

## Erzincan İli Tulum Peynirlerinden *Listeria* spp. İzolasyonu ve İdentifikasyonu\*

Mustafa Gürkan AZAK<sup>1</sup>, Hüseyin KILIÇ<sup>2</sup>, Harun HIZLISOY<sup>3</sup>, Seçil ABAY<sup>3</sup>

<sup>1</sup> 11. Motorlu Piyade Tugayı Komutanlığı, Denizli-TÜRKİYE

<sup>2</sup> Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

<sup>3</sup> Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

**Özet:** Bu çalışmada, Erzincan ilinde üretilen ve satışa sunulan, Erzincan Tulum Peynirlerinin, *Listeria monocytogenes* varlığı yönünden konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla 100 adet tulum peyniri materyal olarak kullanılmıştır. *Listeria* spp. izolasyonunda ISO 11290-1/A1-2004 metodu kullanılmıştır. Elde edilen *Listeria* spp. İzolatlarının genus ve tür düzeyinde identifikasyonu ise sırasıyla *iap* gen bölgesi ve *listeriolysine* gen bölgesine spesifik primerler kullanılarak yapılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda tulum peynir örneklerinin 3'ü (%3) *Listeria* spp. yönünden pozitif olarak saptanmış ve izolatların tamamı PZR ile *L. monocytogenes* olarak identifiye edilmiştir. Çalışmada, Erzincan ilinde, önemli bir tüketim potansiyeline sahip Erzincan Tulum Peynirlerinde *L. monocytogenes* varlığının saptanması sebebiyle bölgede etkenle bulaşık tulum peyniri tüketiminin, halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği kanısına varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Listeria monocytogenes*, *Listeria* spp., Peynir, Polimeraz Zincir Reaksiyonu

### Isolation and Identification of *Listeria* spp. from Tulum Cheese of Erzincan City

**Summary:** The aim of this study was to investigate the presence of *Listeria monocytogenes* in Erzincan Tulum Cheese produced and sold in Erzincan city by conventional and molecular methods. For this purpose, 100 Tulum Cheese samples were used as material. The isolation of *Listeria* spp. was carried out by using ISO 11290-1/A1-2004 method. The genus and species level identification of *Listeria* spp. isolates were performed by Polymerase Chain Reaction using specific primers in *iap* and *listeriolysine* gene region, respectively. In the light of the research results, 3% of the analyzed Tulum Cheese samples were found as *Listeria* spp. positive and all of these isolates were identified as *L. monocytogenes* by using PCR. In this work, the existence of *L. monocytogenes* were determined in Erzincan Tulum Cheese which had high consumption potential in Erzincan territory. Therefore, it is concluded that the consumption of the contaminated Tulum Cheese can generate risk for public health.

**Keywords:** Cheese, *Listeria monocytogenes*, *Listeria* spp., Polymerase Chain Reaction

### Giriş

Peynir üretimi süt endüstrisinde en fazla çeşitlilik gösteren alanı oluşturmaktadır. Ülkemizde elliye aşkın peynir çeşidinin bulunduğu tahmin edilmektedir. Söz konusu ürünlerin bir kısmı unutulmaya yüz tutmuş, bir kısmı ise aile tipi işletmelerde üretilerek yöre pazarlarında satılmak suretiyle ayakta kalmayı başarmıştır (24, 31). Ülkemizde üretilen peynirler içinde önemli bir yeri olan Tulum peyniri, üretim miktarı bakımından Beyaz peynir ve Kaşar peynirden sonra üçüncü sırada yer almaktadır. Tulum peynirleri üretim bölgelerine göre Erzincan (Şavak), Dicle ve Çimi tulum peynirleri gibi değişik yöresel isimlerle anılmaktadır (4). Peynirler yüksek besin içerikleri ile mikroorganizmalar için iyi bir besin ortamıdır. Peynirler; çeşit, ambalajlama ve saklama durumlarına göre az veya çok mikroorga-

nizma yükü bulundurulabilirler. Bu mikroorganizmalar içerisinde, patojen *Listeria* spp.'ler, özellikle de *L. monocytogenes*, hem hayvanlarda hem de insanlarda hastalık oluşturduğundan önemli zoonoz etkenlerinden biri olarak kabul edilmektedir. *Listeria* spp.'ler doğada, gıdalarda, insanlar, hayvanlar ve bitkilerde bulunmaktadır. *Listeria*'ların saprofit olarak yaşadıkları yerler, çürümüş bitki yığınları olup, bu ortamlar, aynı zamanda onların doğal yaşam çevreleridir. Ayrıca nemli ve kuru çevre şartlarında, toprak ve bitkilerde aylarca canlı kalabilirler (6,11). Günümüzde *Listeria*'ların insanlara ve hayvanlara daha çok gıda yolu ile bulaştıklarına dair yaygın bir görüş bulunmaktadır. Ancak *Listeria* spp.'ler, vertikal, zoonotik, nazokomial gibi farklı yollardan kolaylıkla bulaşabilmektedir (32). İnsanlarda listeriozis, menenjit, septisemi ve erken ölü doğumlarla karakterize bir hastalıktır(15).

