



Taze Marul Örneklerinde *Escherichia coli* O157 ve *Listeria monocytogenes* Varlığının Belirlenmesi

Recep Kara^{1*}, Ulaş Acaröz², Zeki Gürler³, Ali Soylu⁴, Osman Küçük Kurt⁵

¹ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Afyonkarahisar, Türkiye (ORCID: 0000-0002-9257-7506)

² Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Afyonkarahisar, Türkiye (ORCID: 0000-0002-1533-4519)

³ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Afyonkarahisar, Türkiye (ORCID: 0000-0002-9037-2945)

⁴ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Afyonkarahisar, Türkiye (ORCID: 0000-0002-3881-9420)

⁵ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Afyonkarahisar, Türkiye (ORCID: 0000-0002-4670-659X)

(İlk Geliş Tarihi 1 Haziran 2019 ve Kabul Tarihi 25 Ağustos 2019)

(DOI: 10.31590/ejosat.573247)

ATIF/REFERENCE: Kara, R., Acaröz, U., Gürler, Z., Soylu, A., Küçük Kurt O. (2019). Taze Marul Örneklerinde *Escherichia coli* O157 ve *Listeria monocytogenes* Varlığının Belirlenmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (16), 871-873.

Öz

Taze salatalar ve salata yapımında kullanılan sebzeler, çiğ tüketildiği için patojen bakteriler ile kontamine olması durumunda insan sağlığı açısından ciddi riskler oluşturabilmektedir. Bu amaçla yapılan çalışmada, Afyonkarahisar ilinde tüketime sunulan taze marul örneklerinin mikrobiyolojik kalitesi incelendi. Çalışma kapsamında, market ve pazarlardan toplanan 70 adet taze marul örneği *Escherichia coli* O157 ve *Listeria monocytogenes* varlığı yönünden analize alındı. *E. coli* O157 ve *L. monocytogenes* analizleri sırasıyla ISO 16654 ve ISO 11290-1'e göre gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda, 70 adet taze marul örneğinin 2 (%2,86)'sinde *E. coli* O157 ve bir (%1,43) tane taze marul örneğinde ise *L. monocytogenes*, tespit edildi. Sonuç olarak, incelenen marul örneklerinin patojen bakterileri içerdiği ve mikrobiyolojik kalitesinin düşük seviyede olduğu belirlenmiştir. Isıl işlem olmadan tüketilen sebzelerde *E. coli* O157 ve *L. monocytogenes* gibi patojen bakterilerin bulunması sağlık açısından ciddi bir risk oluşturmaktadır. Bu nedenle, mikrobiyolojik kaliteyi artırmak için etkili kontrol önlemlerinin uygulanması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Marul, Salata, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*.

Determination of the Presence of *Escherichia coli* O157 and *Listeria monocytogenes* in Fresh Lettuce Samples

Abstract

Fresh salads and vegetables used for salad making may induce serious risks for human health if they are contaminated with pathogenic bacteria since they are consumed raw. In this study, microbiological quality of fresh lettuce samples which are offered for consumption in Afyonkarahisar province was investigated. For that aim, 70 fresh lettuce samples collected from markets and bazaars and analyzed for the presence of *Escherichia coli* O157 and *Listeria monocytogenes*. The analysis of *E. coli* O157 and *L. monocytogenes* was performed according to ISO 16654 and ISO 11290-1, respectively. The results of the present study showed that 2 (% 2.86) of 70 fresh lettuce samples were found to be positive for *E. coli* O157 while 1 (1.43%) fresh lettuce sample was positive for *L. monocytogenes*. In conclusion, the lettuce samples were found to contain pathogenic bacteria and their microbiological quality was low. The presence of pathogenic bacteria such as *E. coli* O157 and *L. monocytogenes* in vegetables consumed without heat treatment poses a serious health risk. Therefore, effective control measures should be implemented to increase microbiological quality.

Keywords: Lettuce, Salad, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*.

