

Kayseri'de Satı a Sunulan Peynir Örneklerinde *Listeria monocytogenes* Varlı ının Klasik Kültür Yöntemi ile Belirlenmesi*

Erhan KUM¹, Yeliz YILDIRIM², Nurhan ERTA ²

¹ Erciyes Üniversitesi Sa ık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri-TÜRK YE

² Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRK YE

Özet : Bu çalı mada Kayseri'de lokal olarak üretilen ve açıkta satı a sunulan peynir çe itlerinde *L. monocytogenes* varlı ını ortaya koymak amaçlanmı tır. Çalı ma kapsamında toplam 50 adet lokal peynir örne i ISO 11290-1/A1-2004'da önerilen *Listeria* izolasyon prosedürüne göre analiz edilmi tır. Materyaller çi süttten üretilen peynirler (29/50) ve ısı i lemi görmü (21/50) peynirlerden olu mu tur. Çi süttten üretilen peynirlerin *L. monocytogenes* ile kontaminasyon oranının (5/29) (%17.2), ısı i lemi görmü peynirlerden (2/21) (%9.5) daha yüksek oldu u ortaya konulmu tur. *L. monocytogenes* ile kontaminasyon oranı açısından en yüksek oran çömlük peynirlerinde (5/22 ve % 22.7) bulunurken bunu lor (1/5 ve %20) ve tel peynirleri (1/7 ve %14.2) takip etmi tır. Öte yandan toplanan çökelek ve köy tipi tuzlu kalıp peynirlerinde *L. monocytogenes* bulunamamı tır. Çalı mada elde edilen verilere göre, Kayseri pazarlarında açıkta satılan, gerek çi süttten yapılarak tüketime sunulan ve gerekse de ısı i lemi görmü peynirlerin *L. monocytogenes* varlı ı bakımından halk sa lı ı açısından göz ardı edilmemesi gereken bir tehlike oldu u sonucuna varılmı tır.

Anahtar Kelimeler: ISO 11290-1/A1-2004, *Listeria monocytogenes*, peynir

Detection of *Listeria monocytogenes* in Cheese Samples Retailed in Kayseri by Classical Cultural Technique

Summary: The present study evaluated the incidence of *L. monocytogenes* in some local cheese types in Kayseri obtained from retail outlets. A total of 50 samples from various types of local cheese were examined as recommended by *Listeria* isolation protocole of ISO 11290-1/A1-2004. Cheese samples made from raw milk (29/50) and heat-treated cheese samples (21/50) were collected as material. Cheese samples made from raw milk were more frequently contaminated with *L. monocytogenes* (5/29) (17.2%) than heat treated cheeses (2/21) (9.5%). The higher incidence of *L. monocytogenes* was observed mainly in homemade pre-cut wedge cheeses (5/22 and 22.7%), followed by soft uncured cheeses (1/5 and 20%) and fibre type cheese (1/7 and 14.2%) whereas skim milk cheeses and village type brined cheeses contained no *L. monocytogenes*. Thus the results of this study indicate that the both raw milk and heat treated cheeses sold at retail outlets in Kayseri displayed significant risk for public health.

Key Words: Cheese, ISO 11290-1/A1-2004, *Listeria monocytogenes*

Giri

Listeria türleri tarafından meydana getirilen Listeriosis hastalı ı, gıda kaynaklı hastalıklar arasında en önemlilerden biri olarak kabul edilmektedir. Listeriosis, sıklıkla kontamine süt, yumu ak peynir, iyi pi memi et ve iyi yıkanmamı çi sebzelerin tüketimine ba lı olarak geli en sporadik bir hastalıktır (13). Hamile kadınlar, yeni do anlar, kanser, AIDS, kronik karaci er yetmezli i ve eker hastalı ı olanlar, 65 ya ın üstündeki ya lılar ile di er ba ıklık sistemi baskılanmı bireyler risk grubunda yer almaktadır (11). Gıdalardaki yüksek *L. monocytogenes* insidensi ve ölüm oranının hayli yüksek olması, etkenin halk sa lı ı açısından ne denli büyük bir risk oldu unu ortaya koymaktadır (7). *Listeria* türlerinin gıda ile ta inabilmelerine ili kin en önemli faktörler dü ük sıcaklıklarda üre-

