

TAVUK YUMURTALARINDAN SALMONELLA İZOLASYON ÇALIŞMALARI (1)

Urkiye İNAL (2)

Mestan ÖZYER (3)

G İ R İ Ő

Yumurta, çok zengin protein, vitamin ve mineral maddeleri içermesi, naklinin ve depolanmasının kolay olması, ayrıca mutfakta ve birçok gıda maddesinde kullanılma imkânı bulması nedeniyle insan beslenmesinde temel bir kaynak olma özelliğini sürdürmektedir. İnsanlar için de uygun bir ortam oluşturduğundan, zaman zaman yumurtalı gıdalardan ileri gelen sağlık problemleri görülebilmektedir.

Bu çalışmada, bölgemizde yaygın olarak görülebilen Salmonellosis vak'aları nedeniyle tavuk yumurtalarında Salmonella bakterilerinin varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

Yumurtalı ürünlerden Salmonella tespit edildiğine dair birçok rapor olmasına rağmen, kabuklu yumurtadan infeksiyon raporları seyrekdir. yumurta ürünlerinden infeksiyon ve zehirlenme vak'aları genellikle çiğ ve az pişmiş yumurtanın kullanıldığı ürünlerden veya donmuş ve kurutulmuş yumurtanın kullanıldığı ürünlerden meydana gelmektedir (4). Kabuklu yumurta iç ve dış nedenlere bağlı olarak kontamine olabilir. Sağlıklı hayvanların ovaryum ve oviduktunda mikroorganizmalar bulunmamasına rağmen, Salmonella'lı tavuklarda ovaryum ve ovidukt infekte olabilir ve bu durumda bakteriler yumurtaya geçebilirler. Yumurtanın başlıca kontaminasyon kaynağı gaitadır. Bulaşık yumurta kabuğunda taşınma ve muhafaza sırasında sıyrık ve çatlakların meydana gelmesi ve ortamın ısısının ve neminin uygun olması mikroorganizmaların çoğalmasına ve yumurtanın kontaminasyonuna neden olur. Kafes sistemi ve yumurtanın yıkanması bunu kolaylaştırır.

Yumurta akı, yapısındaki lizozim ve diğer inhibitörler nedeniyle antibakteriyel özelliktedir. Ancak, yumurta kırıldıktan sonra veya ısı ile işlem den sonra denatürasyon sonucu bu özelliğini kaybeder (2,4,5,7,14).

(1) Tarım ve Köyişleri Bakanlığı KKGa-HS-01-TH-03 kod no'lu proje.

(2) Adana Hayvan Hastalıkları Arşt. Enst. Veteriner Hekim.

(3) Adana Hayvan Hastalıkları Arşt. Enst. Uzm. Veteriner Hekim.

Tavuklarda infeksiyonlara neden olan birçok Salmonella tipi et ve yumurta ile insanlara geçebilmektedir. Bu nedenle yumurtalarda çeşitli bakterilerin ve Salmonella'ların varlığı araştırılmıştır.

WHO'nun (14), 1988 yılında Salmonellosis'in kontrolü konusunda hazırladığı Expert'ler komitesi raporunda gelişmiş ülkelerin bulunduğu kuzeybatı Avrupa ülkeleri ve İngiltere'de son 30 yılda hayvan orijinli hazır gıdaların sorumlu olduğu Salmonella infeksiyonlarının giderek arttığı, İngiltere'de böyle olayların % 50'sinden fazlasının tavuk ürünlerinden meydana geldiği rapor edilmiştir. Aynı raporda gelişmekte olan ülkelerde örneğin, güney Amerika de doğu Akdeniz ülkelerinde gıda kaynaklı Salmonella infeksiyonlarının sık görüldüğü, ancak sağlıklı veri olmadığı için kesin durumun bilinmediği vurgulanmaktadır. Bizim gibi bir doğu Akdeniz ülkesi olan Mısır'da gıdalardan izole edilen Salmonella'ların % 10'unun yumurta ve yumurtalı yiyeceklerden izole edildiği rapor edilmiştir.