Erzincan Tulum Peynirleri bölgede yoğun olarak tüketilmektedir, özellikle son yıllarda diğer bölge-lerimizde de tanınmaya başlanmış ve bu peynire talep artmıştır. Buna bağlı olarak da tulum peyniri üretimi amacıyla daha büyük işletmeler açılmıştır.

Geliş Tarihi/Submission Date : 07.03.2012

Kabul Tarihi/Accepted Date : 02.08.2012

\* Bu araştırma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSY-10-3098 nolu proje ile yüksek lisans tezi olarak desteklenmiştir

Bu çalışmada, Erzincan bölgesinde, önemli bir tüketim potansiyeline sahip Erzincan Tulum Peynirlerinde, halk sağlığı açısından risk oluşturan önemli patojenler arasında yer alan *L.monocytogenes* varlığının incelenmesi amaçlanmıştır.

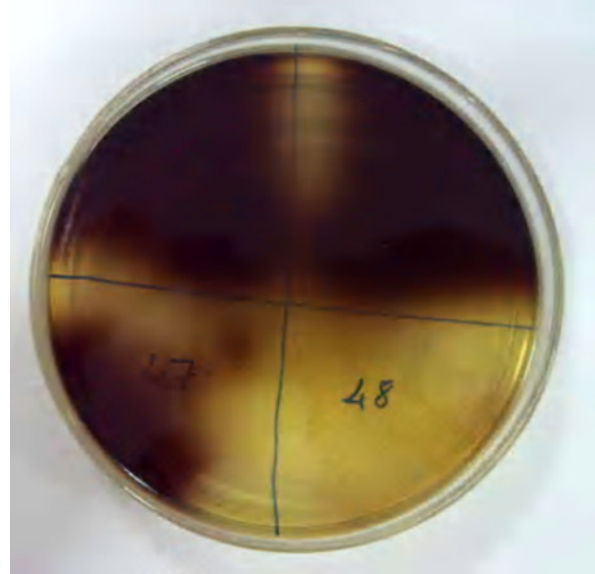
### Gereç ve Yöntem

**Çalışmada kullanılan örnekler:** Bu çalışmada materyal olarak Erzincan ilinde üretilen ve satışı sunulan 100 adet Erzincan tulum peyniri kullanıldı. Örnekler aseptik koşullarda yaklaşık 200'er gram alınarak laboratuara getirildi ve aynı gün işleme tabi tutuldu.

***Listeria* spp. izolasyonu:** İzolasyon amacıyla, ISO 11290-1/A1-2004 metodu çerçevesinde 25 g peynir örneği, 225 ml ½ konsantrasyonda (inhibitörleri yarım konsantrasyonda içeren) Half Frase Broth (Merck 1.10398.0500, Almanya) içeren stomacher poşetleri içerisine konularak stomacher cihazında orta hızda 2 dakika homojenize edildi. Poşetler, ön zenginleştirme amacı ile 30°C'de 24 saat süre ile aerobik ortamda inkübe edildi. Daha sonra ön zenginleştirme kültüründen 0.1 ml alınarak, 10'ar ml Fraser broth içeren tüplere (Merck 1.110398.0500, Almanya) aktarıldı. Bu tüpler 37°C'de 2 gün aerobik şartlarda inkübe edilerek selektif zenginleştirme aşaması gerçekleştirildi. Son aşamada, bu kültürden alınıp öze yardımıyla polymyxin-acriflavine - lithiumchloride - ceftazidime - esculin - mannitol içeren *Listeria* selektif agara (CM856, Oxoid, İngiltere) çizme yöntemiyle ekim yapılarak petriyeler 37°C'de 24 saat süre ile aerobik ortamda inkübe edildi (3).

***Listeria* spp. identifikasyonu:** İzole edilen *Listeria* spp., şüpheli kolonilerin fenotipik testlerle identifikasyonu amacıyla şüpheli izolatlara, Gram boyama, hareket muayenesi, hemoliz aktivitesi, katalaz ve oksidaz testleri yapıldı.