yebilme yetenekleri (20), ozmotik strese dayanıklı olmaları ve sıkı muhafaza ko ullarında canlı kalabilme yetenekleridir (9). Hijyenik standartların güçlü yaptırımlarla uygulanmadı ı ölkelerde süt ve süt ürünlerinin birçok hastalı ın ta inmasında önemli bir rol oynadı ı iyi bilinmektedir (12). Süt ve süt ürünleri listeriosis açısından risk ta ıyan iki spesifik gıda kategorisini olu turmaktadır.

Günümüzde tüketici talepleri, organoleptik karakteri yüksek ve güvenli peynir tüketimine yönelmi durumdadır. Geleneksel çi süt peynirleri oldukça kompleks yapıya sahip ve vazgeçilmez tatlar sunan ürünler olarak bilinmektedir (4). Mikroorganizmalar bu proseste önemli bir rol almalarına kar ın, patojenlerin önlenebilmesi için kontrol altında tutulmaları gerekmektedir. Sonuçta peynirlerde bulunan patojen mikroorganizma düzeyinin ölkelerin tabi oldukları yasal düzenlemelere uygun olması gerekmektedir. *L. monocytogenes* kontaminasyon riskinin hem çi süttten yapılan peynirlerde hem de pastörize edilmi süttten yapılanlarda e it oldu u, çünkü pastörizasyon sonrası kontaminasyonların sıklıkla gözlemlendi i belirtilmektedir (18).

Geli Tarihi/Submission Date : 18.04.2011

Kabul Tarihi/Accepted Date : 29.04.2011

* TSY-09-735 Proje Koduyla Erciyes Üniversitesi Bilimsel Ara tırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi Tarafından Desteklenen Aynı Adlı Yüksek Lisans Tezinden Özetlenmi tır.

Bu çalı mada, Kayseri'de gerek ısı i lemi görmü gerekse çi süttten yapılarak satı a sunulan lokal peynir örneklerinde *L. monocytogenes* varlı nın klasik kültür tekni i ile belirlenmesi, dolayısıyla *L. monocytogenes*'in peynirlerde halk sa lı ı açısınan bir tehlike olarak kabul edilip edilmeyece inin tespit edilmesi amaçlanmaktadır.

Gereç ve Yöntem

Çalı mada Kayseri'de farklı halk pazarlarında ve satı yerlerinde açıkta satı a sunulan be farklı peynir tipine ait toplam 50 adet lokal olarak üretilmi peynir örne i materyal olarak kullanıldı. Örnekler Mayıs-Eylül 2009 tarihlerinde toplandı. Peynir örnekleri çömlek (22/50), tel peyniri (7/50), çökelek (9/50), salamuralı kalıp halindeki köy peynirleri (7/50) ve lor (5/50) peyniri olmak üzere toplam 29'u çi süttten elde edilm i (%58, çömlek ve salamura kalıp halinde köy peyniri) ve 21'i geleneksel yapım i lemi gere i ısı i lemi görmü (%42, tel peyniri, çökelek ve lor peynirleri) peynirlerden olu -maktaydı. Söz konusu peynirler Kayseri halkı tarafından sıklıkla be enilerek tüketildi i ve genellikle herhangi bir ilave i lem uygulanmadan tüketildi i için seçildi.

Aseptik olarak alınarak so uk zincir altında laboratuvara getirilen örneklerde *L. monocytogenes*'in varlı ı ISO 11290-1/A1- 2004 metodu kullanılarak ara tırıldı (1) ISO 11290-1/A1-2004 metodu çerçevesinde 25 g gıda örne i 225 ml ½ konsantrasyonda half Fraser Broth'da (MERCK Fraser Broth 1.10398.0500,) ön zenginle tirme amacı ile 30 °C 'de 24 saat süre ile inkübe edilerek ön zenginle tirme i lemi yapıldı. Ön zenginle tirme solusyonundan 0.1 ml alınarak 10'ar ml'lik tüplere tam kuvvette hazırlanan Fraser brothlara aktarıldı. Fraser brothlar 37 °C'de 2 gün inkübe edilerek selektif zenginle tirme a aması tüplerde gerçekte tirildi.

