

KAYSERİ İLİNDE SATIŞA SUNULAN DONDURMALARIN *LISTERIA MONOCYTOGENES* VARLIĞI YÖNÜNDE İNCELENMESİ*

**Detection of *Listeria Monocytogenes* in Ice Cream Samples
Retailed in Kayseri City of Turkey**

Soner GÖNÜLALAN¹, Zafer GÖNÜLALAN²

Özet: Bu çalışma, Kayseri ilinde ambalaj malzemesi kullanılmadan açıkta satışa sunulan dondurmalarda *Listeria monocytogenes* varlığını ortaya koymak amacıyla yapıldı. Çalışmanın materyalini 25'i sade, 25'i meyveli olmak üzere toplam 50 adet dondurma örneği oluşturdu. Dondurma örneklerinde *Listeria monocytogenes* varlığına ilişkin inceleme, ISO 11290-1/A1-2004'da önerilen izolasyon prosedüründe belirtilmiş olan yöntemle yapıldı. İzole edilen şüpheli koloniler, biyokimyasal yöntemlerle doğrulandı. Elde edilen izolatların *microbact* test kiti kullanarak yapılan biyokimyasal test sonuçlarına göre; 25 sade dondurma örneğinden 6 tanesinin, 25 adet meyveli dondurma örneğinin 3 tanesinin *Listeria* türleri ile kontamine olduğu belirlendi. Sade dondurma örneklerinin üç tanesinde sadece *L.monocytogenes*, iki tanesinde *L.monocytogenes* ve *L.ivanovii*, bir tanesinde ise *L.ivanovii* ve *L.grayi* tespit edildi. Meyveli dondurma örneklerinin bir tanesinde sadece *L.monocytogenes*, bir tanesinde *L.monocytogenes* ve *L.seeligeri*, bir tanesinde ise *L.monocytogenes* ve *L.grayi* ile kontamine olduğu sonucuna varıldı. Yapılan istatistiksel değerlendirmede sade ve meyveli dondurmalarda *Listeria* spp. varlığı yönünden önemli bir farkın olmadığı ($p>0.05$) sonucuna varıldı. Çalışmada incelenen dondurma örneklerinin *Listeria* türleri ile kontamine olduğu belirlendi. Kayseri ilinde açıkta satışa sunulan dondurmalarda *Listeria* türlerinin varlığının, risk grubunda yer alan tüketiciler ve halk sağlığı bakımından bir tehlike olarak değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: *Listeria monocytogenes*, dondurma, ISO 11290-1/A1-2004

¹ Bilim Uzm.Erc. Ün.Sağlık Bil.Ens. Vet.Besin Hij.AD, Kayseri
² Doç.Dr.Erciyes Ün.Vet.Fak.Besin Hij. Tek. AD, Sivas

Geliş Tarihi : 29.04.2010 Kabul Tarihi :03.12.2010

*Aynı adlı Yüksek Lisans tezinden özetlenen bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSY.09.1030 nolu proje ile desteklenmiştir.

Summary: This study aimed to investigate of *Listeria monocytogenes* from ice cream samples sold openly by retail markets in Kayseri city. For this study, total 50 ice cream samples were analysed. ISO 11290-1/A1-2004 method was used for *Listeria monocytogenes* isolation. Obtained isolates were identified with *Microbact* kit.

Of the 25 vanilla ice creams examined six of the samples had *Listeria* spp., also of the 25 fruit ice creams examined three of the samples gave positive result for *Listeria* spp. *L.monocytogenes* was found only in three samples. Two vanilla ice cream samples were found to be positive for both *L.monocytogenes* and *L.ivanovii* while one sample yielded positive for both *L.ivanovii* and *L.grayi*.

Only *L.monocytogenes* was found in one out of 25 fruit ice cream samples. One sample was positive for both *L.monocytogenes* and *L.seeligeri* while one sample yielded positive for both *L.monocytogenes* and *L.grayi*. Statistically there were no significant difference ($p>0.05$) between vanilla and fruit ice cream groups for presence of *Listeria* spp.

The results of this study indicated that, ice creams sold at patisserie and ice cream sellers in Kayseri city can be hazardous for public health especially for sensitive people considering *Listeria* sp. contamination.