***Listeria* rapid test:** Fenotipik testlerle *Listeria* spp., izolasyonu yapılan örnekler doğrulama amacıyla bir diğer yöntem olarak Oxoid *Listeria* Rapid Test (FT0401, İngiltere) uygulandı. Bu amaçla ön zenginleştirme işleminden sonra örneklerden 1 ml alınarak Selective Enrichment Supplement, (SR0141) içeren 10 ml'lik Oxoid Buffered *Listeria* Enrichment Broth (BLEB) Base, (Oxoid CM0897, İngiltere) içerisine inoküle edilerek 30°C de aerobik koşullarda 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında besiyerinin üst kısmından 2 ml örnek alınarak steril tüplere aktarıldı. Bu tüplerde 80°C sıcaklıktaki su banyosunda 20 dakika bekletilerek flagella antijenlerinin açığa çıkması sağlandı.



Şekil 1. *Listeria* selektif agar'da *Listeria* spp. görünümü

Tüpler soğutulduktan sonra her bir örnekten 135 µl alınarak Oxoid *Listeria* Rapid Test kiti üzerindeki örnek bölmesine damlatıldı. Tüp kitlerinin pozitif kontrol pencerelerinde 20 dakika içerisinde mavi renkli çizgi oluşumu görüldü ve örnek okuma pencerelerinde aynı şekilde mavi renkli çizgi oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (9). *Listeria* Selective Agar, biyokimyasal testler ve *Listeria* Rapid Test sonucu pozitif olan numunelerden elde edilen *Listeria* izolatlarına moleküler testler uygulandı.



Şekil 2. *Listeria* rapid test kiti pozitif örnek

### Moleküler Testler

**DNA ekstraksiyonu:** *Listeria* spp. olarak değerlendirilen kolonilerden DNA ekstraksiyonu için Proteinaz K yöntemi kullanıldı (17). Bu yöntemde, şüpheli koloniler toplanarak 300µl distile su içerisinde yoğun olarak hazırlanan süspansiyonların üzerine, 300µl K-tamponu (20mM Tris pH 8.0+150mM NaCl+10mM EDTA+%0.2 Sodyum

dodesil sülfat) ve 200 µg/ml Proteinaz K ilave edildi. Sonra 56°C'de 2 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra Proteinaz K'nın inaktivasyonu için 10 dakika kaynatma işlemine tabi tutuldu. Kaynatmadan sonra fenol ekstraksiyon işlemine geçildi. Süspansiyona 600 µl Tris-HCl ile satüre edilmiş fenol ilave edilerek elle 5 dakika çalkalandı ve 13.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Tüpün üst tarafında biriken süpernatant kısmı mikropipet yardımıyla dikkatli bir şekilde yeni bir tüpe alındı. Ekstraksiyon işlemine yeni tüpe alınan süpernatant kısım ile devam edildi. Daha sonra presipitasyon amacıyla süspansiyona 0.1 hacim 3M sodyum asetat ve 2.5 hacim safetanol ilave edilerek -20 °C'de 2 saat bekletildi. Ardından yüksek devirde (11600 g.)10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen tortu önce 300 µl miktarındaki %90'lık ve daha sonraki %70'lik etanol ile ve her basamakta 5 dakika santrifüj işlemi uygulanarak yıkandı. Geriye kalan tortu 100 µl distile su ile sulandırıldı ve moleküler işlemlerde DNA olarak kullanılmak üzere -20 °C'de derin dondurucuda muhafaza edildi (17).

**Listeria spp. identifikasyonu için PZR:** *Listeria* spp. identifikasyonu için Bubert ve ark. (10)'nın bildirdiği PZR yöntemi kullanıldı. Bu yöntemde, protein P60'ı kodlayan *iap* gen bölgesine spesifik (Lis 1A ve Lis 1B) primer çifti kullanıldı. PZR amplifikasyonu Thermalcycler'da (Touchgene Gradient, Techne, İngiltere) gerçekleştirildi. Amplifikasyon koşulları, 94°C'de 3 dakika ön denaturasyon aşamasını takiben, 94°C'de 45 saniye denaturasyon, 55 °C'de 1 dakika bağlanma ve 72°C'de 1 dakika uzama safhası olmak üzere toplam 30 siklus olacak şekilde gerçekleştirildi. Son siklusu müteakip 72 °C de 5 dakika ekstra sentez işlemi yapıldı. Çoğaltılan PZR ürünleri %1.5'lik agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutuldu (Thermo EC

330,ABD). Ultraviyole (UV) jel dökümantasyon sisteminde (Vilber Lourmat, Fransa) incelenerek sonuçlar değerlendirildi. Oluşan bantların moleküler ağırlığını saptamak amacıyla 100 bp'lik DNA ladder (MBI Fermentas SM 0321) kullanıldı. PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi neticesinde oluşan 1454 bp moleküler büyüklüğündeki bantlar *Listeria* spp. pozitif olarak kabul edildi (10).