Daha sonra brothlardan öze yardımıyla polymyxin - acriflavine - lithium chloride - ceftazidime - esculin – mannitol içeren Oxford agar besiyerlerine (Oxford *Listeria* Selektif Agar (Basis) 1.07004.0500) çizme yöntemiyle ekim yapılarak 37 °C 'de 24 saat inkübe edildi. nkübasyonun 24 ile 48. saatlerinde tipik en az 5 koloni *Listeria* Chrome Agar'a (Oxoid CM 1080 Brilliance *Listeria* Agar Base, inhibitör SR 0228E ve SR0227E) öze yardımıyla çizme plak tekni i ile geçildi.

Söz konusu agarda mavi-turkuaz renk opak haleli koloniler üpheli kabul edilerek daha sonra Microbact test kitinde (Microbact *Listeria* 12L *Listeria* Identification system MB1128 OXOID)

biyokimyasal testler açısından analiz edilmek üzere gliserinli TSA içeren boncuklu kriyobank tüplerine aktarılarak -20 °C'de muhafazaya alındı. Çalı -ma sonunda elde edilen izolatlar çözüldürülüp zenginle tirilerek Microbact test kitinde biyokimyasal özellikleri (Gram boyama +, Katalaz +, Oksidaz -SIM Motilite +, Beta hemoliz +, CAMP Test *S.aureus*/*R. equi* +/-, Mannitol -, L-Ramnoz +, D-Ksiloz -, Salisin +, Dulsit -, MR/VP +/+, Nitrat Red. -)açısından de erlendirildi.

Çi süttten yapılan ve ısı i lemi görmü peynirlerde *L. monocytogenes* görülme oranları arasındaki fark Fisher's Exact Test istatisti i ile de erlendirilmi tir (14).

Bulgular

Materyaller, çi süttten (29/50) ve ısı i lemi görmü (21/50) peynirlerden olu turuldu. Çi süttten yapılmı olan 22 çömlek peynir örne inden 5'inin (% 22.7) *L. monocytogenes* ile kontamine oldu u saptanırken, 7 adet salamura kalıp halindeki köy peyniri örne inin *L. monocytogenes* içermedi i tespit edilm i tir. Çi süttten yapılan peynirlerin *L. monocytogenes* ile kontaminasyon oranının %17.2 oldu u tespit edilm i tir (5/29). Geleneksel yapım tekni i gere i ısı i lemi görmü peynirlerden 7 tel peynir örne inin 1'i (%14.2) ve 5 lor peyniri örne inin 1'i (%20) *L. monocytogenes* ile kontamine bulunurken, 9 adet çökelek peynir örne inin hiçbirinden *L. monocytogenes* izole edilememi tir. Isı i lemi görmü peynirlerin %9.5' inin söz konusu etkenle kontamine oldu u tespit edilm i tir (2/21). Dolayısıyla çi süttten yapılan peynirlerin *L. monocytogenes* ile kontaminasyon oranının (% 17.2), ısı i lemi görmü peynirlerden (%9.5) daha yüksek oldu u ortaya konmu tur. Genel olarak incelenen örneklerin %14'ünün *L. monocytogenes* pozitif oldu u belirlenmi tir. Çi süttten yapılan ve ısı i lemi görmü peynirlerde *L. monocytogenes* görülme oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli de ildir ($p_{\text{Fisher}} = 0.684$). Çi süttten yapılan ve ısı i lemi görmü peynirlerde *L. monocytogenes* görülme oranları Tablo 1'de gösterilmektedir.

L. monocytogenes ile kontaminasyon oranı açısından en yüksek oran çömlek peynirlerinde (5/22 ve %22.7) bulunurken bunu lor (1/5 ve %20) ve tel peynirleri (1/7 ve %14.2) takip etmi tir. Öte yandan toplanan çökelek ve salamura köy tipi kalıp peynirlerinde *L. monocytogenes* bulunamamı tir.

