

ANKARA İLİNDEKİ DONDURULMUŞ ET VE SEBZELERDE KOLIFORM VE ENTEROKOKLARIN FEKAL İNDİKATÖR BAKTERİ OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Evaluation of Coliform and Enterococcus as Fecal Indicator Bacteria in Frozen Meat and Vegetables in Ankara

Sumru ÇITAK¹, Neslihan GÜNDOĞAN¹, Erol KALA¹

¹Gazi Üniversitesi,
Fen - Edebiyat Fakültesi,
Biyoloji Bölümü,
ANKARA

Geliş Tarihi: 20.01.2010
Kabul Tarihi: 24.02.2010

İletişim:
Sumru ÇITAK
Gazi Üniversitesi,
Fen - Edebiyat Fakültesi,
Biyoloji Bölümü,
06500 Teknikokullar - ANKARA
Tel : 0312 202 11 91
E-posta : scitak@gazi.edu.tr

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada Ankara'da çeşitli süpermarketlerde satışı sunulan 120 adet dondurulmuş et ve sebze (köfte, kıyma, kuşbaşı, brokoli, bezelye ve karnabahar) örneklerinde fekal koliform ve fekal enterokokların indikatör bakteri açısından değerlendirilmesi ve bu örneklerdeki diğer mikrobiyolojik kriterlerin saptanması amaçlanmıştır.

Yöntem: 120 dondurulmuş et ve sebze örneğinden toplam aerob, koliform, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* ve fekal *Escherichia coli* türlerinin izolasyonu, identifikasyonu çeşitli konvansiyonel yöntemlerle yapılmış ve koloni sayımları (kob/g ve Log₁₀) değerlendirilmiştir.

Bulgular: 39 (% 32.5) fekal *E. coli*, 40 (% 33.3) fekal enterokok izole edilen 120 dondurulmuş gıda örneğinde toplam aerob bakteri 4.5x10⁵ - 5.4x10⁵ kob/g, koliform 2.12x10⁵ - 3.57x10⁵ kob/g, *Enterococcus sp* 3.53x10⁴ - 7.6x10⁴ kob/g, *S. aureus* 4.33x10⁵ - 5.18x10⁵ kob/g arasındaki değerlerde bulunmuştur. Kırk adet fekal enterokok izolatınının 28 (% 70)'i *Enterococcus faecalis*, 12 (% 30)'si *Enterococcus faecium* olarak tanımlanmıştır.

Sonuç: Çalışılan 120 dondurulmuş et ve sebze ürününün mikrobiyolojik kriterleri, Türk Standartları Enstitüsü (TSE) standart değerlerinin üzerinde bulunmuş, fekal enterokok koloni sayımları da yüksek tespit edilmiştir. Bu durum ülkemizdeki dondurulmuş gıdaların üretim, paketlenme ve depolama aşamalarındaki hijyenik şartların belirlenmesi için önerilen fekal *E. coli* ile birlikte fekal enterokokların da indikatör mikroorganizma olarak Türk Gıda Kodeksinde bulunması gerekliliğini göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Dondurulmuş gıda, fekal indikatör, *Echerichia coli*, enterokok

ABSTRACT

Objective: In this study, it was aimed to evaluate 120 frozen meat and vegetable samples (meat ball, minced meat, small chunks, broccoli, peas and cauliflower) purchased from different supermarkets in Ankara, Turkey for the presence of fecal coliform and fecal *Enterococcus* as indicator microorganisms and to determine of other bacteriological criteria in these samples.

Method: One hundred twenty samples including frozen meat and vegetables were analyzed for isolation of total aerobic bacteria, total coliform, *S. aureus*, *Enterococcus* and fecal *E.coli* by conventional biochemical tests and the results of colony counts of the isolates were evaluated as cfu/g and Log₁₀.

Results: It was found that the total numbers of aerobic bacteria, coliform, *Enterococcus spp*, and *S. aureus* were 4.5x10⁵ - 5.4x10⁵ cfu/g, 2.12x10⁵ - 3.57x10⁵ cfu/g, 3.53x10⁴ - 7.6x10⁴ cfu/g, and 4.33x10⁵ - 5.18x10⁵ cfu/g, respectively in 120 frozen food samples in which fecal *E. coli* and fecal *Enterococcus* were detected as 39 (32.5 %) and 40 (33.3 %) respectively. Among the 40 isolates of fecal *Enterococcus*, 28 (70 %) were *E. faecalis*, 12 (30 %) were *E. faecium*.

