

Kahramanmaraş'ta Tüketime Sunulan Tavuk Etlerinde *Listeria* Türlerinin Patojenitesi'nin Belirlenmesi

Ferdağ ÇOLAK¹, Metin DIĞRAK², Zelal AKSOY²

¹Dumlupınar Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Merkez Kampüsü, Kütahya

²Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Avşar Kampüsü, Kahramanmaraş

Geliş Tarihi: 01.11.2006

Kabul Tarihi: 06.06.2007

ÖZET: Doğada çok yaygın olarak bulunan *Listeria* türleri ve özellikle de *Listeria monocytogenes* insan ve birçok hayvan türü için patojen bir mikroorganizmadır. Son yıllarda insanlarda görülen *Listeria* salgınlarında başta süt ve süt ürünleri olmak üzere et ve et ürünleri, balık ve kanatlı etleri gibi hayvansal kökenli gıdalar üzerinde patojenik olarak önemli bir rol oynadığı ortaya konmuştur. Bu çalışmada, Kahramanmaraş ilinde çeşitli satış yerlerinden temin edilen 30 tavuk eti örneğininde *Listeria* türleri araştırılmıştır. Bütün örnekler 30 °C'de zenginleştirme yöntemi uygulanmış ve *Listeria* Selektif Agar besiyerine yapılan ekimlerin sonucu değerlendirilmiştir. İnceleme sonucunda örneklerin 20'sinde *Listeria* izole edilmiştir. Yapılan biyokimyasal testler sonucunda bu izolatların tümünün *Listeria grayi* olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Tavuk eti, *Listeria* spp, *Listeria monocytogenes*.

Pathogeny of *Listeria* Species in Retail Chicken Meat Consumed in Kahramanmaraş City

ABSTRACT: *Listeria* spp and particularly *Listeria monocytogenes* is a human and a wide variety of animals pathogen that are widespread in nature. In recent years it has been determined that some food as meat and products, chicken and fish of animal origine particularly milk and milk products played a major causative role in *Listeria* outbreak. *Listeria monocytogenes* has been isolated from a wide variety of foods, including milk, dairy products, meat, chicken and fish, most of the foodborne Listeriosis outbreaks have been linked to the consumption of dairy products as well as other foods. In this study, the presence of *Listeria* species 30 chicken meat samples obtained from different meat markets in Kahramanmaraş city was studied. All samples were incubated at 30°C for 48 hours enrichment method and this incubation was performed for enrichment of potential *Listeria* species in the samples which were inoculated onto *Listeria* Selective Agar Base. At the end of initial, 20 *Listeria* strain were isolated from samples. Over all isolation were identified as *Listeria grayi*.

Key Words: Chicken meat, *Listeria* spp, *Listeria monocytogenes*.

GİRİŞ

Son yıllarda dünyada tavukçuluk endüstrisinde görülen hızlı gelişme ve insanların tüketim alışkanlıklarındaki gelişmeye paralel olarak tavuk etinden kaynaklanan gıda enfeksiyon ve zehirlenme olayları artmıştır. Tavuk eti, sağlıklı ve ekonomik olmasına karşın, üretim teknolojisi ve özellikle kesim işlemi sırasında şekillenen çapraz kontaminasyonlar ile pişirme ve muhafaza hataları nedeniyle çoğu patojen mikroorganizmaların da önemli bir kaynağı durumundadır (Kampelmacher, 1987). *Listeria* enfeksiyonlarında bulaşmanın primer veya sekonder olarak kontamine olmuş çiğ ya da az pişmiş gıdalar ile pişirme işleminden sonra çeşitli nedenlerle *Listeria* türleri ile kontamine olmuş gıdalardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, kontamineli gıdalardan dolayı Listeriosis enfeksiyonlarının özellikle immün sistemi baskılanmış insanlarda önemli sağlık sorunları oluşturduğunu ortaya koymaktadır (Erol ve Şireli, 1999). Schuchat ve ark. (1991) yaptıkları vaka kontrol çalışmalarında insanlardaki tüm Listeriosis olgularının % 6'sının az pişmiş tavuk eti tüketimi sonucu şekillendiğini bildirmişlerdir. Kaczmarek