#### **L. monocytogenes identifikasyonu için PZR:**

Bu amaçla, Border ve ark (7), geliştirdiği yöntem kullanıldı. *Listeriolysin* genine spesifik primer çifti (LM1 ve LM2) kullanıldı. PZR amplifikasyonunda 94 °C'de 4 dakika ön denaturasyon aşamasını takiben, 94 °C'de 30 saniye denaturasyon, 52 °C'de 60 sn bağlanma ve 72 °C'de 90 sn uzama safhası olmak üzere toplam 30 siklus ve son siklusu takiben 72°C'de 7 dakika son uzama olacak şekilde gerçekleştirildi. Çoğaltılan PZR ürünleri %1.5'lik agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutuldu. Ultraviyole (UV) transilluminatörde incelenerek sonuçlar değerlendirildi. Oluşan bantların moleküler ağırlığını saptamak amacıyla 100 bp'lik DNA ladder (MBI Fermentas SM0321) kullanıldı. PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi neticesinde oluşan 702 bp moleküler büyüklüğündeki bantlar *L.monocytogenes* pozitif olarak değerlendirildi.

#### **Bulgular**

**Listeria spp. izolasyon sonucu:** Çalışmada, 100 adet Erzincan tulum peynirinden ISO 11290-1/A1-2004 metodu ile yapılan *Listeria* spp. izolasyonunda, 3 numune *Listeria* spp. yönünden pozitif olarak saptandı (Tablo 1). *Listeria* spp. izolatlarının tamamı Gram pozitif, katalaz pozitif, oksidaz negatif, 25°C'de hareketli, 37°C'de hareketsiz olarak tespit edildi.

**Tablo 1.** *Listeria* spp. izolasyon sonucu

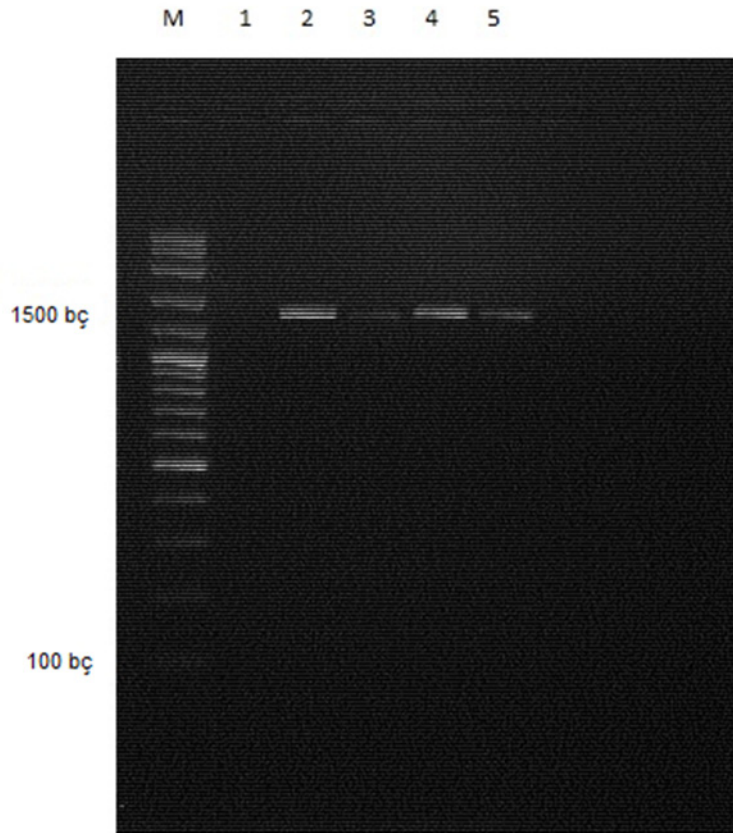
Numune Cinsi	Numune Sayısı	<i>Listeria</i> spp. Pozitif Numune Sayısı
Erzincan Tulum Peyniri	100	3(3)

**Tablo 2.** *Listeria* spp. izolatlarının *Listeria* rapid test sonucu

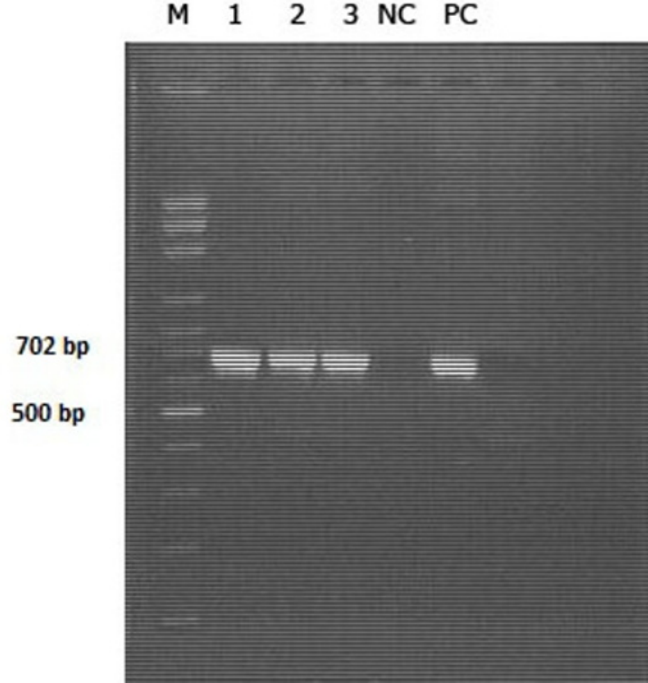
Numune Cinsi	İzolat Sayısı	Pozitif Numune Sayısı
<i>Listeria</i> spp. İzolasyon yapılan Erzincan Tulum Peyniri	3	3(100)