Conclusion: The microbiological criteria of the 120 frozen meat and vegetable samples which were analyzed were above the standart values of Turkish Standardization Institute (TSE) and the colony counts of fecal *Enterococcus* were also very high. This results showed that it is necessary to present fecal *Enterococcus* together with fecal *E. coli* as indicator microorganism in Turkish Food Codex.

Key Words: Frozen food, fecal indicator, *E.coli*, *Enterococcus*

GİRİŞ

Taze besinlere uygulanan saklama yöntemlerinden biri olan dondurma yöntemi, gıda maddelerinin yapısında bulunan ısı enerjisinin bir soğutucuya aktararak uzaklaştırılmasıyla, suyun sıvı halinden buz haline geçmesi olarak tanımlanmaktadır. Donma işlemi; ürün sıcaklığının donma noktasına kadar buz kristalleri oluşturması; donmuş ürünün istenen depolama sıcaklığına kadar soğutulması aşamalarından ibarettir. Dondurulmuş gıdalarda mikrobiyal üreme genellikle ambalajlamadan sonra kendini göstermektedir. Özellikle soğuk zincir şartlarına yeterince dikkat edilmemesi nedeniyle tüketime sunulan dondurulmuş gıdalarda geçici olarak inhibe edilmiş mikroorganizmalar tekrar üremektedir. Bunun dışında gıdalara uygulanan işlem sırasında hijyen kurallarına yeterince riayet etmeyen personel, yanısıra alet ve ekipmanlar özellikle fekal mikroorganizmalarca gıdaların kontamine olmasına aracılık etmektedirler (1, 2).

İndikatör mikroorganizmalar gıda sanayinde kurallara uygun üretim yapıp yapılmadığının göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Yapılan bazı araştırmalarda indikatör mikroorganizmaların mutlaka dışkı kökenli olması gerektiği diğer bazı araştırmalarda ise her türlü mikroorganizmanın indikatör olarak kabul edilebileceği bildirilmektedir (3). Buna bağlı olarak toplam bakteri, toplam maya ve küf, toplam osmofilik ve osmotolerant mayalar, kserofil küfler, toplam proteolitik bakteriler, toplam koliformlar vb. gibi farklı mikroorganizmalar farklı gıdaların kalitesinin belirlenmesinde indikatör mikroorganizma olarak kullanılmaktadır (4). Yapılan çalışmalarda fekal kontaminasyon göstergesi olarak fekal koliformlar,

enterokoklar, *Clostridium perfringens* ve *E. coli* yer almaktadır (5). Andrew ve Harder tarafından 1906 yılında yapılan eski sınıflandırmada *Streptococcus faecalis* ve *Streptococcus faecium* türleri, yeni sınıflandırmada Lancefield D grubunda yer almakta olup *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* olarak adlandırılmıştır. Hayvanların gastrointestinal sisteminde de enterokok bulunması kesimhanelerde ete bulaşma potansiyelini arttırmaktadır. Enterokoklar yalnız sıcakkanlı hayvanlarda değil aynı zamanda toprakta, yüzey sularında, bitki ve sebzelerde de bulunmaktadır (6-8). Yapılan birçok araştırmada gıdalarda en fazla izole edilen enterokok cinsine ait olan türler *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'dur. *Enterococcus durans*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus mundtii*, *Enterococcus raffinosus* daha az sıklıkla bulunmaktadır. *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans* türlerinin dışkı orjinli olmaları ve sularda üreyebilmeleri, bu bakterilerin sularda fekal kontaminasyonun göstergesi olarak tanımlanmalarına neden olmuştur. Kurutma ve dondurma gibi olumsuz ortam şartlarında indikatör koliform bakterilere nazaran enterokoklar yüksek dirençlilik oluşturmaktadır. Bu nedenle enterokoklar su, dondurulmuş sebze ve dondurma dahil değişik gıda ürünlerinde doğrudan fekal kontaminasyon indikatörü olarak mikrobiyolojik kriterler arasında yer alması eğilimi artmıştır. *E. faecalis*'in asit gıdalarda *E. coli*'ye oranla daha uzun süre yaşadığı, sprey-boyalar ile kurutulmuş yumurta tozlarının depolanma süresinde enterokokların, *E. coli* ve koliform grubuna göre daha yüksek performans gösterdiği belirlenmiştir. Soğuk ve rutubetli topraklarda *E. faecalis*'in canlı