Hatipoğlu ve ark. (9), Ankara piyasasında satılan ve yakın köylerden temin ettikleri 500 adet yumurtayı muayene etmişler, % 1.5 E.coli, % 0.4 Proteus mirabilis, % 0.4 Shigella spp., % 0.2 Klebsiella spp. tespit etmişler, ancak Salmonella izole edemediklerini bildirmişlerdir.

Çalışkan (8), tavuk yumurtalarından Salmonella izolasyonu amacıyla yaptığı araştırmada 584 yumurta muayene ettiğini, ancak yumurtanın içinden ve kabuğundan Salmonella izole edemediğini, yumurtaların kabuğundan % 6.5 oranında Coliform grubu, % 2.3 oranında Citrobacter, % 1.3 oranında Shigella grubu mikroorganizma izole ettiğini bildirmişlerdir.

Arda (1), yumurtalarda bulunan mikroorganizmaları tespit etmek amacıyla, kuluçkaya konulmuş 1948 adet yumurtanın bakteriyolojik muayenesinde Salmonella izole edemediğini, ancak % 2.9 oranında Streptococcus, % 0.15 oranında Staphylococcus, % 0.82 oranında E.coli, % 0.1 oranında Mucor izole ettiğini bildirmiştir.

Chapman ve ark. (4), İngiltere'de meydana gelen 5 gıda zehirlenmesi olayında hastalardan S.typhimurium izole edildiğini, zehirlenmenin yumurtalı yiyeceklerden meydana geldiğinin tespit edildiğini, bunun üzerine yumurtaların alındığı işletmelerden 100 adet yumurta alarak Salmonella yönünden muayene ettiklerini, ancak Salmonella izole edemediklerini bildirmişlerdir.

Cowden ve ark. (6), İngiltere'de çiğ yumurta kullanılan yiyeceklerden meydana gelen 2 ayrı gıda zehirlenmesi olayında, insanlardan ve sorumlu tutulan işletmelerden alınan tavuk gaitası, altlık ve çevreden S.enteritidis izolasyonu yapıldığını, ancak birinci olayda muayene edilen 41 yumurtadan Salmonella izole edilemediğini, ikinci olayda ise sadece 1 yumurtanın kabuğunun izolasyonun başarıldığını bildirmişlerdir.

Perales ve Audicana (12), İspanya'da insanlarda Salmonella'ların sebep olduğu infeksiyonların % 90'ından yumurta ve ürünlerinin sorumlu olduğunu, kendilerinin şüpheli 1000 adet yumurtayı bakteriyolojik olarak muayene ettiklerini ve 6 yumurtadan S.entertidis izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Hopper ve Mawer (10), insanlarda görülen bir gıda zehirlenmesi olayından sorumlu tutulan bir sürüde ölen 50 tavuktan 14 adedinden S.enteritidis izole etmişler, Salmonella'lı tavukların yumurta kanalından alınan yumuşak kabuklu 7 yumurtanın ikisinin sadece kabuğundan, birisinin sadece sarısından, ikisinin hem kabuğundan, hem de sarısı ve beyazından S.enteritidis izole etmişler, ikisindedir Salmonella izole edememişlerdir.

Salmonella bakterilerinin gıda maddelerinden izolasyonu için sırasıyla ön zenginleştirici, zenginleştirici ve selektif besiyerine ekim yapılması önerilmektedir. Ön zenginleştirici besiyeri olarak genellikle bufferlı peptonlu su, zenginleştirici besiyeri olarak tetrathionat broth, selenit cystin broth, rappoport broth, selektif besiyeri olarak desoxycholate agar (DCA), salmonella shigella agar (SS), brilliant green-fenol red agar ve bismuth sulfite agar kullanılmaktadır.

İzole edilen Salmonella şüpheli kolonilerin identifikasyonu için biyokimyasal özelliklerinin test edilmesi ve serolojik testlerle teyit edilmesi gerektiği bildirilmektedir (3,4,11,13,14).

MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal :

3.1.1. **Yumurta** : 400 adet tavuk yumurtası muayene edilmiştir. Bunların 287 adedi 20 ayrı kümeden günlük yumurta olarak, 113 adedi 8 ayrı satış yerinden temin edilmiştir. Yumurta alınan kümeslerin 3 tanesi Salmonella infeksiyonu geçirmiş olup bu kümeslerden 31 adet yumurta alınmıştır.