* Sorumlu Yazar: Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, İstanbul, Türkiye, ORCID: 0000-0002-9257-7506, recepkala@aku.edu.tr

1. Giriş

Salatalarda kullanılan sebzelerde doğal olarak bulunan mikroorganizmaların çoğu patojenik olmayan bakterilerdir. Ancak yetiştirilen sebzeler, su, toprak, hayvanlar ve hasat ekipmanlarından gelen patojenlerle kontaminasyona karşı savunmasız haldedirler. Toprakla temas eden yapraklı sebzeler *Bacillus cereus*, *Clostridium* spp. ve *Listeria monocytogenes* gibi yıkama ile bile hayatta kalabilen gram-pozitif bakterileri barındırabilmektedirler (Brackett ve Splittstoesser, 2001; Allende ve ark., 2006; De Oliveira, 2011). Bunun yanı sıra yeni hasat edilen sebzelerin yüzeyinde ağırlıklı olarak gram-negatif saprofitler ile (Fröder ve ark., 2007) *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*, enteropatojenik *Escherichia coli* gibi bazı patojenler de bulunabilmektedir (Alzamora ve ark., 2000; Brackett ve ark., 2001). Hasat sonrasında ise, kontaminasyon nakliye ve ürünün işlenmesi sırasında oluşabilmektedir (Franz ve ark., 2010). Bugüne kadar, sebzelerin insan için patojenik bakteriler tarafından kirlenmesinin çoğunun hasat sonrası kullanım sırasında ortaya çıktığı düşünülmektedir (Warriner ve ark., 2003). Patojen bakteriler, salata yapımı esnasında kontamine sebzeler ile kolayca sebze salatalarına aktarılabilir ve tüketiciler için sağlık açısından tehlike oluşturabilir (Lin ve ark., 1996). Sebzelerde patojen varlığını engellemek ve hijyenik kaliteyi arttırmak için farklı uygulamalar yapılmaktadır. Özellikle yapılan bazı çalışmalarda farklı bitkilere ait hidrosol uygulamalarının taze marullarda mikrobiyolojik güvenliğini sağlamak amacıyla kullanılabileceği bildirilmektedir (Tornuk ve ark., 2011; Oztürk ve ark., 2016)

Escherichia coli O157 ve *Listeria monocytogenes*, en çok bilinen ve üzerinde araştırma yapılan gıda kaynaklı patojenlerdir. *E. coli* O157, gıda kaynaklı hastalıkların önemli bir etkeni olarak kabul edilmektedir. Hastalık tablosu genellikle şiddetli ve ağır olup, hemorajik kolit, hemolitik üremik sendrom ve trombotik trombositopenik purpura olmak üzere üç farklı klinik tablo ile insan sağlığını etkilemektedir (Michael, 1991). Gram-pozitif bir bakteri olan *L. monocytogenes*, gıda kaynaklı hastalık salgınlarında rol oynayan, hücre içi bir patojendir. Yüksek mortalite oranına sahip olmakla birlikte hamile bayanlarda düşük, yenidoğan ölümü, septisemi ve menenjit gibi önemli sağlık sorunlarına neden olmaktadır (Farber ve Peterkin, 1991). Her ne kadar bu bakterilerin temel kaynağı ve bulaşma yolu hayvansal ürünler yoluyla ilişkili olsa da, taze ürünlerde bu patojenler için önemli bir kontaminasyon aracı olarak kabul edilmektedir (Elizaquível ve ark., 2012). Nitekim Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi 2018 yılı içerisinde ABD’de kontamine marul tüketimine bağlı *E. coli* O157 salgınları olduğunu bildirmiş ve muhtemel kontaminasyon kaynağının da sulama suyu olabileceğini rapor etmiştir (CDC, 2018).

Bu amaçla Afyonkarahisar ilinde market ve halk pazarlarında satışa sunulan taze marul örneklerinde önemli gıda patojenleri olan *E. coli* O157 ve *L. monocytogenes* varlığı araştırılmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Materyal

Yapılan çalışmada Afyonkarahisar ilinde halk pazarı ve marketlerde satışa sunulan 70 adet taze marul örneği Kasım 2018-Mart 2019 tarihleri arasında toplanmıştır. Laboratuvara getirilen taze marul örnekleri aynı gün analize alınmıştır.