kalma süresi uzadığı gibi özellikle donmuş gıdalarda enterokokların koliform gruba oranla daha etkili indikatörler olduğu tespit edilmiştir. Dondurulmuş sebzelerde olduğu gibi dondurulmuş balık ürünlerinde de koliform grup ve enterokoklar kıyaslandığında; belirgin şekilde enterokokların sayısal üstünlüğü görülmektedir (9-13). Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda Ankara İlinde çeşitli süpermarketlerde satılan 120 adet dondurulmuş et ve sebze ürününden izole edilen fekal koliform ve fekal enterokokların indikatör mikroorganizma açısından incelenmesi ve bu örneklerde toplam aerob mikroorganizma sayısı ile birlikte toplam *S. aureus* sayımları değerlendirilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamızda Ankara'nın çeşitli market ve süpermarketlerinden toplanan 20 (köfte, kıyma, kuşbaşı, brokoli, bezelye, karnabahar)'şer olmak üzere toplam 120 dondurulmuş et ve sebze örneklerinden enterokok ve fekal koliform türlerinin izolasyonu, identifikasyonu ve sayımı yapılmıştır. Ayrıca çalışmamızda, örneklerdeki toplam aerob ve *Staphylococcus aureus* sayıları değerlendirilmiştir.

Örneklerin Analize Hazırlanması: Dondurulmuş et ve sebze örneklerinden 10'ar gr alınarak içerisinde 90 ml steril serum fizyolojik bulunan steril erlenlere aktarılmış ve homojenizatörde (Stomacher 400) bir dakika süreyle homojenize edildikten sonra 10^{-3} dilüsyon serisine kadar hazırlanarak mikrobiyolojik ekimleri yapılmıştır.

Toplam Aerob Canlı Mikroorganizma Sayımı: Dondurulmuş et ve sebze örneklerinde toplam aerob canlı mikroorganizma sayımı için Plate Count Agar (PCA) (Difco Ltd) besiyeri kullanılarak ekimi yapılan petrilere 30 °C'de 2-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda gelişen koloniler kob/g olarak sayılmıştır (14).

Toplam *S. aureus* Sayımı: *S. aureus* bakterilerinin sayımı için Baird-Barker Agar steril edildikten sonra

50 °C'ye soğutulup, içerisine Egg Yolk Tellurite Emulsion (SR54) bir litreye 50 ml olacak şekilde ilave edilmiş, petri kutularına döküldükten sonra yüzeye sürme ekim yapılmıştır. 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilerek, gri/siyah koloniler kob/g olarak sayılmıştır (14).

Koliform Grubu Bakteri Sayımı ve Fekal Koliform İzolasyonu: Koliform grubu bakterilerin sayımında, uygun dilüsyonlardan Violet Red Bile Agar (VRBA) (Merck Ltd) besiyerine çift plaka yöntemiyle ekim yapılarak 37 °C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. 0,5 mm ya da daha büyük çaptaki parlak pembe-kırmızı koloniler koliform olarak sayılmıştır. Bu kolonilerden Brilliant Green Bile (% 2) Broth (Oxoid) ekilerek gaz oluşumu gözlenen tüplerden içerisinde durham tüpü bulunan *E. coli* Broth besiyeri bulunan tüplere inoküle edilip 48-72 saat 45,5 °C'de su banyosunda inkübasyonu sonucunda gaz oluşumu görülen tüpler fekal koliform olarak değerlendirilmiştir.

Fekal koliform analizinde gaz oluşumu görülen *E. coli* (EC) brothlu tüpler Eosine Methylene Blue Agara öze ile inoküle edilip 35 °C'de 24-48 saat inkübasyon sonucunda 2-3 mm çapında küçük siyah merkezli, metalik yeşil, parlak renkli koloniler *E. coli* şüpheli olarak değerlendirilmiştir. Bu kolonilere indol, metil red, voges proskauer ve sitrat testleri uygulanarak *E. coli*'nin varlığı test sonuçlarına göre değerlendirilmiştir (14).

