

KAYSERİ'DE SATIŞA SUNULAN SUCUKLARDA *LİSTERİA* SPP. VARLIĞININ KLASİK KÜLTÜR
YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ*
DETECTION OF *LİSTERİA* SPP. BY CULTURAL METHOD FROM THE SOUJOUK SAMPLES SOLD IN KAYSERİ

Koral DUYGULU¹, Nurhan ERTAŞ ONMAZ¹, Zafer GÖNÜLALAN², Serhat AL¹

¹Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kayseri

²Kırgızistan-Türkiye Manas Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bişkek - KIRGIZİSTAN

ÖZ

Bu çalışmada amacı Kayseri ilinde satışa sunulan sucuklarda *Listeria* spp. varlığının araştırılması amaçlandı. Bu amaçla toplam 100 sucuk örneği incelendi. Örnekler ISO 11290-1/A1-2004'da önerilen *Listeria* izolasyon prosedürüne göre analiz edildi. İzolatların tür düzeyinde identifikasyonları Microbact 12L *Listeria* İdentifikasyon sistemi ile yapıldı. Analiz edilen 100 örneğin 29'u (%29) *Listeria* spp. açısından pozitif bulundu. Bu örneklerden elde edilen 29 *Listeria* spp. izolatının altısı (%6) *L. monocytogenes* olarak tanımlandı. Bu çalışmada elde edilen verilere göre, Kayseri'de tüketime sunulan sucuklardaki *Listeria* spp. varlığının halk sağlığı açısından göz ardı edilmemesi gereken bir tehlike olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: *L. monocytogenes*, sucuk, izolasyon, Kayseri

GİRİŞ

Son yıllarda *Listeria monocytogenes*'den kaynaklanan gıda enfeksiyonları büyük önem kazanmıştır. Etkenin doğada, özellikle toprak ve çevrede yaygın olarak bulunması gıdaların kontaminasyonunu ve buna bağlı olarak gıda kaynaklı Listeriosis sıklığını tüm dünyada artırmaktadır.

Doğada yaygın olarak bulunan *Listeria* türlerine çoğunlukla kanalizasyon, bataklık, nehir suyu ve sebzelere rastlanmaktadır (1-3). Ayrıca hayvan yemlerinden, sağlıklı ve mastitisli ineklerin sütlerinden, hasta ve sağlıklı insan ve hayvan dışkılarından, kemirgenlerden, bazı yapraklı sebzelerden ve bazı peynir çeşitlerinden çok sayıda *Listeria* izolasyonu yapılmıştır (4-8).

Listeria monocytogenes, insanlarda ve çeşitli hayvan türlerinde ciddi, sporadik enfeksiyonlara neden olan önem-

ABSTRACT

This study was designed to detect *Listeria* spp. from soujouk samples sold in Kayseri. Total of 100 soujouk samples were analysed in this study. Samples were tested according to the *Listeria* isolation procedure as recommended by ISO 11290-1/A1-2004. Among 100 samples analysed, 29 samples (29%) were positive for *Listeria* spp. and only 6 samples (6%) were found to harbour *L. monocytogenes*. The present study shows that the soujouk samples sold in Kayseri should not be underestimated as a hazard for public health.

Keywords: *L. monocytogenes*, sucuk, isolation, Kayseri

li bir etkidir. *Listeria monocytogenes*'in insan ve hayvanlar için patojen olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir. Hastalık oldukça düşük bir insidensle seyretmesine rağmen risk grubunda bulunan bireylerde yaklaşık %30'lara varan ölüm oranlarına ulaşması hastalığın ciddiyetini ortaya koymaktadır (9, 10).

Türkiye'de kesim hijyeninin yeterli olmaması, sucuk yapımında starter kültür kullanılmaması, hatalı ısı uygulamaları ve üretimin uygun olmayan koşullarda gerçekleştirilmesinin yanı sıra üretim sonrası kontaminasyonların meydana gelmesi sonucu et ürünleri *L. monocytogenes* ile sıklıkla kontamine olabilmekte ve bu şekilde üretilen sucukların tüketime sunulması halk sağlığı açısından risk teşkil etmektedir.

