmonella typhimurium* aşıl原因arak ile elde edilen yöntem karşılaştırılmasının sonuçları

Gıda tipi	Aşıl原因ama düzeyi	MPN/g	Toplam örnek	Pozitif Örnekler			X ²	Hassasiyet %		Hatalı Negatif %	
				Toplam	VIDAS	Kültür		VIDAS	Kültür	VIDAS	Kültür
TEREYAĞI	Yüksek	0,53	3	3	3	3	—	100	100	0	0
	Düşük	0,13	3	3	3	3	—	100	100	0	0
	Kontrol	<0,03	3	0	0	0		—	—	—	—
KAŞAR PEYNİRİ	Yüksek	0,37	3	3	3	3	—	100	100	0	0
	Düşük	0,19	3	3	3	3	—	100	100	0	0
	Kontrol	<0,03	3	0	0	0		—	—	—	—
KUMPIR	Yüksek	1,87	3	3	3	3	—	100	100	0	0
	Düşük	0,11	3	3	3	3	—	100	100	0	0
	Kontrol	<0,03	3	0	0	0		—	—	—	—

Tablo 4.11. *Listeria monocytogenes* aşıl原因arak elde edilen yöntem karşılaştırmasının sonuçları

				Pozitif Örnekler				Hassasiyet %		Hatalı Negatif %	
Gıda tipi	Aşıl原因ama düzeyi	MPN/g	Toplam örnek	Toplam	VIDAS	Kültür	X ²	VIDAS	Kültür	VIDAS	Kültür
TEREYAGI	Yüksek	0,57	3	3	3	3	—	100	100	0	0
	Düşük	0,13	9	9	9	6	1,33	100	67	0	33
	Kontrol	<0,03	3	0	0	0	—	—	—	—	—
KAŞAR PEYNİRİ	Yüksek	1,83	3	3	3	3	—	100	100	0	0
	Düşük	0,23	3	3	3	3	—	100	100	0	0
	Kontrol	<0,03	3	0	0	0	—	—	—	—	—
KUMPIR	Yüksek	1,67	3	3	3	3	—	100	100	0	0
	Düşük	0,15	9	9	9	8	0	100	89	0	11
	Kontrol	<0,03	3	0	0	0	—	—	—	—	—

KAYNAKLAR

- AFNOR** validation Nr BIO 12/9-07/02 du kit VIDAS, 2002. *Listeria monocytogenes* (biomerieux). Institut Pasteur de Lille.
- AFNOR** validation Nr BIO 12/1-04/94 du kit VIDAS, 2002. *Salmonella* (biomerieux). Institut Pasteur de Lille.
- Altekruse S.F., Timbo B.B., Mowbray J.C., Bean N.H., Potter M.E.**, 1998. Cheese-associated outbreaks of human illness in the United States, 1973 to 1992: Sanitary Manufacturing Practices Protect Consumers, *Journal of Food Protection*, **61** (10), 1405-1407.
- Anonymus**, http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/nut_search_new.pl.
- Araujo, V. S., Pagliares, V. A., Queiroz, M. L. P., Freitas-Almeida, A. C.**, 2002. Occurrence of *Staphylococcus* and enteropathogens in soft cheese commercialized in the city of Rio de Janeiro, Brazil, *Journal of Applied Microbiology*, **92**, 1172-1177.
- Arıcı, M., Demirci, M., Gündüz, H. H.**, 1999. *Listeria monocytogenes*'in inek ve koyun sütünden yapılan beyaz peynirlerin imalat, olgunlaşma ve depolama aşamalarındaki durumu, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, **23** (5), 1133-1137.
- Ayçiçek, H., Aksoy, A., Saygı, S.**, 2005. Determination of aflatoxin levels in some dairy and food products which consumed in Ankara, Turkey, *Food Control*, **16**, 263-266.
- Blackburn, C. W., Curtis, L.M., Humpheson, L., Pettit, S.B.**, 1994. Evaluation of the Vitek Immunodiagnostic Assay System (VIDAS) for the detection of *Salmonella* in foods . *Letters in Microbiology*, **19**, 32-36.
- Bintsis, T., Papademas, P.**, 2002. Microbiological quality of white-brined cheeses: a review, *International Journal of Dairy Technology*, **55** (3), 113-120.
- Bodur, A.E.**, 1993. Van piyasasında satışa sunulan tereyağların fiziksel kimyasal mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri üzerine bir araştırma, *Yüksek Lisans Tezi*, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Brehm-Stecher, B. F.**, 2002. Improved methods for the detection and characterization of *Listeria* and *Salmonella*, *PhD Thesis*, University of Wisconsin, Madison.
- CDC, Center for Disease Control**, http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/listeriosis_g.htm.
- Chye, F. Y., Abdullah, A., Ayob, M. K.**, 2004. Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia, *Food Microbiology*, **21**, 535-541.
- Cliver, D. O., Riemann, H. P.**, 2002. Foodborne Diseases. Academic Press. London.