3.1.2. **Besiyerleri** : Bufferlı peptonlu su, Tetrathionat Broth Base (Oxoid), Selenite Broth Base (Oxoid). Salmonella Shigella Agar (Oxoid) ve Desoxycholate Citrate Agar (Oxoid).

3.1.3. **Salmonella antiserumları** : Etlik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü ve Difco.

3.2. Metod :

Temin edilen yumurtaların herbiri bir numune olarak değerlendirilmiştir. Laboratuvarda yumurta numuneleri steril alüminyum kağıtlarla tutularak, dezenfekte edilen tarafından kırılarak akı ve sarısı steril beherlere alındı. Homojenize edilen yumurta içeriğinden 10 cc alınıp, 90 cc burferli peptonlu suya ekildi. Yumurtanın kabuğu ise steril havanda ezilerek direk olarak buf-

ferli peptonlu suya ekildi. Bufferli peptonlu sular 37°C'de 24 saat inkube edildi. Inkubasyon süresinin sonunda bufferli peptonlu su kültürlerinden 5'er cc alınarak 45'er cc'lik Tetrathionat buyyon ve selenit cyctine buyyonlara ekim yapıldı. 43°C'de 48 saat inkubasyonun sonunda, Salmonella shigella ve Desoxycholate citrat agarlara subkültür yapıldı. 37°C'de 24-28 saat inkubasyondan sonra Salmonella şüpheli koloniler gram boyama metodu ile incelendi. Biyokimyasal özelliklerinin tesbiti için üçlü tüp yöntemi uygulandı.

B U L G U L A R

1. Bu araştırmada muayene edilen 400 yumurtanın içinden ve kabuğundan Salmonella mikroorganizmaları izole edilememiştir.

2. Muayene edilen yumurtaların kabuğu içinden üreyen diğer bakteriler Tablo-1'de gösterilmiştir.

Buna göre yumurtaların kabuğundan 36 adet Klebsiella, 8 adet Citrobacter, 5 adet Enterobacter, 7 adet Staphylococ, 3 adet Serratia, 30 adet E.coli olmak üzere 90 adet bakteri izole edilmiş olup oran % 22.5'dir.

Yumurtanın içinden ise 3 adet Klebsiella, 8 adet Shigella, 1 adet Enterobacter, 1 adet E.coli olmak üzere 14 adet bakteri izolasyonu yapılmıştır. Oran % 3.25'dir.

Tablo-1 : 400 adet yumurtanın kabuğu ve içinden izole edilen bakteriler.

	Kabuk		Yumurtanın içi	
	Sayısı	%	Sayısı	%
Klebsiella spp.	36	9	3	0.75
Citrobacter spp.	8	2	-	-
Shigella spp.	1	0.25	8	2
Enterobacter spp.	5	1.6	1	0.25
Staphylococ spp.	7	1.7	-	-
Serratia spp.	3	0.75	-	-
E.coli	30	7.5	1	0.25
Toplam	90	22.5	13	3.25

T A R T I Ő M A

Bu araştırmada satış yerlerinden ve kümeslerden temin edilen 400 yumurtanın kabuğu ve içi ayrı ayrı olmak üzere Salmonellosis yönünden muayene edilmiş, ancak Salmonella etkeni izole edilememiştir. Çalışma, bölgemizde tavuklarda Salmonellosis vak'alarının artması üzerine teklif edilmiştir. 1987, 1988, 1989 yıllarında sırasıyla 37, 30, 45 adet olan Salmonellosis vak'a sayısı, araştırmanın yapıldığı 1990 yılında 11, 1991 yılında ilk dokuz ayda 7'ye düşmüştür. Bölgede Salmonellosis vak'alarının çok azalması izolasyon şansımızı azalttığı düşüncesindeyiz. Bu sonuç, Arda (1), alışkan (8) ve Hatipoğlu'nun (9) bulgularını teyit etmektedir. Araştırcılar sırasıyla 1984, 584 ve 500 adet yumurtayı muayene etmişler, ancak Salmonella bakterisi izole edememişlerdir. Arda (1) ve alışkan (8) bu durumu araştırmanın yapıldığı dönemde araştırma bölgesinde Salmonellosis'in sınırlı oranda görülmesine bağlamaktadır. Arda (1), ayrıca yumurtadan geçen infeksiyon etkenlerinin her hasta hayvan yumurtasında bulunmadığı gibi, her yumurtadan da etken izole etmenin mümkün olmadığını vurgulamaktadır.