Kayseri ve civarında üretilen ve satışa sunulan sucuklarda *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes*'in varlığı ve halk

*Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TSY-12-3906 kodlu yüksek lisans tez projesi olarak desteklenmiştir.

Makale Geliş Tarihi : 04.07.2014

Makale Kabul Tarihi: 07.07.2015

Corresponding Author: Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ ONMAZ
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi,
Gıda Hijyeni ve Teknolojisi ABD., 38039 Melikgazi - KAYSERİ
Tel: +90507 0150108,
E-posta: nertas@erciyes.edu.tr

sağlığı açısından oluşturduğu risklerin belirlenmesine yönelik çalışmalar oldukça azdır. Bu çalışmada Kayseri ve civarında üretimi ve satışı yapılan sucuklarda *Listeria* spp. varlığının klasik kültür yöntemiyle belirlenmesi amaçlandı. Bu sayede Kayseri'de satışa sunulan sucukların *L. monocytogenes* açısından taşıdığı halk sağlığı riskinin belirlenmesi ve konuya ilişkin literatür bilgilerine zenginlik kazandırılması mümkün olacaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma kapsamında Kayseri'de 2013 yılı Mayıs-Eylül ayları arasında farklı firmalara ait toplam 100 sucuk numunesi kullanıldı. Steril poşetlere alınan sucuk numuneleri soğuk zincir altında laboratuara ulaştırıldıktan sonra en geç 1-2 saat içerisinde analiz edildi. *Listeria monocytogenes*'in izolasyon ve identifikasyonunda *L. monocytogenes* ATCC ¹⁰88 referans suşu, kontrol suşu olarak kullanıldı. Aseptik şartlarda alınarak soğuk zincir altında laboratuara getirilen sucuk örneklerinde *Listeria* spp. varlığı ISO 11290-1/A1- 2004 metodu ile saptandı (11). Bu metod çerçevesinde 25'er g sucuk örneği steril filtreli numune poşetlerine (Bag Fitler 400P, Interscience, St. Nom La Breteche, Fransa) tartıldı. Üzerine 225 mL 1/2 konsantrasyonda (inhibitörleri yarım konsantrasyonda içeren) Fraser *Listeria* Selective Enrichment Broth Base (Merck 1.10398) besiyeri ilave edilerek homojenizatörde (BagMixer, Interscience, France) 2 dk homojenize edildi ve ön zenginleştirme amacı ile 30°C 'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda ön zenginleştirme yapılmış kültürlerden 0.1 mL alınarak 10'ar mL'lik tam kuvvette hazırlanan (inhibitörleri normal konsantrasyonda içeren) Fraser *Listeria* Selective Enrichment Broth Base (Merck 1.10398) tüplerine ilave edildi ve 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Daha sonra brothlardan öze yardımıyla Oxford *Listeria* Selective Agar besiyerlerine (Merck 1.07004.0500) çizme plak yöntemiyle ekim yapılarak 37°C 'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda *L. monocytogenes* şüpheli kolonilerden 1-5 adet koloni seçilerek biyokimyasal testleri gerçekleştirmek için kanlı agara geçildi ve 37°C 'de 24 saat inkübe edildi. Kanlı agarda β-hemoliz oluşturarak üreyen kolonilere sırasıyla hareket muayenesi, Gram boyama, Katalaz (Hydrogen Peroxide Merck) ve Oksidaz (Bactident Oxidase, Merck 113300) testleri yapıldı. Katalaz pozitif, Oksidaz negatif ve Gram pozitif ve 25 °C'de hareketli olduğu saptanan koloniler Microbact test kitinde (Microbact *Listeria* 12L *Listeria* identification system MB1128 Oxoid) biyokimyasal özellikleri (Esculin, Mannitol, Ksiloz, Arabitol, Ribose, Rhamnose, Trehalose, Tagatose, Glucose-1-Phosphate, Methyl-D-Glucose, Methyl-D-Mannose, Hemolysis) yönünden değerlendirildi.