Enterokok İzolasyonu, Sayım ve Adlandırılması: 90 ml Azide Dextrose Broth'a 10 gr dondurulmuş et veya sebze örnekleri iki dakika blendırda parçalanarak 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} dilüsyonlardan 100 µl Slanetz-Bartley (Oxoid CM:337) (SB) besiyerine ekim yapılarak 48-72 saat inkübe edilmiştir. Slanetz-Bartley besiyerlerinde üreyen tipik pembe ve kırmızı renkteki koloniler enterokok olarak değerlendirilip sayımları yapılmıştır. Bu koloniler stoklama amacı ile Colombia Blood Agar Base (Oxoid CA:331)'e pasajlanarak 24-48 saat 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Colombia Blood Agar Base

besiyerinden alınan bu kolonilere enterokokların tür tanımlaması için çeşitli biyokimyasal testler uygulanmıştır. Gram pozitif, katalaz negatif özellik gösteren kolonilere 10 °C ve 45 °C'de üreme; % 6,5'lük NaCl'de üreme; eskulin hidrolizi ve PYR testi uygulanmıştır. 10 °C ve 45 °C'de üreyen % 6,5'lük NaCl'de üremesi pozitif, eskulini hidrolize eden ve PYR testi (+) kolonilere *Enterococcus sp.* ön tanısı konulmuştur. Ön tanısı yapılan enterokok izolatlarının tür seviyesinde adlandırılması için % 10'lük karbohidrat fermentasyon testi (mannitol, sorbitol, sorboz, L-Arabinoz, sukroz, D-Raffinoz, laktöz), arjinin hidrolizi (Thornley) ve motility (hareket) testleri uygulanmıştır. Enterokok türlerinin ayırımında daha önce tanımlanan biyokimyasal testler esas alınmıştır (15,16).

BULGULAR

Araştırmamızda materyal olarak kullanılan 120 dondurulmuş et ve sebze örneğindeki toplam aerob, koliform, enterokok ve *S. aureus* ortalama koloni sayım sonuçları Tablo 1'de belirtilmiştir.

Dondurulmuş et ve sebze örneklerinden izole edilen enterokokların tür dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir.

Araştırmamızda dondurulmuş 120 et ve sebze örneğinden toplam 63 (% 52,5) *Enterococcus* türü

izole edilmiştir. 63 enterokok izolatınının 40 (% 63,4)'ı fekal enterokok olarak tespit edilmiş; bunlardan en yüksek sıklıkta 28 (% 70)'i *E. faecalis*, 12 (% 30)'si *E. faecium* olarak tanımlanmıştır. Diğer enterokok türlerine daha az sıklıkta rastlanmıştır: *E. hirae* 7 (% 11.1), *E. durans* 6 (% 9.5), *E. gallinarum* 4 (% 6.4), *E. mundtii* 4 (% 6.4), *E. raffinosus* 2 (% 3.2) (Tablo 2).

Çalışılan dondurulmuş 120 et ve sebze örneğinden fekal orjinli olarak toplam 39 (%32,5) *E. coli*, 40 (%33.3) enterokok izole edilmiştir. Örneklerden en yüksek sıklıkta fekal *E. coli* dokuzar kıyma ve bezelye örneğinde % 45, fekal enterokok dokuzar kıyma ve kuşbaşında % 45 oranında saptanmıştır (Tablo 3).

Tablo 2. Dondurulmuş et ve sebze örneklerinden izole edilen enterokok tür dağılımı

Enterokok	İzolasyon	
	Sayı	%
<i>Enterococcus faecalis</i>	28	44,4
<i>Enterococcus faecium</i>	12	19
<i>Enterococcus hirae</i>	7	11.1
<i>Enterococcus durans</i>	6	9,5
<i>Enterococcus gallinarum</i>	4	6,4
<i>Enterococcus mundtii</i>	4	6,4
<i>Enterococcus raffinosus</i>	2	3,2
TOPLAM	63	52,5

Tablo 1. Dondurulmuş 120 et ve sebze örneğinde toplam aerob, koliform, enterokok ve *S. aureus* koloni sayımlarının dağılımı