- Cosenza-Sutton, G. H.**, 2004. Enumeration of total airborne bacteria, yeast and mold contaminants and identification of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria* spp., *Salmonella* spp., and *Staphylococcus* spp. in a beef and pork slaughter facility, *PhD Thesis*, University of Florida, Florida.
- De Medici, D., Pezzotti, G., Marfoggia, C., Caciolo, D., Foschi, G., Orefice, L.**, 1998. Comparison between ICS-Vidas, MSRV and standard cultural method for *Salmonella* recovery in poultry meat, *International Journal of Food Microbiology*, **45**, 205-210.
- Deisingh, A. K., Thompson, M.**, 2004. Strategies for the detection of *Escherichia coli* O157: H7 in foods: a review, *Journal of Applied Microbiology*, **96**, 419-429.
- Dığrak, M., Özçelik, S.**, 1996. Elazığ'da satışa sunulan peynirlerden izole edilen koliform grubu bakterilerin tanımlanması, *Gıda*, **21** (1), 3-7.
- Dıraman, H.**, 1989. Trakya bölgesinde üretilen vakum paketlenmiş taze kaşar peynirlerinin teknolojisi, fiziksel, kimyasal ve Mikrobiyolojik nitelikleri ve enerji değerleri üzerinde araştırmalar, *Yüksek Lisans Tezi*, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Doğan, H. B., Çakır, İ., Keven, F., Coşansu, S., Kırıl, N., Dağer, T. İ., Gürsu, G., Halkman, A. K.**, 2001. Çeşitli gıdalarda koliform, fekal koliform ve *e.coli* varlığı, *Gıda*, **26** (2), 83-90.
- Donnelly, C. W.**, 1990. Concerns of microbial pathogens in association with dairy foods, *Journal of Dairy Science*, **73**, 1656-1661.
- Dufrenne J., Soentoro P., Tatini S., Day T., Notermans S.**, 1994. Characteristics of *Bacillus cereus* related to safe food production, *International Journal of Food Microbiology*, **23**, 99-109.
- El-Gazzar, F. E., Marth, E. H.**, 1992. Salmonellae, Salmonellosis and dairy foods: a review, *Journal of Dairy Science*, **75**, 2327-2343.
- Escartin, E. F., Castillo, A., Hinojosa-Puga, A., Saldana-Lozano, J.**, 1999. Prevalence of *Salmonella* in chorizo and its survival under different storage temperatures, *Food Microbiology*, **16**, 479-486.
- Gangar, V., Curiale, M. S., D'onorio, A., Schultz, A.**, 2000. VIDAS Enzyme linked immunofluorescent assay for detection of *Listeria* in foods: Collaborative study, *Journal of AOAC International*, **83** (4), 903-918.
- Gasanov, U., Hughes, D., Hansbro, P. M.**, 2005. Methods for the isolation and identification of *Listeria* sp. and *Listeria monocytogenes*: a review, *FEMS Microbiology Reviews*, in print.
- Gibbs, P.**, 2002. Characteristics of spore forming bacteria, in *Foodborne pathogens: hazards, risk analysis and control*, Eds. Blackburn, C. W., McClure, P. J., Woodhead, Cambridge.
- Gombas, D. E., Chen, Y., Clavero, R. S., Scott, V. N.**, 2003. Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods, *Journal of Food Protection*, **66** (4), 559-569.