Key words: *Listeria monocytogenes*, ice cream, ISO 11290-1/A1-2004

Listeria türü mikroorganizmaların oluşturduğu enfeksiyonların birçoğu süt ile taşınmaktadır. Süt *Listeria* bakterilerini mide asidinin etkilerinden koruduğu için bu hastalığın bulaşmasında ve yayılmasında oldukça özel bir etkisi vardır (1).

Perakende satış noktalarında satışı yapılamayan sütler zaman zaman dondurma imalathaneleri tarafından dondurma yapımında kullanılabilir. Satış noktalarında süt çoğu zaman 4°C'lik buzdolabı sıcaklığına soğutulmamaktadır. Dondurma imalatında kullanılacak olan süt ve kremanın pastörizasyonu *Listeria monocytogenes*'in (*L.monocytogenes*) yıkılmasını için yeterli olmakla birlikte, dondurma üretimi sırasında, diğer üretim basamaklarında tekrar bulaşmanın söz konusu olabileceği göz ardı edilmemelidir (2).

Papageorgiou ve ark. (3), pastörize koyun sütünü 1.0×10^6 ve 2.0×10^6 düzeyinde *L.monocytogenes* standart suşu ile kontamine ederek ürettikleri telemede -38 ve -18 °C'de 7.5 aylık muhafaza sonucunda % 98 oranında *L.monocytogenes* eliminasyonu olduğu sonucunu elde etmişlerdir.

Berang ve ark. (4), taze ve son kullanma tarihi geçmiş yağsız süttten hazırladıkları çikolatalı dondurmalarda *L.monocytogenes*'in yaşam sürecini izlemişlerdir. Son kullanma tarihi geçmiş olan süttten hazırlanmış çikolatalı dondurmanın -18 ve -24 °C'de ki 14 haftalık muhafaza süresince *L.monocytogenes*'in üzerinde herhangi bir hasar veya yıkılayıcı bir etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir.

Rosenow ve Marth (5), yaptıkları bir çalışmada +4 ve +21 °C'de inkübe edilen dondurma türlerinin tamamında *L.monocytogenes* gelişiminin dondurma türü farkı olmaksızın aynı düzeylerde şekillendiğini belirtmişlerdir.

Türkiye'de dondurmaların mikrobiyolojik kalitesinin araştırıldığı çok sayıda çalışma yapılmıştır ancak dondurmalarda *Listeria* türlerinin araştırıldığı sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (6-11).

Türk Gıda Kodeksi, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne (12) göre alınan beş adet dondurma örneğinin 25 g/ml 'sinde *L. monocytogenes* bulunmaması zorunluluğu belirtilmiştir.

Bu çalışmada, Kayseri ilinde ambalajsız olarak açıkta satışı sunulan sade ve meyveli dondurmalarda *Listeria spp.* varlığının klasik kültür tekniği ile saptanması ve halk sağlığı açısından sonuçların değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada 01 Haziran – 31 Ağustos 2009 tarihleri arasında toplam 50 adet dondurma örneği materyal olarak kullanıldı. Dondurma örnekleri sade (25/50) ve meyveli (25/50) dondurmalarından oluşturuldu.

Aseptik olarak alınarak soğuk zincir altında laboratuvara getirilen örneklerde *Listeria* türlerinin varlığı ISO 11290-1/A1- 2004 metodu kullanılarak araştırıldı (13).

ISO 11290-1/A1-2004 metodu çerçevesinde 25 ml. dondurma örneği 225 ml, ½ konsantrasyonda (inhibitörleri yarım konsantrasyonda içeren) half Fraser broth besiyerinde ön zenginleştirme amacı ile 30 °C'de 24 saat süre ile inkübe edilerek ön zenginleştirme işlemi yapıldı. Ön zenginleştirme solusyonundan 0.1 ml alınarak 10'ar ml'lik tüplere tam kuvvette hazırlanan Fraser brothlara (inhibitörleri normal konsantrasyonda içeren) aktarıldı. Fraser brothlar 37 °C'de 2 gün inkübe edilerek selektif zenginleştirme aşaması tüplerde gerçekleştirildi. Daha sonra brothlardan öze yardımcıyla polymyxin - acriflavine - lithium chloride - cef-tazidime - esculin - mannitol içeren Oxford agar (Oxford *Listeria* Selektif Agar (Basis) 1.07004.0500, inhibitör Art.Nr.1.07006) besiyerlerine çizme yöntemiyle ekim yapılarak 37°C 'de 24 saat inkübe edildi.