Dondurulmuş ürün (n=120)	Mikrobiyolojik değerler							
	Top.aerob bakteri		Koliform		Enterokok		<i>S.aureus</i>	
	kob/g	Log ₁₀ kob	kob/g	Log ₁₀ kob	kob/g	Log ₁₀ kob	kob/g	Log ₁₀ kob
Köfte (n=20)	5.4x10 ⁵	5.73	2.12x10 ⁵	5.32	7.6x10 ⁴	4.88	5.18x10 ⁵	5.88
Kıyma (n=20)	4.91x10 ⁵	5.69	2.85x10 ⁵	5.45	3.53x10 ⁴	4.54	4.50x10 ⁵	5.65
Kuşbaşı (n=20)	4.5x10 ⁵	5.65	3.57x10 ⁵	5.55	7.83x10 ⁴	4.89	4.33x10 ⁵	5.63
Brokoli (n=20)	4.67x10 ⁵	5.67	2.55x10 ⁵	5.40	4.36x10 ⁴	4.64	3.90x10 ⁵	5.59
Bezelye (n=20)	4.9x10 ⁵	5.69	2.34x10 ⁵	5.37	5.56x10 ⁴	4.74	2.85x10 ⁵	5.45
Karnıbahar (n=20)	3.36x10 ⁵	5.53	3.23x10 ⁵	5.51	4.14x10 ⁴	4.62	3.52x10 ⁵	5.55

Tablo 3. Dondurulmuş et ve sebze örneğinden izole edilen fekal koliform ve enterokok dağılımı

Dondurulmuş ürün	Mikroorganizma			
	Fekal <i>E. coli</i>		Fekal enterokok	
	n	%	n	%
Köfte (n:20)	1	5	5	25
Kıyma (n:20)	9	45	9	45
Kuşbaşı (n:20)	7	35	9	45
Brokoli (n:20)	8	40	8	40
Bezelye (n:20)	9	45	6	30
Karnabahar (n:20)	3	25	3	15
TOPLAM (n:120)	39	32.5	40	33.3

TARTIŞMA

Dondurulmuş gıdalarda indikatör mikroorganizmaların varlığı ve bu indikatörün gıdada belirli bir limitin üstünde bulunması, ürünlerin yetersiz hijyen ve sanitasyon koşullarında işlendiğini, insan, hayvan, toprak, su ve dışkı kaynaklı bir bulaşma ile birlikte toksijenik mikroorganizmalarla kontamine olabilecek koşullarda üretilip tüketime sunulduğunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir.

E. coli, özellikle fekal kontaminasyon indikatörü olma ve genetik araştırmalarda kullanılma nedenleriyle halen üzerinde en çok çalışılan bakteri olma niteliğini taşımaktadır (17). Son yıllarda yapılan gıda kaynaklı çalışmalarda fekal enterokoklar, fekal *E. coli*'ye oranla dondurma işlemine daha dirençli, %6.5 tuza karşı toleranslı olmaları nedeni ile fekal kontaminasyon indikatörü olarak kabul edilmekte olup, mikrobiyolojik kriterlerde yer almaktadırlar (10, 18).

Araştırmamızda dondurulmuş et ürünlerinde toplam aerob bakteri sayısı 4.5×10^5 - 5.4×10^5 kob/g, koliform sayısı 2.12×10^5 - 3.57×10^5 kob/g, enterokok sayısı 3.53×10^4 - 7.6×10^4 kob/g, *S. aureus* sayısı 4.33×10^5 - 5.18×10^5 kob/g arasında değişmektedir (Tablo 1). Saptadığımız koliform, enterokok ve *S. aureus* koloni sayıları Gıdalardaki Mikrobiyolojik