Tablo 1. *L. monocytogenes* görülme oranlarının peynir üretim yöntemine göre dağılımı (%)

	<i>Listeria monocytogenes</i>	
	Pozitif	Negatif
Çi sütten yapılan peynirler	5 (%17.2)	24 (%82.8)
Isı i lemi görmü peynirler	2 (%9.5)	19 (%90.5)

Tartı ma ve Sonuç

Bu çalı mada analiz edilen be farklı peynir tipinden en yüksek kontaminasyon yüzdesi çömlek peynirlerinde bulunmu tur (%22.7). Söz konusu peynir tipinde belirlenen bu yüksek oran muhtemelen bu ev tipi peynirlerin çi sütten ve oldukça yetersiz hijyenik ko ullar altında üretilerek açık ekilde pazarlarda satı a sunulmasından ve gerek üretim gerek de pazarlama a masasında herhangi bir denetleme i lemine maruz kalmamasından kaynaklanmaktadır. Söz konusu peynirler herhangi bir starter kültür kullanılmaksızın, peynir mayası ve kendi mikrobiyel floralarıyla üretildikleri için son derece lezzetli olmakla birlikte üretim depolama ve pazarlama a masasında etkenin üremesini engelleyecek herhangi bir uygulama olmadı ı için olgunlaşma ve raf ömrü periyodunda da etkenin canlı kalabilme hatta üreyebilme potansiyeli halk sa lı ı açısından önemli bir risk olarak kar ımıza çıkmaktadır.

Çalı ma kapsamında lor peynirlerinde % 20'lik *L. monocytogenes* kontaminasyon yüzdesi tespit edildi. Lor peynirleri belli bir ısı i lemi görerek üretilmelerine rağmen tespit edilen bu oran üretim sonrası kontaminasyonları, üretim ve muhafaza i lemlerinin oldukça yetersiz ko ullar altında yürütüldü ünü ortaya koymaktadır.

Çalı ma çerçevesinde *L. monocytogenes* ile kontaminasyon oranı açısından üçüncü sırada % 14.2 ile tel peynirler yer almaktadır. Bu peynirler de benzer ko ullar altında halk pazarlarında, kontaminasyon açısından herhangi bir önlem alınmaksızın, açık olarak satı a sunulmaktadır. Tel peynirler yapım i lemi gere i belli bir ısı i lemi görmü olmasına kar ın yüksek düzeylerde kontamine bulunması ısı i leminin yetersizli ini, yine üretim sonrası kontaminasyonları, üretim ve muhafaza i lemlerinin oldukça yetersiz ko ullar altında yürütüldü ünü ortaya koymaktadır.

Çalı mada hem ısı i lemi görmü hem de görme mi peynirlerdeki yüksek kontaminasyon oranları, söz konusu peynirlerin, Farber ve ark. (6) ile Rørvik ve Yndestad (17) tarafından da vurgulandı ı üzere, satı yerlerinde kros kontaminasyona u ramı olmalarını da akla getirmektedir. Nitekim örneklerin satın alma a masasında, ço u yerde farklı peynirlerin aynı aletle alınarak tartıldı ı dolayısıyla kros kontaminasyon riskinin oldukça yüksek oldu u dikkat çekmi tir. Yine satı a sunum a masasında peynirlerin muhafazasına ili kin herhangi bir önlem alınmadı ı da vurgulanması gereken bir di er noktadır.

Bu çalı mada tuzlu kalıp köy peynirlerinden ve çökelek peynirlerinden *L. monocytogenes* izole edilememi tir.

Bu çalı mada incelenen tüm peynirlerde *L. monocytogenes* kontaminasyon oranı %14 olarak belirlenirken yumu ak ve yarı sert peynirlerde *L. monocytogenes* varlı ını belirlemek amacıyla yapılan di er bazı çalı malarda kontaminasyon oranı %0.5 (6), %1.24 -%1.8 (8), %2.6 (21), %3.4 (19), %6.6 (3), %10 (15), %11 (17) , %15 (2), %6 (10) ve 18.9 (16) olarak belirlenmi tir.