İnkübasyonun 24 ile 48. saatlerinde tipik en az 5 koloni *Listeria* Chrome Agar (Oxoid CM 1080 Brilliance *Listeria* Agar Base, inhibitör SR 0228E ve SR0227E) besi yerine öze yardımcıyla çizme plak tekniği ile inoküle edildi.

Söz konusu agarda mavi-turkuaz renk opak haleli koloniler şüpheli kabul edilerek, şüpheli kolonilere Gram boyama, oksidaz, katalaz ve CAMP (Christie, Atkins, Munch-Peterson) testleri uygulandıktan sonra izolatlar, Microbact test kitinde

(Microbact *Listeria* 12L *Listeria* IDENTIFICATION SYSTEM MB1128 OXOID) biyokimyasal testler açısından analiz edilmek üzere gliserinli TSA içeren boncuklu cryobank tüplerine aktarılarak -20°C'de muhafazaya alındı. Çalışma sonunda elde edilen izolatlar çözündürülüp zenginleştirilerek Microbact test kitindeki biyokimyasal özellikler (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 değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SAS (14) istatistik paketi kullanılmıştır. Sade ve meyveli dondurma gruplarına ait örneklerde *listeria* türlerinin varlığına ilişkin veriler Pearson Ki-Kare testinin Exact yöntemi ile değerlendirildi. $P < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmada elde edilen izolatların microbact test kiti kullanarak yapılan biyokimyasal test sonuçlarına göre alınan 25 sade dondurma örneğinden 6 tanesi-

nin (%24), 25 meyveli dondurma örneğinden ise 3 tanesinin (%12) *Listeria* türleri ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Sade dondurma örneklerinin üç tanesinde (%12) sadece *L.monocytogenes*, iki tanesinde (%8) *L.monocytogenes* ve *L.ivanovii*, bir tanesinde (%4) ise *L.ivanovii* ve *L.grayi* tespit edilmiştir. Meyveli dondurma örneklerinin bir tanesinin (%4) sadece *L.monocytogenes*, bir tanesinin (%4) *L.monocytogenes* ve *L.seeligeri*, bir tanesinin ise (%4) *L.monocytogenes* ve *L.grayi* ile kontamine olduğu sonucuna varılmıştır.

Sade dondurma örneklerinin 5'i (%20) ve meyveli dondurma örneklerinin ise 3'ünün (%12) *L.monocytogenes* ile toplamda ise bütün dondurma örneklerinin 8 adedinin (%16) etken ile kontamine olduğu belirlenmiştir.

Sade ve meyveli dondurma gruplarına ait örneklerde *Listeria* türlerinin varlığına ilişkin sonuçların istatistiksel değerlendirmesinde, iki grup dondurmada *Listeria* türlerinin varlığı bakımından farkın önemli olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). İstatistiksel değerlendirme sonuçları ve *Listeria* spp. pozitif dondurma örneklerinin türlere göre dağılımlarına ilişkin sonuçlar Tablo I'de belirtilmiştir.

Tablo I. *Listeria* spp. Pozitif Dondurma Örneklerinin *Listeria* Türlerine Göre Dağılımı (%).

	<i>Listeria</i> spp. pozitif dondurma örnekleri (%)					c ²	P*
	<i>L. m</i>	<i>L.m+L.i</i>	<i>L.m+L.g</i>	<i>L.m+L.s</i>	Toplam		
Sade Dondurma (n=25)	3(%12)	2 (%8)	1(%4)	-	6(%24)	1.220	0.463
Meyveli Dondurma (n=25)	1(%4)	-	1(%4)	1(%4)	3(%12)		

* $p>0.05$

L. m : *L. monocytogenes*

L.g: *L. grayi*

L.i : *L. ivanovii*

L.s : *L. seeligeri*

TARTIŞMA

Bu araştırmada Kayseri ilinde ambalajsız olarak açıkta satışı sunulan sade ve meyveli dondurmalar da *L. monocytogenes* varlığı araştırılmıştır.