ve Jones (1989) İngiltere'de steroid tedavisi gören immün sistemi baskılanmış bir kadında fast food tipi pişmiş tavuk eti tüketimine bağlı bir Listeriosis olgusunun *L. monocytogenes* serotip 1/2a'dan kaynaklandığını rapor etmişler ve bunun da muhtemelen tavuk etinin yetersiz pişirilmesi sonucu meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Listeria'lar doğada çok yaygın olup toz, toprak, kanalizasyon, çürük bitkiler ve hayvan yemlerinden, sığır, koyun, keçi, manda, geyik, domuz, at, köpek, tavuk, hindi, kaz, ördek, balık gibi birçok hayvanın taze ve işlenmiş et ürünlerinden, süt ve süt ürünlerinden izole edilmiştir (Johnson ve ark,1990, Ekici ve ark, 2004). *Listeria*'lar düşük pH'ya, sıcaklığa, tuza toleranslı bakteriler olup, psikrofilik karakterleri nedeniyle soğukta muhafaza edilen gıdalarda birçok mikroorganizmaya göre daha iyi çoğalabilirler (Sancak ve ark, 2002).

Et ve et ürünlerinde patojen olmayan *Listeria*'lar fazlaca bulunur. *L. innocua* çoğu kere *L. monocytogenes*'den daha sık izole edilmiştir. Ayrıca *L. seeligeri*, *L. welshimeri*'de yaygın olup *L. grayi* ve *L. murrayi*'de bulunmuştur (Güven ve Patır, 1998). Ülkemizde Çiftçiöğlü (1992) tarafından yapılan bir

çalışmada, tavuk etlerinin, % 3'ünde *L. monocytogenes*, %14'ünde *L. innocua* olmak üzere % 17'sinde *Listeria* türlerinin bulunduğunu bildirmiştir. Listeriosis yıllar önce tanımlanmış olmasına rağmen özellikle 1980'li yıllarda bazı ülkelerde ölümlerle sonuçlanan bir çok enfeksiyon vakasının ortaya çıkması dikkatlerin tekrar *Listeria*'lar üzerine çekilmesine sebep olmuştur (Ekici ve ark, 2004).

Bu çalışma, Kahramanmaraş il merkezinde tüketime sunulan tavuk eti örneklerinde *Listeria* türlerinin oranını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Örnek

Bu çalışmada, Kahramanmaraş il merkezindeki çeşitli yerlerde bulunan şarküterilerde, açıkta satışa sunulan tavuk etlerinden rasgele seçilerek alınmıştır. Bu amaçla piyasadan toplam 30 adet tavuk eti örneği toplanmıştır. Seçilen her bir örneğin, but ve döş bölgesinin yüzeysel kısımlarından steril bir bisturi yardımı aseptik şartlarda alınmıştır. Örnekler steril cam kaplara steril bir şekilde alınarak soğuk zincirde laboratuara getirilmiş ve aynı gün içinde analize alınmıştır. Örneklerin zenginleştirilmesinde ve *Listeria* türlerinin izolasyon ve identifikasyonunda FDA (Food and Drug Administration) tarafından önerilen metotlar kullanılmıştır (Hitchins, 1998).

Zenginleştirme

Laboratuvara getirilen tavuk eti örneklerinden aseptik koşullarda 25 g alınarak üzerine 225 ml *Listeria* Enrichment Broth ilave edilmiş ve homojenizatörde 5-10 dakika homojenize edildikten sonra 30 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Hitchins, 1998).