BULGULAR

Bu çalışmada, analiz edilen 100 sucuk numunesinin ISO 11290-1/A1-2004'da önerilen metod ile yapılan *Listeria* spp. izolasyonunda; 29 örnek (%29) *Listeria* spp. açısından pozitif bulundu. *Listeria* spp. şüpheli izolatların tamamı Gram pozitif, katalaz pozitif, oksidaz negatif ve 25 °C'de hareketli olarak tespit edildi (Tablo I).

Tablo 1. Sucuk örneklerinde *Listeria* spp izolasyon sonucu

Numune	Numune sayısı	<i>Listeria</i> spp. Pozitif örnek sayısı (%)
Sucuk	100	29 (%29)

Yapılan Microbact (Microbact *Listeria* 12L *Listeria* identification system MB1128 Oxoid) testi sonucunda; 29 ayrı sucuk örneğinden elde edilen *Listeria* spp. şüpheli izolatların, 10'u (%10) *L. innocua*; sekizi (± 2) *L. ivanovii*; üçü (± 7) *L. welshimeri*, ikisi (± 6) *L. grayi* ve altısı (± 6) *L. monocytogenes* olarak tanımlanmıştır (Tablo 6).

Tablo 2. Sucuk örneklerinde *Listeria* türlerinin dağılımı

	Pozitif örnek sayısı	Pozitif örnek yüzdesi (%)
<i>L. monocytogenes</i>	6	%6
<i>L. innocua</i>	10	%10
<i>L. ivanovii</i>	8	%8
<i>L. welshimeri</i>	3	%3
<i>L. grayi</i>	2	%2

TARTIŞMA

Et ve et ürünlerinin *Listeria* türleri ile kontamine olmasında çeşitli kaynaklar etkili olmaktadır. Kontaminasyonda mezbaha ve et işletmelerinin oldukça önemli bir yeri vardır. Hayvanların dışkıları, derileri ve ayakları, işletmede çalışan gıdalara temas eden personeller, kullanılan alet ve ekipmanlar ve işletmede kullanılan sular önemli kontaminasyon kaynaklarıdır (12, 13). Ayrıca etin işlenmesi ve et ürünlerinin üretimi aşamasında personel, et parçalama ve işleme yüzey ve ekipmanları da *Listeria* spp.'nin bulaşma kaynağı olabilir (13, 14). Bu kontaminasyon riskleri dolayısı ile ülkemizde *L. monocytogenes*'in sucuklardaki prevalansı ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır.

Bu çalışma ile paralel olarak Güven ve Patır (15), Elazığ ilinden temin edilen 80 sucuğun %7.5'inden *L. monocytogenes* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Ancak ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda sucuk örneklerindeki *L. monocytogenes* kontaminasyonu bu çalışmada elde edilen verilerden oldukça yüksek çıkmıştır. Örneğin: Berktaş ve ark. (16), % 24'ünden; Sharif ve Tunail (17) % 20'sinden; Barut ve Ateş (18) ise 18 örneğin üç'ünden (%17); *L. monocytogenes* izole ettiklerini bildirmişlerdir. *Listeria* spp. üzerine yapılan çalışmalarda ise; Kaya ve Gökalp (19), incelenen sucuk örneklerinin %39'unun *Listeria* spp.; %16'sının *L. monocytogenes* ile; Çolak ve ark. (20) ise 300 sucuk örneğinin 63'ününün (%21) *Listeria* spp.; 35'inin de (%11.6) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca, Sancak ve ark. (21) vakumlu paketlenmiş 20 sucuk örneğinden bakteriyi izole edemediklerini, ancak ambalajlanmamış 20 sucuk örneğinin dokuzundan (%45) *Listeria* türleri-

nin izole edildiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri dokuz izolatanı türlere göre dağılımını ise üç *L. monocytogenes*; dört *L. innocua*; bir *L. welshimeri* ve bir *L. seeligeri* olarak rapor etmişlerdir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlardan daha düşük kontaminasyon oranı bildirilen çalışmalardan bazılarında; Kök ve ark. (22) Aydın'da, Öksüztepe ve ark. (23) Elazığ'da yaptıkları çalışmalarda fermente sucukların % 4'ünde *L. monocytogenes* bulunduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Çiftçioğlu ve Uğur (24) inceledikleri sucuk örneklerinin % 2'sinden *L. monocytogenes* izole ettiklerini belirtmişlerdir.