2.2. *E. coli* O157 Analizi

Marul örneklerinde *E. coli* O157 analizi ISO 16654:2001’e göre gerçekleştirilmiştir. Buna göre her bir marul örneğinden analiz için 25'er g marul örneği tartılarak 225 ml Tryptic Soy Broth (Merck; 1.05459, Germany) ile homojenize edildi. Homojenizasyon işlemi sonrası tüpler 41,5 °C’de 18 saat süre ile inkübasyona bırakıldı. Örnekler ön zenginleştirme işleminin ardından Dynabeads anti-*E. coli* O157 (Dynabeads anti-*E. coli* O157, Dynal, İngiltere) kullanılarak üretici firma tarafından bildirilen yöntemle IMS’ye tabi tutuldu. Bu işlemin ardından, Cefixime Tellürite Rhamnoz-McConkey (CT-RMAC; Oxoid:CM1005B) Agar’a O157 Dynabead ve bakteri kompleksinden 50 µl alınarak ekim gerçekleştirildi ve petriyeler 37°C’de 18-24 saat süre ile inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası şüpheli izolatlar *VITEC 2 Compact* ve anti-*E. coli* O157 serum lateks test kullanılarak *E.coli* O157 olarak kolonilerinin identifikasyonu gerçekleştirildi.

2.3. *L. monocytogenes* Analizi

Marul örneklerinde *L. monocytogenes* analizi ISO 11290-1: 1996’ya göre gerçekleştirilmiştir. Buna göre her bir marul örneğinden 25'er g steril stomacher torbasına tartıldı. Daha sonra her bir örnek, 225 ml Half Fraser Broth (Oxoid, SR166) ile stomacherde 2 dk boyunca homojenize edildi. Homojenize edilen örnekler 30 °C’de 24±2 saat süre ile inkübasyona bırakıldı. 10’ar ml Fraser Broth (Oxoid, CM0895; SR156) içeren tüpler içerisine 0.1 ml homojenizattan aktararak 35±2 °C’de 48 ± 2 saat süre ile inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucu elde edilen ön zenginleştirme kültüründen, Oxford Agar (Oxoid CM 856, SR 140) ve PALCAM Agar (Oxoid, CM0877; SR 0150) selektif besiyerlerinin yüzeylerine ekim gerçekleştirildi ve 30°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Benzer şekilde, Oxford Agar ve PALCAM Agar selektif besiyerlerinin yüzeylerine ikinci zenginleştirme besiyerinden tek koloni düşürme için ekim gerçekleştirildi ve 37°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası gelişen *Listeria* şüpheli kolonilere hareketlilik testi, Gram boyama, oksidaz ve katalaz testleri yapıldı ve *VITEC 2 Compact* kullanılarak *L. monocytogenes* kolonilerinin identifikasyonu gerçekleştirildi.

3. Bulgular ve Tartışma

Yapılan çalışmada, Afyonkarahisar ilindeki market ve halk pazarlarından temin edilen 70 adet taze marul örneğinde *E. coli* O157 ve *L. monocytogenes* varlığı araştırılmıştır. 70 adet taze marul örneğinde, 2 (%2,86) örnekte *E. coli* O157 ve bir (%1,43) örnekte *L. monocytogenes*, tespit edilmiştir. Çalışma sonuçları Tablo 1’de sunulmuştur.

Tablo 1. Taze marul örneklerinde *E. coli* O157 ve *L. monocytogenes* dağılımı.

Table 1. Prevalance of *E. coli* O157 and *L. monocytogenes* in Feresh Lettuce

Örnek tipi	Örnek Sayısı	<i>E. coli</i> O157 (%)	<i>L. monocytogenes</i> (%)
Marul	70	2 (%2,86)	1 (%1,43)