İzolasyon ve Teşhisi

Ön zenginleştirme işleminden sonra, seçici zenginleştirme ortamı olarak kullanılan *Listeria* Selektif Agar yüzeyine, zenginleştirme ortamından bir öze dolusu alınarak, çizme yöntemiyle ekim yapılmış ve 37°C'de 24-48 saat aerobik koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda 1 mm çapında, hafif kabarık, pürüzsüz, merkezleri parlak gri siyah renkte, etrafında siyah hale görülen tipik koloniler şüpheli koloniler olarak değerlendirilmiştir. Her petriden tipik 5 koloni saflaştırma ve identifikasyon işlemleri için, %0.6 Yeast Extract (Oxoid L21) içeren Tryptone Soy Agar'a (Oxoid) koloniler tek düşecek şekilde çizilmiş ve 30°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda gelişen koloniler Henry'nin optik aydınlatması tekniği ile aydınlatılarak petriyelerdeki mavi griden, mavi-yeşil renge kadar değişen, yuvarlak, hafif konveks, seffaf görünen koloniler yine *Listeria* şüpheli olarak değerlendirilmiştir (Hitchins, 1998). Daha sonra biyokimyasal testlerden Gram Boyama, Hareket Muayenesi, Katalaz testi gibi *Listeria*'lar için temel olan izolasyon testleri

uygulanmıştır. Yapılan bu testler sonucunda *Listeria* tür özelliği taşıyan suşlar araştırma materyalimizde bulunan *Listeria* suşları olarak kabul edilmiş ve identifikasyona alınmıştır. *Listeria* türlerinin morfolojik ve bazı önemli özellikleri dikkate alınarak β-hemoliz, CAMP testleri, daha sonra karbohidrat fermentasyon testleri (Maltoz, Glikoz, Mannitol, Ksiloz, Fruktoz, Saraboz, Sorbitol, Salisin, Selobioz, Rhamnoz), nitrat redüksiyon testi, Metil-Red, Voges-Proskauer, yardımcı testler uygulanmıştır. Bu testler sonunda *Listeria* türleri isimlendirilerek teşhis edilmiştir (Hitchins, 1998). Tavuk etinden izolasyonu gerçekleştirilen bu suşların adlandırılmasında Bergey's Manual of Systematic Bacteriology esas alınmış kontrol amacıyla referans suşu olarak Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden temin edilen *Listeria monocytogenes* serovar scoot A (F4642) suşu kullanılmıştır. Kontrol suşu yukarıda adı geçen besiyerlerine ekim yapılarak biokimyasal reaksiyonları kontrol edilmiştir (Seeliger ve Jones, 1986).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada toplanan tavuk eti örneklerinin *Listeria* türleri yönünden izolasyon ve identifikasyonu yapılarak satışa sunulan örneklerdeki kontaminasyon seviyesi belirlenmiştir.

İncelenen 30 adet tavuk eti örneğinden *Listeria* Selektif Agar besiyerine yapılan ekim sonucunda üreyen ve tipik *Listeria* kolonisi oluşturan 20 izolat şüpheli koloni olarak değerlendirilmiştir. Bu suşlara gram boyama, katalaz ve hareket testi uygulanmıştır. Yapılan testlerin pozitif olduğu belirlenmiş ve bunun sonucunda 20 suşun identifiye edilmesi için çeşitli biyokimyasal ve karbohidrat fermentasyon testleri yapılmıştır. Test sonuçları göre toplanan örneklerin 20'sinde (%66) *Listeria spp.* belirlenmiştir. Tablo 1'de görüldüğü gibi *Listeria* şüpheli kolonilere yapılan karbohidrat fermentasyon ve biyokimyasal test sonuçlarına göre, 20 suşun *L. grayi* olduğu belirlenmiştir. Biyokimyasal ve karbohidrat fermentasyon testleri, kontrol amacıyla *Listeria monocytogenes* serovar scoot A (F4642) suşu ile karşılaştırılmıştır (Tablo 1).

Değişik ülkelerde bu konuyla ilgili yapılan çalışmalarda taze veya donmuş broiler, karkas ya da but, göğüs kanat gibi parçalarında değişik *Listeria* türleri ile önemli düzeylerde kontamine olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma bulguları ile uyumlu olarak, Skovgaard ve Morgen (1988), Danimarka'daki iki broiler kesim hanesinden aldıkları toplam 17 boyun derisi örneğinin 16'sında (%94) değişik *Listeria* türlerini izole ettikleri çalışmalarında, *Listeria* pozitif izolatların %47'sini *L. monocytogenes*, % 94'ünün *L. innocua*, % 6'sının *L. grayi* ve %12'sinin diğer *Listeria* türleri olarak tiplendirmişlerdir.