Araştırmada elde edilen bulgular ile Alas'ın (6), Ankara piyasasından topladığı 50 adet sade dondurma örneğinde tespit ettikleri % 20 düzeyinde *L.monocytogenes* varlığına ilişkin bulguları uyum göstermektedir.

Keskin ve ark. (7), İstanbul piyasasında 55 ayrı satış noktasında aldıkları sade dondurma örneğinin hiç birisinde *L.monocytogenes* varlığı belirleyememiş olmaları elde ettiğimiz sonuç ile fark göstermektedir. Bunun başlıca sebebi olarak, ilgili araştırmacıların izolasyon amaçlı olarak kullanmış olduğu TS ISO EN 11290-1 yöntemi ile bu araştırmada kullanılan ISO 11290-1/A1-2004 metodu arasındaki farklılık belirtilebilir. Bu araştırmada kullanılan izolasyon prosedürünün *L.monocytogenes* tespitine yönelik olarak kullanılan en yeni teknik olması daha iyi bir *L.monocytogenes* eldesini de beraberinde getirmektedir.

Arslan ve ark. (8) Elazığ piyasasından topladıkları 73 adet dondurma örneğinde *Listeria* spp. kontaminasyonunu % 1.36 düzeyinde tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın da düşük düzeyde *Listeria* spp. belirlenmiş olması, araştırmalarında kullanmış oldukları izolasyon prosedürünün farklı olmasına bağlanabilir. Bu nedenle araştırmamızda elde etmiş olduğumuz oran belirtilen çalışmanın tespit ettiği düzeylerin üzerindedir.

Dığrak ve ark.'nın (9) Kahramanmaraş ilinde yaptıkları araştırmada, dondurma satış yerlerinden alınan 86 adet sade dondurma örneğinin, dört adedinde *E.coli+K.pneumonia+Listeria* spp. varlığı belirlenmişlerdir. *Listeria* spp. içeren üç örnekten alınan beş koloninin *L.monocytogenes* olduğunu, diğer örnekten alınan beş koloniden dört adedini *L.grayi*, bir adedini ise *L.monocytogenes* olduğunu sonucunu belirtmişlerdir. Bu çalışmanın bulguları, araştırmamızın bulguları arasında fark bulunmaktadır. Bunun temel nedeni, Dığrak ve ark.'larının,

L.monocytogenes izolasyonu için Lovett ve Hitchins'in metodunu kullanmış olmalarıdır. Metot farklılıkları dolayısı ile çalışmalar arasında izolasyon oranlarının farklı olduğunu belirtmek mümkündür.

Kahramanmaraş ilinde tüketime sunulan dondurmalarda *Listeria* türlerinin varlığını araştıran Akman (10) yapmış olduğu çalışmada incelediği toplam 28 adet dondurma örneğinden 14'ünün (%50) *Listeria* spp. ile kontamine olduğunu, elde edilen kolonilerin tamamının *L.grayi* olarak identifiye edildiğini bildirmektedir. İlgili araştırmacı Kahramanmaraş ilinde üretilen dondurmalarda koyun ve keçi sütünün kullanılmasına bağlamakla beraber, Kahramanmaraş'ta tüketime sunulan dondurmalar da *Listeria monocytogenes* varlığının daha çok çevresel kontaminasyonlardan kaynaklanabileceğini ifade etmektedir. Araştırmamızda, materyali oluşturan dondurma örneklerinin Kayseri ilinden toplanmıştır. Kayseri ili ile çevresinde dondurma imalatında yaygın olarak büyükbaş hayvan sütü kullanılmaktadır. Farklı hammaddeden üretilen mamullerin farklı özellikler taşıyor olmasının olağan karşılanması gerekmektedir.