Çalı mada çi sütten yapılmı peynirlerdeki *L. monocytogenes* kontaminasyon oranı (%17.2), ısı i lemi görmü peynirlerden (%9.5) daha fazla bulunsa da ısı i lemi görmü peynirlerdeki yüzdeler de oldukça fazla bulunmu tur. Bu sonuç ısı i lemi gördükten sonra ekillenen kontaminasyonların oldukça yüksek oldu unu ortaya koymaktadır. Elde edilen bu veriler Loncarevic ve ark. (10) tarafından bulunan verilerle benzerlik göstermektedir. Buna kar ın Breer ve Shopfer (3) çi ve pastörize sütten yapılmı peynirlerin benzer oranlarda *L. monocytogenes* ile kontamine bulduklarını belirtmi lerdir (sırasıyla %13.9 ve %12.2).

L. monocytogenes çi sütte çok az miktarlarda olmu veya pastörizasyon sonrası kontaminasyon düzeyi çok düşük olmu olsa dahi peynirin olgunlaşma aşamasında veya uygun olmayan muhafaza ve pazarlama koşullarından dolayı son üründe sağlık riski oluşturabilecek yüksek düzeylere ulaşabilmektedir (5).

Çalışmada incelenen peynir tiplerinin hiç birinde starter kültür kullanılmadığı düşünülmektedir. Da Silva ve ark. (5), starter kültür kullanımının *L. monocytogenes* varlığını tam olarak inhibe edemediğini, peynir yapımı aşamalarının belli düzeylerde var olan *Listeria* popülasyonunu artırıcı etki oluşturabileceğini belirtmişlerdir.

Bu peynirlerin işletme bazında kontrollü koşullar altında üretilerek olgunlaştırılması ve her ne kadar söz konusu etken buzdolabı sıcaklıklarında üremeye yeteneğini sürdürse de soğuk zincir altında muhafaza edilerek satışa sunulması ve en önemlisi de halk pazarlarında açık olarak satışa sunulan bu peynirlerin denetim yetersizliği dolayısıyla hala kontrolsüz koşullar altında üretilerek satışa sunulmasının engellenmesi etkenin halk sağlığı açısından oluşturduğu risklerin önlenmesi açısından kritik öneme sahiptir. Bu peynirlerin yapımında pastörize süt kullanılması, çi sütten yapılan peynirlerin ısı ile lemi görmeden tüketilmemesi, peynirlerin üretim aşamalarında hijyen kurallarına uyulması bunun yanında oldukça beğenilerek tüketilen bu yumuşak ve yarı yumuşak peynirlerin hijyenik bir şekilde üretilmelerini için ilgili otoriteler tarafından klavuz niteliğinde el kitapçıkları yayınlanarak, üretici kitleye ulaştırılması gerekmektedir. Yine lokal peynir üreticilerinin söz konusu peynirlerin sadece *L. monocytogenes* açısından değil, diğer patojenler açısından da yarattığı sağlık riskleri hakkında bilgilendirilmesi için eğitim programları düzenlenmelidir.