Tablo 1. Kahraman Maraş piyasasında satışa sunulan tavuk örneklerinden izole edilen *Listeria* türlerinin belirlenmesi için kullanılan biyokimyasal fizyolojik ve kültürel özellikleri

Yapılan testler	But ve Döş Bölgesinden Yüzeysel Olarak Alınan Tavuk Eti Örnekleri																					
	<i>L. monocytogenes</i> Scott A	<i>L. grayi</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Gram (+) çomak	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LSA'da tipik koloni	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hareket	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B hemoliz	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CAMP (<i>S. aureus</i>)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CAMP (<i>R. equi</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Metil red	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Voges Proskauer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
İndol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrat redüksiyonu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sitrat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eskulin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glikoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ksiloz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fruktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sarboz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Selobioz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnoz	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Schönberg ve ark. (1989) çalışmalarında tavuk etlerinde *L. monocytogenes*, *L. innocua* ve *L. welshimeri* tespit etmişlerdir. Diğer taraftan Ternström ve Malin (1987), domuz, tavuk ve sığır etlerinde *L. monocytogenes*'i bulamadıklarını belirtmişlerdir. Rijpens ve ark. (1997) tüketime hazır 26 tavuk eti örneğinin % 23'ünün, Bailey ve ark. (1989), Amerika'nın güneyindeki 3 farklı işletmeden sağladıkları toplam 90 broiler karkas örneğinin % 23.3'ünün, Uyttendaele ve ark. (1997) ise 1991-1995 yıllarını kapsayan dönemde Belçika ve Fransa'daki tavuk mezbahanelerinden aldıkları broiler karkas örneklerinin ortalama % 23.5'inin (%10-47.7), Kerr ve ark. (1990) İngiltere'de tüketime hazır olarak sunulan 102 tavuk eti örneğinin % 26.5'inin, *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu belirlemiş ve *L. monocytogenes* ile kontaminasyonda yıllar ve örnek alınan işletmeler arasında önemli farklılıkların bulunduğunu tespit etmişlerdir. Bunun nedeni, bölgesel farklılıklar ve sekonder kontaminasyonun daha kolay meydana gelmesi olabilir.

Listeria'ların kontrolünde uygulanabilecek temel önlemlerden bazıları şunlardır; gıda işletmelerinde, işlenmiş ürünlerin ham materyalin bulunduğu ortamlardan ayrılması, *Listeria* içermeyen hammaddenin kullanılması, toplama, işleme, taşıma ve satış esnasında hijyenik kurallara uyulması, hammaddede bulunan mikroorganizmaların azaltılması yada elimine edilmesi için, uygun işleme şartları ve kontrolün sağlanması, etkin temizlik ve sanitasyon yöntemleriyle, mikroorganizmanın işleme sırasındaki bulaşmalarının önlenmesi, kontrol önlemlerinin etkin olup olmadığını belirlemek için, çevrede kontrol testlerinin yapılması, *Listeria* kontrol programlarında işletmelerin HACCP kuralları çerçevesinde çevre testleri uygulanarak mikroorganizmaların kontaminasyon kaynakları belirlenmesi şeklinde olabilir.

İncelenen birçok gıda işletmesinde bulaşık yıkama yerleri ve yemek salonlarında mikroorganizmaların varlığı gözlenmiştir. Lağım, taşıyıcı kayışlar, hava akımları, su, çalışanların elleri ve eldivenleri gibi birçok bulaşma noktasının olduğu belirlenmiştir. Gıdalara *Listeria*'ların gelişmesini önleyen ya da elimine eden koruyucu ve ilave bariyerler katılabilir. Örneğin laktik asit bakterileri starter kültür olarak kullanılarak *Listeria*'ların gelişmeleri kısıtlanabilir. İncelenen örneklerde özellikle *L. monocytogenes* bulunmaması halk sağlığı açısından sevindiricidir.