**Tablo 3.** Moleküler analiz sonucu

İzolat Sayısı	Pozitif Numune Sayısı (%)	
	<i>Listeria spp.</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
3	3(100)	3(100)



**Şekil 3.** *Listeria spp.* izolatlarının PZR ile doğrulanması: M: Marker (Gene Ruler TM 100 bp DNA ladder), NC: Negatif kontrol (steril distile su), PC: Pozitif kontrol (*L.monocytogenes* kontrol suşu RSSK:472 1454 bp), 1, 2, 3 Tulum peynirden izole edilen *Listeria spp.* (1454 bp).



**Şekil 4.** *L.monocytogenes* izolatlarının PZR ile saptanması: M: Marker (Gene Ruler TM 100 bp DNA ladder), 1,2,3: Tulum peynirden izole edilen *Listeria* spp. izolatları (702 bp), NC: Negatif kontrol (steril distile su), PC: Pozitif kontrol (*L. monocytogenes* kontrol suşu RSSK:472(702 bp)).

**Listeria rapid test sonucu:** Aynı zamanda bütün numuneler *Listeria* spp. varlığının incelenmesi amacıyla bir diğer yöntem olarak Oxoid *Listeria* Rapid Test (FT0401)'e tabi tutuldu. Klasik konvansiyonel metotla *Listeria* spp. izolasyonu yapılan numuneler bu test sonucunda da *Listeria* spp. yönünden pozitif olarak saptandı (Tablo 2).

**Moleküler analiz sonuçları:** Fenotipik analizler ve *Listeria* Rapid Test sonucu ile *Listeria* spp. yönünden pozitif olarak saptanan *Listeria* izolatlarının doğrulanması amacıyla *Listeria* spp. spesifik primer (*iap* gen bölgesi) ve *L. monocytogenes*'e spesifik primer (listeriolysin gen bölgesine spesifik primerler) kullanılarak PZR işlemi yapıldı. PZR işlemi sonucunda izolatların tamamı *Listeria* spp. ve *L.monocytogenes* olarak saptandı (Tablo 3). İzolatlar, genus spesifik PZR işlemi sonucunda jel elektroforez görüntüsünde, 1454 bp büyüklüğünde bantlar oluştururken, *L. monocytogenes* spesifik PZR'de ise 702 bp boyutlarında bantlar oluşturdu (Şekil 3-4).

## Tartışma

Tulum peyniri çiğ süttten üretilir ve ülkemizde en yaygın tüketilen yarı-sert veya yumuşak peynir türüdür. Erzincan Tulum peyniri yıllardır Erzincan ve çevresinde üretilmekte ve bölgesel olarak yoğun şekilde tüketilmektedir. Son yıllarda ise daha büyük çaplı üretim işletmeleri kurulmuş ve Erzincan ili dışına da pazarlanmaya başlanmıştır. Bu çalışmada analiz edilen 100 adet Erzincan Tulum peyniri örneğinin 3 (%3)'ünden *L.monocytogenes* izole ve identifiye edilmiştir. Türk Gıda Kodeksine göre 25 gram peynir örneğinde *L.monocytogenes* bulunması uygun değildir. Bu çalışmada bulunan %3'lük pozitif değer Türkiye Yasal Limitlerine göre uygun değildir (30). Ülkemizde daha önce yapılan çalışmalarda süt ürünlerinde *L. monocytogenes* izolasyonu ve yaygınlığı bildirilmiştir. Tümbay ve ark. (29), 323 adet Beyaz Peynir örneğinden 11 (% 3.4) 'inde *L. monocytogenes* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Sagun ve ark. (26), Van ili ve çevre köylerinden topladıkları 250 adet çiğ süt örneği ve 254 adet de yöresel bir peynir çeşidi olan Otlu Peynir örneği kullanarak yaptıkları bir çalışmada, çiğ süt örneklerinden 6 (%2.4) tanesi-