Değişik ülkelerde üretilen fermente sosisler üzerine yapılan çalışmalardan birinde Manzano ve ark. (25) çalışmalarında domuz, sığır, tavuk gibi çeşitli hayvanların et ve kıymaları ile fermente sosisten oluşan 85 örneği incelediklerini, bunların 25'inde *L. monocytogenes* saptadıklarını bildirmişlerdir. İsviçre'de yapılan bir çalışmada Jemmi ve ark. (26), 142 fermente sosis örneğinin %15'inin; Portekiz'de yapılan bir çalışmada ise Mena ve ark. (27) 27 İspanyol tipi sosis örneğinin 1'inin (% 3.7) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu rapor etmişlerdir.

SONUÇ

Bu çalışmada incelenen sucuk örneklerinde *Listeria* spp ve *L. monocytogenes* varlığı ortaya konulmuştur. *Listeria* türlerinin kontaminasyonla kolaylıkla yayılabilmesi, etkenlerin geniş sıcaklık değerlerinde gelişmelerini sürdürebilmeleri ve zoonoz özellikte olmaları, sucuk örneklerinde *Listeria* türlerinin belirlenmesinin halk sağlığı açısından önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Bu nedenle sucuk yapımında ürün ile ilgili her faktörün (hammadde, bileşim, ısıl işlem, depolama, raf ömrü, personel, çapraz bulaşma riski gibi) dikkate alınarak çiftlikten sofraya gıda güvenliği kapsamında standartlara uygun ürün elde edilmesi önemlidir. Bu amaçla sucuk üretiminde kullanılan etler için sağlıklı hayvanlar yetiştirilmeli, işletme içerisinde ve çevresinde insekt ve rodent mücadelesi yapılmalıdır. Kesimhanelerde hijyenik koşullar HACCP programları çerçevesinde iyileştirilerek, özellikle çapraz kontaminasyonun önüne geçilmeli, sucuk yapımında temas yüzeyleri, alet ve ekipmanların temizlik ve dezenfeksiyonu etkin bir şekilde yapılmalıdır. Üretim, dağıtım ve satış aşamalarında soğuk zincirin sürekliliği sağlanmalıdır. Personel hijyenine önem verilmeli, patojen bakterilerin gıda hazırlama yerleri ve evlerde kontaminasyonu önlenmeli ve etkin pastörizasyon işlemi uygulanmalıdır.