- Gaulin C, Bonnier Viger Y, ve Fillion L.**, 2002. An outbreak of *Bacillus cereus* implicating a part-time banquet caterer, *Caadian Journal of Public Health*, **93** (5), 353-355.
- Harrigan, W. F.**, 1998. Laboratory Methods in Food Microbiology. Academic Press, San Diego.
- Hayaloğlu, A.A. ve Konar, A.**, 2001. A comparative;study on microbiological quality of butter produced from yoghurt and cream in Malatya region, *Gıda*, **26** (6), 429-435.
- Hocalar, B., Hocalar, M.**, 2001. Süt işletmelerinde karşılaşılan mikrobiyolojik sorunlar, *Dünya Yayınları Gıda*, **6** (5), 77-78.
- Holliday, S. L., Adler, B. B., Beuchat, L. R.**, 2002. Viability of *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* in butter, yellow fat spreads, and margarine as affected by temperature and physical abuse, *Food Microbiology*, **20**, 159-168.
- ISO-11290**, 1998. Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*, Part 2: Enumeration method, *International Organization for Standardization*, Geneva.
- ISO-6888-1**, 1999. Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species), Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium, *International Organization for Standardization*, Geneva.
- ISO-7932**, 2004. Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus cereus*, Colony-count technique at 30 degrees C, *International Organization for Standardization*, Geneva.
- ISO-6579**, 2002. Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp, *International Organization for Standardization*, Geneva.
- Kerdahi, K. F. ve Istafanos, P. F.**, 2000. Rapid determination of *Listeria monocytogenes* by automated enzyme-linked immunoassay and nonradioactive DNA probe, *Journal of AOAC International*, **83** (1), 86-88.
- Kınık Ö., Gönc S., Akalın S.**, 1998. Çiğ sütte patojen mikroorganizmalar, Uluslararası Sütçülük Federasyonu Bülteni, **527**.
- Koivunen, J., Siitonen, A., Heinonen-Tanski, H.**, 2003. Elimination of enteric bacteria in biological-chemical wastewater treatment and tertiary filtration units, *Water Research*, **37**, 690-698.
- Kornacki, J.L. ve Flowers, R. S.**, 1998. Microbiology of butter and related products, in *Applied Dairy Microbiology*, pp. 109-130, Eds. E.H. Marth, and J.L. Steele, Marcel Dekker, New York.
- Kyriakides, A., Bell, C.**, 2002a. *Listeria monocytogenes* in Foodborne pathogens: hazards, risk analysis and control, Eds. Blackburn, C. W., McClure, P. J., Woodhead, Cambridge.
- Kyriakides, A., Bell, C.**, 2002b. Pathogenic *Escherichia coli* in Foodborne pathogens: hazards, risk analysis and control, Eds. Blackburn, C. W., McClure, P. J., Woodhead, Cambridge.

- Kyriakides, A., Bell, C., 2002c.** *Salmonella* In: Foodborne pathogens: in *Foodborne pathogens: hazards, risk analysis and control*, Eds. Blackburn, C. W., McClure, P. J., Woodhead, Cambridge.
- Leuschner, R. G. K., Boughtflower, M. P., 2002.** Laboratory-scale preparation of soft cheese artificially contaminated with low levels of *Escherichia coli* 0157, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* serovars typhimurium, enteritidis and dublin, *Journal of Food Protection*, **65** (3), 508-514.
- Maijala, R., Lyytikainen, O., Johansson, T., Autio, T., Haavisto, L., Honkanen-Buzalski, T., 2001.** Exposure of *Listeria monocytogenes* within an epidemic caused by butter in Finland, *International Journal of Food Microbiology*, **70**, 97-109.
- Marth E.H. and Steele J.S., 1998.** Applied Dairy Microbiology, Marcel Dekker Inc., New York.
- McMahon, W. A., Schultz, A., 2004.** Evaluation of VIDAS Immuno-concentration *Salmonella* (ICS) plus selective plate method (Hektoen enteric, Bismuth sulfite, *Salmonella* identification) for detection of *Salmonella* in selected foods (method modification 2001.07): collaborative study, *Journal of AOAC International*, **87** (2), 380-384.
- McMahon, W. A., Shultz, A. M., Johnson, R. L., 2004.** Evaluation of VIDAS salmonella (SLM) immunoassay method with Rappaport-Vassiliadis (RV) medium for detection of *Salmonella* in foods: collaborative study, *Journal of AOAC International*, **87** (4), 867-883.
- Muir, D. D. ve Banks, J. M., 2003.** Factors affecting the shelf-life of milk and milk products, in *Dairy Processing: Improving Quality*, Ed. Smit, G. Woodhead, Cambridge.
- Novak, J. S., Juneja, V. K., 2002.** *Clostridium perfringens*: hazards in new generation foods, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **3**, 127-132.
- Papageorgiou, D. K., 2004.** Hygiene of milk and milk products and protection of consumers, *Greek Journal of Dairy Science and Technology*, **1**, 56-57.
- Peng, H., 2000.** A new rapid method for the detection *Listeria* and *Salmonella* organisms in foods, *PhD Thesis*, Wayne State University, Detroit, Michigan.
- Prentice, G. A., 1988.** *Listeria Monocytogenes* in Food, *Bulletin of the International Dairy Federation*, **223**, 3-11.
- Robinson, R. K., Batt, C. A., Patel, P.D., 2000.** Encyclopedia of Food Microbiology, Vol.1, Academic Press, San Diego.
- Rompere, A., Servais, P., Baudart, J., de-Roubin, R.M., Laurent, P., 2002.** Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches, *Journal of Microbiological Methods*, **49**, 31-54.
- Rue K., Grijspeerdt K., Herman L., 2004.** A Belgian survey of hygiene indicator bacteria and pathogenic bacteria in raw milk and direct marketing of raw milk farm products, *Journal of Food Safety*, **24** (1), 17-36.
- Ryser, E. T., Marth, E. H., 1999.** *Listeria*, Listeriosis and Food Safety, Marcel Dekker Inc., New York.