nin *Listeria* spp. yönünden pozitif olduğunu saptamışlar ve bu izolatların 3 (%1.2)'ünü *L. monocytogenes* olarak tanımlamışlardır. Ayrıca çalışmada kullandıkları 254 adet otlu peynir örneğinden ise 13 (%5.1) tanesinin *Listeria* spp. yönünden pozitif bulduklarını ve bu izolatların da 10 (%3.93) tanesini *L. monocytogenes* olarak tanımladıklarını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Çiftçiöğlü ve Uğur (13), 105 adet Beyaz Peynir örneğiyle yaptıkları bir çalışmada örneklerin 3'ünden, Gülmez ve Güven (16), 40 adet Çivil peyniri örneğinin bir adedinden *L. monocytogenes* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Akkaya ve Alısarlı (1), ise Afyon ilinde bulunan semt pazarlarından topladıkları 100 adet beyaz peynir örneğinden 6 (%6)'sında *L. monocytogenes* izolasyonu olduğunu rapor etmişlerdir. Çolak ve ark. (14), İstanbul da çeşitli marketlerden sağladıkları 250 adet Tulum Peyniri örneği ile yaptıkları çalışmada *L. monocytogenes* izolasyonunu %4.8 (10) oranında belirlemişlerdir. Kahraman ve ark.(18), 105 adet beyaz peynir, 70 adet eritme peyniri, 45 adet dil peyniri ve 60 adet kaşar peyniri olmak üzere 280 adet peynir örneği ile yaptıkları çalışmalarında, beyaz peynir örneklerinde %4.8 oranında, eritme peynirlerinde %1.4 oranında kaşar peynirlerinde %1.7 oranında *L. monocytogenes* izole ettiklerini, dil peyniri örneklerinden ise *L. monocytogenes* izolasyonu yapılamadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmalarda elde edilen bulgular bizim verilerimizle (%3) uyumludur. Buna karşın Çetinkaya ve ark. (12), Elazığ yöresinde üretilen taze beyaz peynir, tulum peyniri, tereyağı ve çökelekte *Listeria* türlerinin sıklığını araştırmayı amaçladıkları çalışmalarında perakende satış merkezlerinden 51 adet Şavak tipi beyaz peynir, 52 adet tulum peyniri, 50 adet tereyağı ve 10 çökelek olmak üzere toplam 163 adet numuneyle çalışmışlar. Bu çalışmada beyaz peynir örneklerinin bir tanesinden *L. monocytogenes*, tuzlu tereyağı numunelerinin ise bir tanesinden *L. innocua* izole ettiklerini bildirmişler, ancak tulum peyniri ve çökelek örneklerinden izolasyon yapılamadığını belirtmişlerdir. Türkiye dışındaki ülkelerde ise, farklı geleneksel peynir tiplerinde *L. monocytogenes* varlığı araştırılmıştır. Silva ve ark. (27), Brezilya'ya özgü geleneksel bir peynir çeşidi olan Minas Freskal peynirlerinde *L. monocytogenes* yaygınlığını araştırmışlar. Çalışmalarında 54 adet gıda örneği, 107 adet ekipman örneği, 22 adet işçi el numunesi ve 35 adet de çevresel örnek olmak üzere toplam 218 örnek kullanmışlar. Çalışmada toplam olarak 13 adet *Listeria* ssp. izolasyonu yapılmış ve bunların 9'unu *L. innocua*, 2'sini *L. grayi*, ve 2'sini de *L. monocytogenes* olarak tanımladıklarını bildirmişlerdir. İzole ettikleri etkenlerin serotiplerinin, gıda zehirlenmelerinde en çok karşılaşılan serotip-