Her hasta hayvan yumurtasında etkenin bulunmadığını gösteren araştırmalar vardır. Hopper ve Mawer (10), bizzat etken izolasyonu ile Salmonellosis'ten öldüğü tespit edilen 7 tavuğun yumurta kanalından aldıkları yumurtaların 5'inden Salmonella izole ettiklerini ve bunlardan da sadece iki yumurtanın sarısı ve beyazından etken izolasyonunu başardıklarını bildirmişlerdir. Bu araştırmada, Enstitümüz Tavuk Hastalıkları Laboratuvarınca Salmonellosis teşhisi konulan 3 kmesten 31 adet yumurta muayene edilmiş ancak etken izole edilememiştir.

Yumurtanın kontaminasyonunun büyük oranda gaitadan kabuğun kirlenmesi ile olduğu, bilahare taşınma ve muhafaza esnasında nem, ısı ve srenin uygun olması ile özellikle hasar görmüş kabuklardan etkenin içeriye penetre olmasının mümkün olduğu bildirilmektedir (2,6,7). Eğer yumurtanın kabuk ve kabuk altı zarı sağlam ise, buradaki bakterilerin uygun saklama koşullarında uzun süre yaşayamayacakları açıktır. Ayrıca, kabuktan ve kabuk altızarından içeri giren bakterilere karşı yumurta akının antibakteriyel etkisi vardır. Yumurta akının alkali oluşu, lizozim ve diğer inhibitörlerin etkisiyle buradaki bakteriler yumurta sarısına geçememekte ve bir süre sonra tahrip olmaktadır. Ancak, uzun süre bekletilmiş, kırılmış, sarısı ve beyazı karışmış, pişirilmiş yumurtalarda antibakteriyel etki ortadan kalkmaktadır. Bu aşamadan sonraki kontaminasyonlar yumurtadan ileri gelen insan infeksiyonları açısından tehlikelidir. Bu olayların daha çok pasta, mayonez gibi yumurta ile hazırlanan yiyeceklerden kaynaklanması bu şekilde açıklanmaktadır (6,14).

Araştırmadaki bulgularımız Chapman ve ark. (4) bulgularına uymaktadır. Araştırmacılar yumurtalı yiyeceklerden kaynaklanan 5 gıda zehirlenmesi olayında insanlardan *S.typhimurium* izole etmişler, sorumlu tutulan işletmelerden alınan 1000 yumurtadan *Salmonella* izole edememişlerdir. Perales ve Audicana (12), benzeri bir olayda 1000 yumurtadan 6'sında *S.enteritidis* izole etmişlerdir.

Araştırmada izole edilen diğer bakteriler için ayrıca besiyeri kullanılmamış olup, bu bakteriler *Salmonella* besiyerlerinde üreyen dirençli türler olarak değerlendirilmelidir. Yumurtanın kabuğundan % 22.5, içinden % 3.5 oranında bakteri izole edilmiştir. Kabuktan en fazla % 9 *Klebsiella*, % 7.5 *E.coli*, % 2 oranlarında *Citrobacter* izole edilmiştir. Yumurtanın içinden ise % 2 *Shigella* % 0.75 *Klebsiella*, % 0.25 oranlarında *E.coli* ve *Enterobacter* izole edilmiştir. Bulgularımız Arda (1), Çalışkan (8) ve Hatipoğlu'nun (9) bulgularına yakındır. Ancak, araştırmamızda yumurtanın içinden % 2 oranında *Shigella* izolasyonu dikkat çekicidir.

Ö Z E T

Bu araştırmada satış yerlerinden ve kümeslerden temin edilen 400 adet tavuk yumurtası *Salmonella* yönünden muayene edilmiştir.

Yumurtaların kabuğundan ve içinden yapılan muayenelerde *Salmonella* mikroorganizmaları izole edilememiştir.