- Sarı Mehmetoğlu, B., Kuplulu, O., Celik, T. H.,** 2004. Detection of aflatoxin M₁ in cheese samples by ELISA, *Food Control*, **15**, 45-49.
- Schlech, W. F.,** 2000. Foodborne Listeriosis, *Clinical Infectious Diseases*, **31**, 770-775.
- Sewell, A. M., Warburton, D. W., Boville, A., Daley, E. F., Mullen, K.,** 2003. The development of an efficient and rapid enzyme linked fluorescent assay method for the detection of *Listeria* spp. from foods, *International Journal of Food Microbiology*, **81**, 123-129.
- Silbernagel, K. M., Carver, C. N., Jechorek, R. P.,** 2004. Evaluation of VIDAS *Listeria monocytogenes* II (LMO2) immunoassay method for the detection of *Listeria monocytogenes* in foods: Collaborative study, *Journal of AOAC International* **87** (5), 1123-1132.
- Şık, B., Küçükçetin, A., Yaygın, H.,** 2004. Physicochemical quality and occurrence of bacterial pathogens in white pickled cheese, *Milchwissenschaft*, **59** (11-12), 636-637.
- Şimşek, O., Kurultay, Ş., Arıcı, M.,** 1995. Tekirdağ ili merkezinde tüketime sunulan kahvaltılık tereyağların bazı nitelikleri üzerine araştırmalar, *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, **4** (1-2), 55-60.
- Taniwaki, M. H., Da Silva, N., Banhe, A. A., Iamanaka, B. T.,** 2001. Comparison of culture media, simplate, and petrifilm for enumeration of yeasts and molds in food, *Journal of Food Protection*, **64** (10), 1592-1596.
- TS-1331,** 1989. Tereyağı, *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- TS-3272,** 1989. Kaşar Peyniri, *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- TS-11345,** 1994. Konserve-Etli Patates-Hazır Yemek, *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği,** 2001. <http://www.kkgm.gov.tr/Mevzuat/khk560/Kodeks/Tebliğler/2001-19.htm>.
- Uyytendaele, M., Vanwildemeersch, K., Debevere, J.,** 2003. Evaluation of real time PCR vs automated ELISA and a conventional culture method using a semi-solid medium for detection of *Salmonella*, *Letters in Applied Microbiology*, **37** (5), 386-391.
- Ünlütürk, A., Turantaş, F.,** 2003. Gıda mikrobiyolojisi. META Basım, İzmir.
- Vaz-Velho, M., Duarte, G., Gibbs, P.,** 2000. Evaluation of mini-VIDAS rapid test for detection of *Listeria monocytogenes* from production lines of fresh to cold-smoked fish, *Journal of Microbiological Methods*, **40**, 147-151.
- Walker, R. L., Kinde, H., Anderson, R.J., Brown, A.E.,** 2001. Comparison of VIDAS enzyme-linked fluorescent immunoassay using Moorswab sampling and conventional culture method for *Salmonella* detection in bulk tank milk and in-line milk filters in California dairies, *International Journal of Food Microbiology*, **67**, 123-129.
- Wong, A. C. L. ve Bergdoll, M. S.,** 2002. Staphylococcal food poisoning, in *Foodborne diseases*, pp. 231-248, Eds. Cliver, D. O. ve Riemann, H. P., Academic Press, London.

- Yaldız, O.**, 2002. Kırklareli il merkezinde tüketime sunulan taze ve eski kaşatların kimyasal bileşimlerinin ve hijyenik kalitesinin belirlenmesi üzerine bir araştırma, *Yüksek Lisans Tezi*, U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Yaroğlu, T., Oruç, H. H., Tayar, M.**, 2005. Aflotoxin M₁ levels in cheese samples from some provinces of Turkey, *Food Control*, **16** (10), 883-885.
- Yücel, N., Ulusoy, H.**, 2005. A Turkey survey of hygiene indicator bacteria and *Yersinia enterocolitica* in raw milk and cheese samples, *Food Control*, in print.

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında İstanbul’da doğmuştur. 1995 yılında Bostancı Hayrullah Kefoğlu Lisesi’nden mezun olduktan sonra girdiği İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesini 2000 yılında tamamlayarak, dil öğrenimi görmek üzere 1.5 yıl Amerika’da yaşamıştır. 2002 yılında girdiği İstanbul Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nde Yüksek Lisans çalışmasını 2005 yılında tamamlamıştır.