ler olduklarını belirtmişlerdir. Rudolf ve Scherer (25), Avrupa da çeşitli ülkelerden topladıkları 329 adet Avrupa red-smear peyniri örneği ve 45 adet sert peynir örneği kullandıkları bir çalışmada, Avusturya orijinli örneklerde %10, Fransa orijinlilerde %3.3 oranında, Almanya orijinliler de %9.2 oranında, İtalya orijinliler de %17.4 oranında *L. monocytogenes* izolasyonu yapıldığını Danimarka ve İsviçre orijinli örneklerde ise *L. monocytogenes* izolasyonu yapılamadığını bildirmişlerdir. Toplam 374 örneğin 21 tanesinde (%6.4) *L. monocytogenes* yönünden pozitiflik belirlediklerini rapor etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, *L. monocytogenes* izolasyonunun yumuşak ve yarı-katı peynir türlerinde daha fazla karşılaştığını belirtmişlerdir. Makino ve ark. (21), Japonya'da karşılaşılan bir gıda zehirlenmesi salgınında, 123 adet geleneksel peynir örneği ve bu peyniri tüketen 86 kişiden örneklem yapmışlardır. Araştırmacılar bu 86 kişinin 38'inde gastroenterit ve benzeri klinik belirtiler gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada örneklerin 15'inde *L. monocytogenes* izolasyonu ve bu izolatların serotiplendirme ve PZR'a dayalı tiplendirme analizleri ile hastalardan izole edilenlerle yakın ilişkili oldukları belirlenmiş ve insanlarda hastalığa neden olan suşların bu peynirlerin tüketiminden kaynaklandığı belirtilmiştir. Menendez ve ark. (22), Galiçya'da üretilen çiğ inek sütünden yapılan tetilla peynirlerinde çalışmışlar ve 24 örneğin 2 (%8.3)'sinde *L. monocytogenes* izole etmişlerdir. Başka bir çalışmada Olarte ve ark. (23), İspanya'da taze keçi sütlerinden yapılan yöresel bir peynir çeşidi olan kameros peyniri ile yaptıkları bir çalışmada 18 adet örneğin sadece 1 (%5.6)'inde *L. monocytogenes* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Fakat Ashenafi (5), Etiyopya'da yaptığı bir çalışmada 100 adet yöresel peynir örneğinde *L. monocytogenes* izolasyonu yapılamadıklarını bildirmişler. Benzer şekilde, Yunanistan'da yapılan bir çalışmada Angelidis ve ark. (2), geleneksel peynirlerin 14'ünde *L. monocytogenes* izole edemediklerini bildirmişlerdir. Çalışmamızda belirlenen *L. monocytogenes* varlığı (%3) Erzincan Tulum Peynirinin çiğ süttten yapılmasına, ayrıca üretim ve saklama koşullarının hijyenik olmamasına bağlanabilir. Ülkemizde tulum peyniri üretimi yapan küçük işletmelerin hijyenik şartlarının iyi olmayışından dolayı düşük mikrobiyolojik kalitede ürünler elde edildiği belirlenmiştir (8, 19, 20,28).

Türk Gıda Kodeksi'nin Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'ne göre Tulum peynirleri için alınan 5 numunenin hiç birinde *L. monocytogenes* bulunmaması gerekirken (30) bu çalışmada, Erzincan bölgesinde önemli bir besin maddesi olarak, tüketim potansiyeline sahip Erzincan Tulum Peynirlerinde *L. monocytogenes* saptanmıştır. Bu

bölgede etkenle bulaşık tulum peyniri tüketiminin, halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği kanısına varılmıştır. Ülkemizde tulum peynirlerinin genellikle çiğ süttten hazırlanıyor olması nedeniyle, peynir üretimi yapılacak süttün sağlıklı işlemlerden alınmasının yanı sıra üretim ve saklama işlemleri sırasında hijyenik tedbirlerin azami şekilde uygulanması gerekmektedir.