Özellikler Uluslararası Komisyonu (ICMSF - International Commission on Microbiological Specification for Foods, 1978) ve Türk Standartları Enstitüsü (TSE) (1990-2003) standartlarına uygun bulunmamıştır. Bu standartlara göre dondurulmuş et ürünlerinde toplam aerobik mikroorganizma $\leq 5 \times 10^6$ kob/g, koliform $\leq 10^2$ kob/gr altında olmalı, *E. coli* ve *S. aureus* bulunmamalıdır. Karaboz ve arkadaşları İzmir'de marketlerde satılan 35 dondurulmuş et örneğinde fekal streptokok koloni sayısını $2,9 \times 10^3$ - $1,1 \times 10^5$ kob/g. arasında bulmuşlardır (22). Araştırmamızda fekal *Streptococcus* sayısı köfte örneklerinde $3,6 \times 10^3$ - $4,0 \times 10^5$ kob/g., kıyma örneklerinde $4,0 \times 10^3$ - $3,6 \times 10^5$ kob/g ve kuşbaşı örneklerinde $3,810^3$ - $6,2 \times 10^5$ kob/g olup, Karaboz ve arkadaşlarının sonuçları ile uygunluk göstermektedir. Aynı çalışmada koliform ve *S. aureus* koloni sayısı araştırmamızın sonuçlarından daha düşük olarak saptanmıştır. Capita ve arkadaşları, İspanya'da beş farklı perakendeciden alınan dondurulmuş 40 ızgaralık piliç örneğinde yaptıkları çalışmada toplam aerobik mikroorganizma sayısı \log_{10} kob/g $5,19 \pm 0,43$, koliform sayısı \log_{10} $2,73 \pm 0,29$ ve *E. coli* sayısı \log_{10} $3,16 \pm 0,69$ olarak tespit edilmiştir. Elde edilen toplam aerob sayıları bizim toplam aerob sayılarımızla benzerlik gösterirken, koliform sayısı oldukça düşüktür (23).

Enterokok cinsi bakteriler insan ve hayvan bağırsaklarında normal floranın parçası olup, memelilerin gastrointestinal sisteminde bulunurlar. Araştırmamızda dondurulmuş 120 et ve sebze örneğinden toplam 63 (% 52,5) enterokok türü izole edilmiştir. Bunların % 63,4'ünün fekal enterokok olduğu ve % 70'inde *E. faecalis*, %30'unda ise *E. faecium* olduğu belirlenmiştir (Tablo 2). Sonuçlarımız ile uygunluk gösteren Tansuphasin ve arkadaşlarının 2006 yılında dondurulmuş 103 hayvansal kaynaklı (tavuk, karides) örnek üzerindeki çalışmasında da 113 enterokok izolatının içinde en yüksek sıklıkta *E. faecalis* (% 28.9), *E. faecium* (% 8.8), olmak üzere *E. durans* (% 4.2), *E. raffinosus* (% 0.8)

ve diğer türler (*E. avium*, *E. mallodoratus*, *E. hirae*, *E. gallinarum*) % 4.6 oranında tespit etmişlerdir (24). Devriese ve arkadaşlarının taze ve hazır gıda örneklerinde yaptıkları çalışmada izole ettikleri 161 enterokok izolatının 94 (% 58,3)'ü *E. faecalis*, 71 (% 44,1)'i *E. faecium* ve 15 (% 9,3)'i de *E. hirae* veya *E. durans* olarak tanımlamaları çalışmamızda izole ettiğimiz enterokok türlerinin dağılımı ile paralellik göstermektedir (25).

Bir gıdada bulunan enterokok sayısının yorumlanması, bulunduğu gıdaya göre değişir. Düşük enterokok sayım sonuçları, işlem görmemiş gıdalar için önemsiz kabul edilirken dondurulmuş, pişirilmiş veya işlem görmüş diğer bazı gıdalarda önemli bir yere sahiptir (4). Diğer taraftan enterokoklar yetersiz sanitasyon uygulamaları nedeniyle işletmelerde alet ve ekipmanların yüzeyinde özellikle süt endüstrisinde yetersiz sanitasyon işlemleri sonucunda sıklıkla üreyebilmektedirler. Ayrıca enterokok türleri, lipolitik ve esterolitik aktivite, sitrattan yararlanma ve uçucu aromatik bileşikler sentezleme gibi özellikleri nedeni ile süt ürünlerinde starter kültür olarak kullanılmaktadırlar. Yine de "klasik enterokoklar" en azından dondurulmuş gıdalar için sanitasyon indikatörü olarak belirli bir değere sahiptir (6).