KAYNAKLAR

- Garrec N, Picard-Bonnaud F, Pourcher AM. Occurrence of *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* in sewage sludge used for land application: Effect of dewatering, liming and storage in tank on survival of *Listeria* species. FEMS Immunol Med Mic 2003; 35: 275-283.
- Lyautey E, Lapen DR, Wilkes G, et al. Distribution and characteristics of *Listeria monocytogenes* isolates from surface waters of the South Nation River Watershed, Ontario, Canada. Appl Environ Microbiol 2007; 73: 5401-5410.
- Crepet A, Albert I, Dervin C, et al. Estimation of microbial contamination of food from prevalence and concentration data, application to *Listeria monocytogenes* in fresh vegetables. Appl Environ Microbiol 2007; 73: 250-258.
- Atıl E, Ertaş HB, Özbey G. Isolation and molecular characterization of *Listeria* spp. from animals, food and environmental samples. Vet Med Czech 2011; 56: 386-394.
- Akça D, Şahin M. Kars yöresi sığırlarından alınan süt ve vajinal sıvı örneklerinden *Listeria* türlerinin araştırılması. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2011; 17: 987-993.
- Low JC, Donachie W. A review of *Listeria monocytogenes* and Listeriosis. Vet J 5³³; 597: 3-29.
- Abadias M, Usall J, Anguera M, et al. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. Int J Food Microbiol 2008; 123: 121-129.
- Kum E, Yıldırım Y, Ertaş N. Kayseri'de satışı sunulan peynir örneklerinde *Listeria monocytogenes* varlığının klasik kültür yöntemi ile belirlenmesi. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2011; 8: 105-109.
- Rantsiou K, Alessandria V, Urso R, Dolci P, Cocolin L. Detection, quantification and vitality of *Listeria monocytogenes* in food as determined by quantitative PCR. Int J Food Microbiol 2008; 121: 99-105.
- Hein I, Klein D, Lehner A, et al. Detection and quantification of the *iap* gene of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* by a new real-time quantitative PCR assay. Res Microbiol 2001; 152: 37-46.
- International Standardization Organization (ISO). Horizontal Method for Detection of *Listeria monocytogenes* ISO NORM, 5563 4-1-/A1. 2004.
- Dhanashree B, Ottab SK, Karunasagar B, et al. Incidence of *Listeria* spp. in clinical and food samples in Mangalore, India. Food Microbiol 2003; 20: 447-453.
- Gobat PF, Jemmi T. Epidemiological studies on *Listeria* spp. in slaughterhouses. Fleischwirtsch 1990; 70: 1448-1450.
- Thévenot D, Delignette-Muller ML, Christieans S, et al. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in 13 dried sausage processing plants and their products. Int J Food Microbiol 2005; 102: 85-94.
- Güven A, Patır B. Elazığ ilinde tüketime sunulan et ve bazı et ürünlerinde *Listeria* türlerinin araştırılması. Turk J Vet Animal Sci 1998; 22: 205-212.
- Berktaş M, Bozkurt EN, Bozkurt H, et al. Et ve et ürünlerinden *Listeria monocytogenes*'in izolasyonu. Van Tıp Derg 2006; 13: 36-41.
- Sharif A, Tunail N. Detection of *Listeria monocytogenes* in foods of animal origin. Turk J Vet Anim Sci 1995; 19: 329-334.
- Barut NB, Ates M. Değişik et ürünlerinde *Listeria monocytogenes* rastlanma sıklığı ve mikrobiyal kalitenin belirlenmesi. Gıda 2004; 5: 75-79.
- Kaya M, Gökalp HY. Farklı laktik starter kültürler kullanılarak üretilen sucuklarda *Listeria monocytogenes*'in davranışı. Turk J Vet Anim Sci 2004; 28: 1113-1120.

20. Çolak H, Hampikyan H, Ulusoy B, et al. Presence of *Listeria monocytogenes* in Turkish style fermented sausage (sucuk). *Food Control* 2007; 18: 30-32.
21. Sancak YC, İşleyici Ö, Sağun E. Van'da tüketime sunulan bazı et ürünlerinde *Listeria monocytogenes* varlığı. *YYÜ Vet Fak Derg* 644¹; 5²: 37-99.
22. Kök F, Özbey G, Muz A. Aydın ilinde satışa sunulan fermente sucukların mikrobiyolojik kalitelerinin incelenmesi. *Fırat Üniv Sağ Bil Derg* 2007; 21: 249-252.
23. Öksüztepe G, Güran HŞ, İncili GK, Gül SB. Elazığ'da tüketime sunulan fermente sucukların mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi. *Fırat Üniv Sağ Bil Derg* 2011; 25: 107-114.
24. Çiftçioğlu G, Uğur M. Kıyma, sucuk ve tavuk etlerinde *Listeria monocytogenes* kontaminasyonu. *İst Univ Vet Fak Derg* 1992; 18: 33-34.
25. Manzano M, Cocolin L, Ferroni P, et al. A simple and fast PCR protocol to detect *Listeria monocytogenes* from meat. *J Sci Food Agric* 5³³¹; 18, 69-30.
26. Jemmi T, Pak S, Salman MD. Prevalence and risk factors for contamination with *L. monocytogenes* of imported and exported meat and fish products in Switzerland, 1992-2000. *Prev Vet Med* 2002; 54: 25-36.
27. Mena C, Almeida G, Carneiro L, et al. Incidence of *Listeria monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal. *Food Microbiol* 2004; 21: 213-216.