### Kaynaklar

1. Akkaya L, Alişarlı M, Afyonkarahisar'da tüketime sunulan peynirlerde *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* spp. varlığının belirlenmesi. YYÜ Vet Fak Derg 2006;17(1-2):87-91.
2. Angelidis AS, Chronis EN, Papageorgiou DK, Kazakis II, Arsenoglou KC, Stathopoulos GA, 2006. Non-lactic acid, contaminating microbial flora in ready-to-eat foods: a potential food-quality index. Food Microbiol 2006; 23(1): 95–100.
3. Anonim, Horizontal Method for the detection of *Listeria monocytogenes* ISO 11290 - 1 / A1 2004.
4. Arıcı M, Şimşek O, Kültür kullanımının tulum peynirinin duyuşal, fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerine etkisi. Gıda 1991; 16(1): 53-62.
5. Ashenafi M, Microbiological quality of ayib, a traditional Ethiopian cottage cheese. Int J Food Microbiol 1990;10(3-4): 263-8.
6. Berktaş M, Bozkurt EN, Bozkurt H, Alişarlı M, Güdücüođlu H, Et ve et ürünlerinden *Listeria monocytogenes*'in izolasyonu. Van Tıp Dergisi 2006;13(2):36-41.
7. Border P, Howard J, Plastow G, Siggens K, Detection of *Listeria* Species and *Listeria monocytogenes* using polymerase chain reaction. Lett Appl Microbiol 1990;11: 158-62.
8. Bostan K, Uğur M, Aksu H, Deri ve plastik bidonlar içinde satışı sunulan tulum peynirlerinin duyuşal kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. Pendik Hayvan Hastanesi Merkezi Araştırma Enstitüsü Dergisi 1992; 23(1):78-83.
9. Bridson EY, The Oxoid Manual Eighth edition, Oxoid Limited Hampshire, England, 1998;.
10. Bubert A, Kohler S, Goebel W, The homologous and heterologous regions within the *iap* gene allow genus and species specific identification of *Listeria* spp. by polymerase chain reaction. Appl Environ Microbiol 1992; 58: 2625-32.
11. Carte GR, Chengappa MM, Roberts AW. Essentials of Veterinary Microbiology USA, Willams and Wilkins. 1995.
12. Çetinkaya B, Ertas HB, Muz A, Sütt ürünlerinde *Listeria* türlerinin izolasyonu. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 1999; 13(2): 21-5.
13. Çiftciođlu G, Uğur M, Ülkemizde tüketilen salamura beyaz peynirlerde *Listeria*'ların varlığı üzerine bir araştırma. *Bildiriler, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Gıda Teknolojisi Araştırma Enstitüsü* 1991; 179-90.
14. Çolak H, Hampikyan H, Bingöl BE, Ulusoy B, Prevalence of *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. in tulum cheese. Food Control 2007; 18: 576-9.
15. Farber JM, Daley E, Coates F, Feeding trials of *Listeria monocytogenes* with a nonhuman primate model. J Clin Microbiol 1991; 29: 2606-8.
16. Gülmez M, Güven A, Beyaz ve çeçil peynirlerinde *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Listeria* türlerinin araştırılması. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 2001; 7(2):155-61.
17. Hirsh DC, Mac Lahan NJ, Walker RL, *Veterinary Microbiology*, Massachusetts, USA, Blackwell Scientific Publications 2004; pp: 185-7.
18. Kahraman T, Özmen G, Özinan B, Göksoy EO, Prevalence of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in different cheese types produced in Turkey. BFJ 2010; 112 (11):1230-6.
19. Kıvanç M, The microbiological quality of erzincan (savak) tulum cheese from turkish retail markets. Nahrung 1989; 33: 895-900.
20. Kurt A, L Öztekin, Şavak tulum peynirinin yapım tekniği üzerine araştırmalar. Atatürk Üniv Ziraat Fak Derg 1984; 15(3-4): 65-7.
21. Makino SI, Kawamoto K, Takeshi K, Okada Y, Yamasaki M, Yamamoto S, Igimi S, An outbreak of food-borne listeriosis due to cheese in Japan, during 2001. IJFM 2005; 104:189-96.
22. Menéndez S, Godínez R, Centeno JA, Rodríguez-Otero JL, Microbiological, chemical and biochemical characteristics of 'Tetilla' rawcows-milk cheese. Food Microbiol, 2001; 18(2):151-8.

23. Olarte C, Sanz S, Fandos EG, Torre P, Microbiological and physicochemical characterisation of cameros cheese. Food Microbiol 1999;16:615–21.
24. Özdemir S, Çelik Ş, Özdemir C, Sert S, Diyarbakır'ın karacadağ yöresinde mahalli olarak yapılan örgü peynirinin mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri. Geleneksel Süt Ürünleri V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Kitabı, 21-22 Mayıs 1998, Tekirdağ, ss: 154-66.
25. Rudolf M, Scherer S, High incidence of *L. monocytogenes* in european red smear cheese. IJFM 2001; 63: 91–98.
26. Sagun E, Sancak YC, İşleyici Ö, Ekici K, Van ve çevresi süt ve otlı peynirlerinde *Listeria* türlerinin varlığı ve yaygınlığı üzerine bir araştırma. Turk J Vet Anim 2001; 25:15–9.
27. Silva IMM, Almeida RCC, Alves MAO, Almeida PF, Occurrence of *Listeria* spp. in critical control points and the environment of minas frescal cheese processing. IJFM 2003; 81(3): 241–8.
28. Tekinşen OC, Patır B, Alkan M, Şavak peynirinde koliform grubu mikroorganizmalar üzerine araştırmalar. Selçuk Üniv Vet Fak Derg 1993; 9(2): 8–12.
29. Tümbay E, Seeliger HPR, İnci R, Coşar G, Langer B, Isolation of *Listeria* from cheese in Turkey, İnfeksiyon Dergisi 1988; 2(4):593–5.
30. Türk Gıda Kodeksi, Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. Yetki kanunu: 5996. Resmi Gazete; Tarih 29.12.2011, Sayı: 28157.
31. Uysal H, Kavas G, Kınık Ö, Türkiye'de Üretilen Geleneksel Süt Ürünleri. GAP I. Tarım Kongresi Bildiri Kitabı, s 247-54, 26-28 Mayıs 1999, Şanlıurfa.
32. WHO/FAO, Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods, Interpretative Summary, Microbiological risk assesment series: 2004. no.4 pp:1-78.

**Yazışma adresi:**

Arş. Gör. Harun HIZLISOY  
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,  
Melikgazi, KAYSERİ  
Tel: 0352 2076600/29586  
E-mail: hizlisoy@erciyes.edu.tr