Haşlanıp dondurulmuş gıda ürünlerinin koliformlar ve *E. coli* üzerinde yapılan bir çalışmada izolatların %40'ında fekal koliform testinin sonucu pozitif olarak saptanmış, fekal koliform testinde pozitif sonuç alınan örneklerin ise sadece % 29'unda *E. coli* belirlenmiştir. *E. coli* dondurma işlemine karşı duyarlı olduğu için elde edilen düşük *E. coli* sayıları bu nedene bağlanmıştır (26).

Hirovani ve arkadaşları ABD ve Meksika'da pazar yerlerinde satılan domates, yeşil salata, lahanaya,

pırasa, biber, havuç, kırmızı turp, semizotu, kereviz, ıspanak, Çin Lahanası ve maydanoz olmak üzere 12 farklı sebzenin yüzeyinden aldıkları örneklerden yaptıkları çalışmada örneklerin hepsinde fekal streptokok, koliform ve fekal koliform bakterileri izole etmişlerdir. Yapılan çalışmada fekal streptokok sayıları diğer indikatörler ile önemli bir benzerlik göstermektedir (27).

Araştırmamızda, dondurulmuş 120 et ve sebze örneğinden toplam 39 (% 32,5) fekal *E. coli*, 40 (% 33,3) fekal enterokok izole edilmiştir (Tablo 3). Ülkemizde Turantaş ve arkadaşları 2001 yılında 53 dondurma ve 55 dondurulmuş sebze (kırmızı biber, yeşilbiber, bezelye, patates, brokoli, karnabahar, domates, havuç ve yeşil fasulye) örneklerinde yapmış oldukları çalışmada da 58 (% 53)'i koliform, 12 (% 11)'si fekal koliform ve 84 (% 78)'ü fekal streptokok yönünden pozitif sonuç vermiştir. Koliform ve fekal streptokokların bu kadar yüksek oranda izole edilmesi, koliform ve fekal streptokokların dondurulmuş sebzelerde sanitasyon göstergesi olarak kullanılmasını olası kılmaktadır (28).