KAYNAKLAR

- Arda, M., Minbay, A., Aydın, M., 1982. Bakteriyel enfeksiyöz hastalıklar. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları:386, Ders Kitabı 284, 287s.
- Bailey, J.S., Fletcher, D.L., Cox, N.A., 1989. Recovery and serotype distribution of *Listeria monocytogenes* from broiler chickens in the Southeastern United States. J Food Prot, 52, 148-150.
- Çiftçiöğlü, G., 1992. İstanbul piyasasındaki kıyma, sucuk ve tavuk eti örneklerinde *Listeria* türlerinin mevcudiyetinin araştırılması. İstanbul Üniv., Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi., İstanbul, 156s.
- Ekici, K., İşleyici, Ö., Sağun, E., 2004. Süt ve süt ürünlerinde *Listeria monocytogenes* varlığı. Yüzcüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 15(1-2):97-101.
- Erol, İ., Şireli, T., 1999. Donmuş Broiler karkaslarında *Listeria monocytogenes* varlığı ve serotip dağılımı. Tr J of Veterinary and Animal Sciences 23, 765-770.
- Farber, J.M., 1991. *Listeria monocytogenes*. AOAC, 74(4): 701-704.
- Fraser, J.A., Sperber, W.H., 1988. Rapid detection of *Listeria* spp. in food and environmental samples by esculine hydrolisis. J Food Protect, 51(10): 762-765.
- Güven, A., Patır, B., 1998. Elazığ ilinde sunulan et ve bazı et ürünlerinde *Listeria* türlerinin araştırılması. Tr J of Veterinary and Animal Sciences, 22, 205-212.
- Hitchins, A.D., 1998. *Listeria monocytogenes*. Chapter 10. In: FDA Bacteriological Analytical Manual. 8th ed. Revision A, U.S. Food Drug Administration Center for Food Safety&Applied Nutrition. U.S.A.
- Johnson, J.L., Doyle, M.P., Cassens, R.G., 1990. *L. monocytogenes* and other *Listeria* spp. in meat and meat products. A reviw. J. Food Protect., 53(1): 81-91.
- Kaczmarek, E.B., Jones, D.M. 1989. Listeriosis and ready-cooked chicken. Lancet, 11, 549.
- Kampelmacher, E.H., 1987. Poultry disease and public health. Br Poultry Sci, 28, 3-13.
- Kerr, K.G., Rotowa, N.-A., Hawkey, P.-M., Lacey, R.W. 1990. Incidence of *Listeria* spp. in pre-cooked, chilled chicken products as determined by culture and enzyme-linked immunoassay (ELISA). J Food Prot, 53, 606-607.
- Rijpens, N.P., Jannes, G., Herman, L.M.F., 1997. Incidence of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat chicken and Turkey products determined by polymerase chain reaction and line probe assay hybridization. J Food Prot, 60, 548-550.
- Sancak, Y.C., İşleyici, Ö., Elibol, C., Ekici, E., 2002. Van'da tüketime sunulan kremalı pastalarda *Listeria* türlerinin varlığının belirlenmesi Yüzcüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 13(1-2):8-11.
- Seeliger, H.P.R., 1988. Why *Listeriosis* Turkish J Infect, 2(4):455-460.
- Seeliger, H.P.R., Jones, D., 1986. Genus *Listeria* in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Ed: Sneath P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. Vol: 2 Williams and Wilkins, Baltimore. p: 1235-1245.

- Schuchat, A., Swaminathan, B., Broome, C.V., 1991. Epidemiology of human listeriosis. Clin Microbiol Rev., 4, 169-173.
- Schönberg, A., Teufel, P., Weise, E., 1989. Serovars of *L. monocytogenes* and *L. innocua* from food. Acta Microbiol Hung. 36(2-3): 249-253.
- Skovgaard, N., Morgen, C.A., 1988. Detection of *Listeria* spp. in faeces from animals, in feeds, and in raw foods of animal origin. Int J Food Microbiol, 6, 229-242.
- Ternström, A. and Molin, G., 1987. Incidence of potential pathogens on raw pork, beef and chicken in Sweden with special Reference to *Erysipelothrix rhusiopathiae*. J Food Prot.; 50(2):141-146.
- Uyttendaele, M.R., Neyts, K.D., Lips, R.M., Debevere, J.M., 1997. Incidence of *Listeria monocytogenes* in poultry and poultry products obtained from Belgian and French abattoirs. Food Microbiol, 14, 339-345.