Araştırılan 400 adet yumurtanın muayeneleri sonucunda yumurtanın kabuğundan 36 adet *Klebsiella*, 30 adet *E.coli*, 8 adet *Citrobacter*, 7 adet *Stafilokok*, 5 adet *Enterobacter*, 3 adet *Serratia* ve 1 adet *Shigella*, yumurtanın içinden ise 3 adet *Klebsiella*, 8 adet *Shigella*, 1'er adet *E.coli* ve *Enterobacter* tespit edilmiştir.

S U M M A R Y

In this study hens' eggs were examined for *Salmonellae*. These eggs were obtained from laying flocks and supermarkets.

Salmonellae were not isolated from the shell and the content of these eggs.

In our experiment, we isolated 36 *Klebsiella*, 30 *E.coli*, 8 *Citrobacter*, 7 *Staphylococ*, 5 *Enterobacter*, 3 *Serratia* and 1 *Shigella* from the shell of eggs and 3 *Klebsiella*, 8 *Shigella*, 1 *E.coli* and 1 *Enterobacter* from content of eggs.

L İ T E R A T Ü R

- 1 - ARDA, M. (1968) : Kuluçka Makinalarında Embryosu Ölen ve Embryosuz Yumurtalar Üzerinde Bakteriyolojik ve Virolojik Araştırmalar. A. Ü. Vet. Fak. Yayın: 227, A.Ü. Vet. ve Zir. Fak. Basımevi.
- 2 - BAKER, R.C., HOGARTY, S., POON, W. and VADEHRA, D.V. (1983) : Survival of Salmonella typhimurium and Staphylococcus aureus in Eggs Cooked by Different Methods. Poultry Science 62: 1211-1216.
- 3 - BEKAR, M. (1991) : Salmonella Genel Karakterleri ve Tanı Yöntemleri. Salmonella Seminer Notları.
- 4 - CHAPMAN, P.A., RHODES, P. and RYLANDS, W. (1988) : Salmonella typhimurium phage type 141 infections in Sheffield during 1984 and 1985: association with Hens' eggs. Epidem. Inf. 101, 75-82.
- 5 - COLLINS, C.H., LYNE, P.M. and GRANGE, J.M. (1989) : Collins and Lyne's Mikrobiological Methods. Sixth Edition, Butterworths, London.
- 6 - COWDEN, J.M., CHISHOLM, D., O'MAHONY, M., LYNCH, D., MAWER, S.L., SPAIN, G.E., WARD, L. and ROWE, B. (1989) : Two Outbreaks of Salmonella enteritidis phage type 4 Infection Associated with the consumption of Fresh Shell-Egg Products. Epidem. Inf. 103, 47-52.
- 7 - COX, N.A., BAFLEY, J.S., MAULDIN, J.M., BLANKENSHIP, L.C. and WILSON, J.L. (1991) : Extent of Salmonellae Contamination in Breeder Hatcheries. Poultry Science, 70: 416-418.
- 8 - ÇALIŞKAN, N. (1979) : Balıkesir Bölgesinde Sağlanan Tavuk Yumurtalarında Salmonella Yönünden Aratırmalar. Balıkesir Vet. Sağ. Kont. Lab. Müdürlüğü.
- 9 - HATİPOĞLU, M., ANTER, C., SÜER, I., YILMAZ, N. ve KERMAN, M. (1969) : Ankara Piyasasında Satılan Yumurtalarda enterobakteriler Yönünden Araştırma. Etlik Vet. Bakt. Enst. Derg. Cilt. 3, Sayı, 78, Sayfa: 92-97.
- 10 - HOOPER, S.A., MAWER, S. (1988) : Salmonella enteritidis in A Commercial Layer Flock. Veterinary Record, 123, 351.
- 11 - KONEMAN, E.W., ALLEN, S.D., DOWELL, V.R., SOMMERS, H.M. (1979) : Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. J. B. Lippincott Company, Philadelphia, Toronto.
- 12 - PERALES, I., AUDICANA, A. (1988) : Salmonella enteritidis and eggs. Lancet, 12, 1133.
- 13 - SCANLAN, C.M. (1988) : Intraduction to Veterinary Bacteriology, Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- 14 - WHO. (1988) : Salmonella Control: The Role of Animal and Product Hygiene Report of A WHO Expert Committee. Geneve.