Çalışmamızda elde edilen koliform mikroorganizma, *E. coli* ve *S. aureus* sonuçları, ICMSF ve TSE 1990-2003 standartlarının dondurulmuş et ve sebze ürünlerindeki mikrobiyolojik kriterlerde belirtilen sayılardan daha yüksek oranda tespit edilmiş ayrıca fekal enterokok sayıları da yüksek oranda bulunmuştur. Ülkemizdeki dondurulmuş gıdaların üretim, paketlenme ve depolama aşamalarındaki hijyen durumlarının belirlenmesi için koliform mikroorganizma ve *E. coli*'ye oranla kurutma ve dondurma gibi olumsuz şartlara daha dayanıklı olan fekal enterokokların da indikatör mikroorganizma olarak mikrobiyolojik kriterler içerisinde yer alması gerekliliğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Keeratipibul S, Techaruwichit P, Chaturongkasumrit Y. Contamination sources of coliforms in two different types of frozen ready-to-eat shrimps. *Food Control*, 2009; 20: 289-93.
2. Gökalp H, Kaya M, Zorba Ö. Et ürünleri işleme mühendisliği, 2. baskı, Atatürk Üniv. Yayın No: 786; 320. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum, 561.
3. Chen L, Wong H, Yu C. Occurrence of Vibrios in frozen seafoods and survival of psychotrophic *Vibrio cholerae* in broth and shrimp homogenate at low temperatures. *Journal of Food Protection*, 1994; 58: 263-7.
4. Temiz A. Gıdalarda indikatör mikroorganizmalar. Ünlütürk A, Turantaş F (Eds). Gıda Mikrobiyolojisi. İzmir: Mengi Tan Basımevi, 1998; 88-104.
5. Birollo GA, Reinheimer JA, Vinderola CG. Enterococci vs non-lactic acid microflora as hygiene indicators for sweetened yoghurt. *Food Microbiology*, 2001; 18: 597-604.
6. Klein G. Taxonomy, Ecology and antibiotic resistance of Enterococci from food and gastro-intestinal tract. *International Journal of Food Microbiology*, 2003; 88 (2-3): 123-31.
7. Domig KJ, Mayer HK, Kneifel W. Methods used for the isolation, characterisation and identification of *Enterococcus spp.* 1. Media for isolation and enumeration. *International Journal of Food Microbiology*, 2003; 88 (2-3): 147-64.
8. Franz CMAP, Holzapfel WH, Stiles ME. Enterococci at the crossroads of the food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 1999; 47 (1-2): 1-24.
9. Giraffa G. Enterococci from foods. *FEMS Microbiology Reviews*, 2002; 26 (2): 163-71.
10. Shapton DA, Shapton NF. Criteria for ingredients and finished products. In: Principles and practices for the safe processing of foods. Oxford: Butterworth-Heinemann, 1991; 377-444.
11. Burton MC. Comparison of coliform and *Enterococcus* organisms as indices of pollution in frozen foods. *Food Res*, 1949; 14: 434-48.
12. Baumgart J. Microbiologische untersuchung von lebemsmitteln.3, 1993. Aufle Behr's, Hamburg.
13. Çolakoğlu FA, Ova G, Köseoğlu B. Taze ve işlenmiş gümüş balığının (Atherina boyeri Risso,1810) mikrobiyolojik kalitesi. E.Ü.Su ürünleri Dergisi, 2006; 23(1/3): 393-5.
14. BAM, Bacteriological Analytical Manual.1998. FDA,8th Ed. Revision A, AOAC Gaithersburg, MD 20877, USA.
15. Facklam RR, Sahm DF. Enterococcus. Manual of Clinical Microbiology, 6th edition, American Society for Microbiology, Washington DC, 1995; 48: 308-14.
16. Barrow GJ, Fetham RKA. Cowan and Steel's of Manual Clinical Microbiology. Mosby Year Book Europe Limited, London, 1995; 308-12.
17. de Sausa GB, Tamagnini LM, Olmos PD, Gonzalez RD. Microbial enumeration in ready-to-eat foods and their relationship to good manufacturing practice. *Journal of Food Safety*, 2002; 22: 27-38.
18. Gonzalez RD, Tamagnini LM, Olmos PD, de Sousa GB. Evaluation of a chromogenic medium for total coliforms and *Escherichia coli* determination in ready-to-eat foods. *Food Microbiology*. 2003; 20: 601-4.
19. ICMSF(The International Commision on Microbiological Specifications for Food), Microorganism in Foods, 2nd Edition, University of Toronto press, Canada. 1978, 213sp.
20. Ercoşkun A. Gıda maddeleri tüzüğü. İşçi sağlığı ve iş güvenliği tüzüğü. Hemay-Petek Sağlık Yayınları. Yayın No:2.
21. Turantaş F. Mikrobiyolojik kriterler. Ünlütürk A, Turantaş F (Eds). Gıda Mikrobiyolojisi. İzmir: Mengi Tan Basımevi, 1998; 517-48.
22. Karaboz I, Dinçer B. Microbiological investigation on some for the commercial frozen meat in İzmir. *Turkish Electronic Journal of Biotechnology*, 2002; Special Issue 21: 18-23.
23. Capita R, Alonso-Calleja C, Garcia-Arias MT, Moreno B, Del Camino Garcia-Fernandez M. Methods to detect the occurrence of various indicator bacteria on the surface of retail poultry in Spain. *Journal of Food Science*, 2002; 67(2): 86-99.
24. Tansuphasin U, Khaminthakul D, Pandii W. Antibiotic resistance of enterococci isolated from frozen foods and environmental water. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2006; 37(1): 162-70.
25. Devriese LA, Pot B, Van Dame L, Kersters K, Haesbrouck F. Identification of *Enterococcus* species isolated from foods of animal origin. *International Journal of Food Microbiology*, 1995; 26: 187-97.
26. Splittstoesser, D.F. "Indicator organisms on frozen blanched vegetables". *Food Technology*, 1983; 14: 105-6.
27. Hirotani H, Naranjo J, Moroyoqui PG, Gerba CP. Demonstration of indicator microorganisms on surface of vegetables on the market in the United States and Mexico. *Journal of Food Microbiology and Safety*, 2001; 67(5): 1847-50.
28. Turantaş F. Çiğ sütlerde epifloresan mikroskopi tekniği ile toplam mikroorganizma sayısının saptanması. Ege Üniversitesi Müh. Fak. Dergisi. Seri:B, 1993; 11: 59-65.