Akman ve ark. (11), Kahramanmaraş'tan temin ettikleri 28, Adana'dan temin ettikleri 30 adet olmak üzere toplam 58 adet dondurma örneğini *Listeria* spp. varlığı yönünden inceledikleri araştırmalarında; Kahramanmaraş ilinden alınan örneklerin 14'ünde (% 24.1), Adana ilinden alınan örneklerin 10'unda (% 17.2) *listeria* türlerinin varlığını belirlenmişlerdir. Yapılan biyokimyasal tür tayininde 58 örnekten 22'sinin *L.grayi* ile, birer adedinin ise *L.innocua*, *L.welshimeri* ile kontamine olduğunu tespit ederlerken örneklerin hiç birisinde *L.monocytogenes* bulunmadığını ifade etmişlerdir. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular ile belirtilen çalışmanın bulgularının farklılık göstermesinin nedeni olarak yine farklı hammaddeden imal edilen ürünlerin mikrobiyolojik özelliklerinin farklı olması belirtilebilir.

Sonuç olarak bu çalışmada, Kayseri ilinde ambalajsız ve açıkta sunulan sade ve meyveli dondurmaların, toplum sağlığı bakımından önemli bir tehlike olarak kabul edilen *Listeria monocytogenes* ile

Türk Gıda Kodeksi, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde belirtilenin aksine toplamda %16 gibi önemli bir düzeyde kontamine olduğu ve etkene karşı gerekli tedbirlerin alınmaması halinde tüketicileri açısından listeriyozis'in potansiyel bir risk olduğu konusu vurgulanmaktadır .

KAYNAKLAR

1. Barza M. *Listeriosis and Milk. New England J. Medicine.*1985;312: 438-440.
2. Schlech WF. *Virulence Characteristics of Listeria monocytogenes. Food tech.*1988; 4:176 - 178.
3. Papageorgiou DK, M.Bori and A.Mantis. *Survival of Listeria monocytogenes in frozen ewe's milk and Feta cheese curd. J. Food Prot.* 1997; 60:1041-1045.
4. Berang ME, Frank JF and Brackett RE. *Behavior of Listeria monocytogenes in chocolate milk and Ice Cream mix made form post-Expiration Date Skim Milk. J. Food Prot.* 1988; 51: 823.
5. Rosenow EM and Marth EH. *Growth of Listeria monocytogenes in skim whole and chocolate milk and in whipping cream during incubation at 4, 8, 13, 21 and 35°C. J. Food Prot.* 1987; 50:452-459.
6. Zeynep Tuba ALAS (BURKAN) . *Ankara Piyasasında Tüketime Sunulan Beyaz Peynir ve Sade Dondurmada Listeria Monocytogenes, Bacillus Cereus, Fekal Koliform ve E. Coli Varlığı. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Ün. Fen Bil .Enst. Ankara 2004.*
7. Keskin Y, Başkaya R, Özyaral O et al. *Sade dondurmaların mikrobiyolojik incelenmesi. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi.* 2007; 37: 51-58.
8. Arslan A, Gönülalan Z, Ateş G, Güven A. *Determination of Listeria, Salmonella, E.Coli Type 1 and K.pneumoniae in Ice Cream Samples Marketed in Elazığ. Turk. J. Vet. Ani. Sci.* 1996; 20: 109-112.
9. Dığrak M, Tanış H, Bağcı E, Kırbağ S. *Kahramanmaraş'ta tüketime sunulan dondurmalarda Listeria, Salmonella, E.Coli ve K.pneumoniae'nin araştırılması. GIDA.*2000; 25: 349-353.
10. Akman ŞD. *Kahramanmaraş'ta Tüketime Sunulan Dondurmalarda Listeria Türlerinin İzolasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bil Enstitüsü.* 2000.
11. Akman D, Duran N, Dığrak M. *Prevalence of Listeria Species in Ice Creams Sold in the Cities of Kahramanmaraş and Adana. Turk J. Med. Sci.* 2004; 257-262.
12. T.C.Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü (2009). *Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği* :[http://www.kkgm.gov.tr/TGK/Tebliğ/2009-6.html], Erişim Tarihi:20 Haziran 2009.
13. Anonymous. *Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs, Horizontal Method for the Detection and Enumeration of Listeria monocytogenes, ISO 11290-1/A1-2004; pp 1.*
14. SAS. *SAS/STAT User's Guide (6.03); SAS Institute, Inc : Cary, New York.*1988.