Bu çalışmada, Kayseri halk pazarlarında açıkta satışa sunulan hem çi sütten üretilen hem de ısı ile lemi görmüş peynirlerin *L. monocytogenes* varlığını bakımından, halk sağlığı açısından önemli bir tehlikenin mevcudiyetini ortaya koymaktadır. Peynirlerden kaynaklanan listeriozis olgularının önlenmesi için ısı ile leminin etkin bir şekilde uygulanması, işletme bazında kontrollü koşullar altında üretim yapılması, pastörizasyondan sonra kontaminasyonların engellenmesi ve gerekli denetim mekanizmalarının etkin bir şekilde uygulanması gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Anonim, 2004. Horizontal method for the detection of *Listeria monocytogenes* ISO 11290-1/A1 2004.
2. Beckers HJ, Soentoro PSS, Delfgou-van Asch EHM, 1987. The occurrence of *Listeria monocytogenes* in soft cheeses and raw milk and its resistance to heat. *Int J Food Microbiol*, 4: 49-256.
3. Breer C, Schopfer K, 1988. *Listeria* and food. *Lancet*, 2(8618): 1022.
4. Ciments M, 2001. Food safety concerns drive FDA review of fine cheeses. *ASM News* 67: 1-6.
5. Da Silva MCD, Hofer E, Tibana A, 1998. Incidence of *Listeria monocytogenes* in cheese produced in Rio de Janeiro. *Brazil J Food Prot*, 61: 354-356.
6. Farber JM, Johnson MA, Purvis U, Loit A, 1987. Surveillance of soft and semi-soft cheeses for the presence of *Listeria* spp. *Int J Food Microbiol*, 5: 157-163.
7. Farber JM, Peterkin PJ, 1991. *Listeria monocytogenes*, a foodborne pathogen. *Microbiol Rev*, 55: 476-511.
8. Gledel J, 1988. *Listeria* and the dairy industry in France. Foodborne Listeriosis Proceedings of a Symposium on September 7, Wiesbaden, FRG, B. Behr's Verlag GmbH&Co., Hamburg, pp. 73-82.
9. Linton RH, Webster JB, Pierson MB, Bishop JR, Hackney CR, 1992. The effect of sublethal heat shock and growth atmosphere on the heat resistance of *Listeria monocytogenes*. Scott A. *J Food Prot*, 55: 284-287.
10. Loncarevic S, Danielsson-Tham ML, Tham W, 1995. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in soft and semi soft cheeses in retail outlets in Sweden. *Int J Food Microbiol*, 26: 245-250.
11. McLauchlin J, Mitchell R, Smerdon W, Jewell K, 2004. *Listeria monocytogenes* and listeriosis: A review of hazard characterization for use in microbiological risk assessment of foods. *Int J Food Microbiol*, 92: 15-33.
12. Meyer-Broseta S, Diot A, Bastian S, Riviere J, Cerf O, 2003. Estimation of low bacterial concentration: *Listeria monocytogenes* in raw milk. *Int J Food Microbiol*, 80: 1-15.

13. Oliver SP, Jayaro BM, Almeida RA, 2005. Food-borne pathogens in milk and dairy farm environment: Food safety and public health implications. *Foodborne Pathog Dis*, 2: 115.
14. Ozdamar K, 2003. SPSS ile Biyoistatistik. Kaan Kitapevi 5. Baskı. 17: 377.
15. Pini PN, Gilbert RJ, 1988. A comparison of two procedures for isolation of *Listeria monocytogenes* from raw chickens and soft cheeses. *Int J Food Microbiol*, 7: 331-337.
16. Rahimi E, Ameri M, Momtaz H, 2010. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* species isolated from milk and dairy products in Iran. *Food Control*, 21: 1448-1452.
17. Rørvik LM, Yndestad M, 1991. *Listeria monocytogenes* in foods in Norway. *Int J Food Microbiol*, 13: 97-104.
18. Rudolf M, Scherer S, 2001. High incidence of *Listeria monocytogenes* in European red smear cheese. *Int J Food Microbiol*, 63: 91-98.
19. Terplan G, Schoen R, Springmeyer W, Dagle I, Becker H, 1986. Occurrence, behaviour and significance of *Listeria* in milk and dairy products. (Vorkommen, Verhalten und Bedeutung von Listerien in Milch und Milchprodukten.) *Arch Lebensmittelhyg*, 37:131-137.
20. Walker SJ, Archer P, Banks JG, 1990. Growth of *Listeria monocytogenes* at refrigeration temperatures. *J Appl Bacteriol*, 68: 157-162.
21. Weber A, Baumann C, Potel J, Friess H, 1988. Incidence of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* in cheese. (Nachweis von *Listeria monocytogenes* und *Listeria innocua* in Käse) *Berl Münch Tierarztl Wschr*, 101: 373-375.

Yazı ma Adresi :

Yrd. Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı,
Mevlana Mah. Barı Manço Cad. No. 1
Kocasinan/KAYSER
E-mail: yildirim@erciyes.edu.tr
Tel : +90 352 3380006/181
Fax : +90 352 3392312