Sebzeler ya direkt ya da salata vb gıda ürünlerinde karışım olarak kullanılmakta ve herhangi bir ısıl işlem görmeden çiğ olarak tüketilmektedir. Bu nedenle sebzelerde patojen varlığı sağlık açısından ciddi riskler oluşturabilmektedir. Sebzeler ve bunlardan yapılan salatalarda patojen varlığının araştırıldığı çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Ongan (2012), huzurevlerinde yaşlılara sunulan beslenme hizmetlerini değerlendirmek ve yaşlıların beslenme durumlarını saptamak amacıyla yürüttüğü bir çalışma kapsamında, dört farklı salata türünden (çoban salata, karışık salata, havuç lahanaya salata, baharatlı çoban salata) oluşan salatalarda her huzurevinden bir adet salata örneği olmak üzere 25 salata örneğini analiz için toplamıştır. Çalışma sonucunda incelenen salata örneklerinde *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* spp. izole edilmediğini, ancak farklı düzeylerde *E. coli*, *S. aureus*, koliform ve toplam mezofil aerob bakteri saptandığını bildirilmiştir. Balıkesir ilinde, sebze salatalarının da dahil olduğu tüketime sunulan farklı gıda örneklerinde *L. monocytogenes* ve *Salmonella* spp. varlığının araştırıldığı bir çalışmada ise, alınan 40 adet sebze salatası örneğinde 10 adet (%25) *Listeria* spp. ve 4 adet (%10) *L. monocytogenes* tespit edilmiştir (Gökmen ve ark., 2016). Yapılan başka bir çalışmada ise, Afyonkarahisar ilinin 4 farklı bölgesinden olmak üzere “caterring” firmalarından, “fast – food” satış yapan büfelerden, lokanta ve pazaryeri esnafından marul, domates, havuç, roka, maydanoz, soğan, mor lahanayı içeren 103 adet tüketime hazır salata toplanarak incelenmiştir. İncelenen 103 salata numunesinin 17’sinde (%16,50) sorbitol negatif *E. coli* O157 şüpheli izolatlar tespit edilmiştir (Aslan ve ark., 2016). Kınay ve Kaptangil (2018), gerçekleştirdikleri bir çalışma kapsamında, Sinop merkezde faaliyet gösteren yiyecek içecek işletmelerinden analize aldıkları 16 adet salatayı (yeşil ve çoban salata) mezofil aerob bakteri (TMAB), maya ve küf, koliform bakteri bakımından incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, incelenen salata örneklerine ait TMAB ile maya ve küf sayıları tüketim sınırları içinde, koliform bakteri sayıları ise farklı düzeylerde tespit edilmiştir. Elde edilen sonuca göre, genel hijyen kurallarının tam olarak uygulanmadığını ve mikrobiyolojik kalitenin düşük olduğunu bildirmişlerdir. Özpınar ve ark. (2013) İstanbul’da pazardan toplanan 180 sebze numunesini incelemişler ve çalışma sonucunda, 109 (%60,5) numunede *E. coli* tespit edilmiştir. 1’er numune olmak üzere maydanoz, marul ve havuç örneklerinde O157 serotipi tespit etmişlerdir. Yapılan bazı çalışmalarda (Özpınar ve ark., 2013; Aslan, 2015; Gökmen ve ark., 2016) sebze ve ürünlerinde patojen bakteriler tespit edilirken, diğerlerinde (Ongan, 2012) tespit edilmemiştir. Ancak patojen tespit edilmemiş olmasına rağmen bu ürünlerinde genel hijyen inkikatrörü bakterileri içerdiği ve mikrobiyolojik kalitesinin uygun olmadığı bildirilmektedir (Kınay ve Kaptangil, 2018). Ayrıca Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinin sebzeler ile ilgili maddesine göre “yıkamış, doğrama ve paketleme işleminden geçmiş, ayrı ayrı veya karıştırılmış çiğ sebzeler ile dondurulmuş veya kurutulmuş sebzeler”de *E. coli* O157 ve *L. monocytogenes* varlığı (25 g’da) istenmemektedir (Anonim, 2011). Çiğ olarak tüketilen sebze ve salataların patojen bakteriler ile kontamine olmasında, mahsülün üretim yerinin yakınlarında hayvan çiftliklerinin olması buna bağlı olarak yetiştirme sahalarında kullanılan su kaynaklarından kirlenmesi, Üretim alanına hayvanların erişiminin olması ve bu alanlarda serbest dolaşmaları, üretim sürecinde yıkama, temizleme sularının kirli olması ile yetersiz personel ve tesis hijyeninin etkisi bulunmaktadır (Bell, 2002).

4. Sonuç

Sonuç olarak, Afyonkarahisar ilinde satışa sunulan taze marul örneklerinin mikrobiyolojik kalitesi hakkında bilgi edinmek amacı ile gerçekleştirilen yapılan çalışmada, incelenen marul örneklerinin *E. coli* O157 (%2,86) ve *L. monocytogenes* (%1,43) ile kontamine olduğu ve risk teşkil ettiği sonucuna varılmıştır. Isıl işlem görmeden çiğ olarak tüketilen bu ve benzeri gıda ürünlerinde üretimde kontamine su kullanılmaması, gerek hasat sırasında ve gerek hasat sonrasında etkili kontrol önlemlerinin uygulanması ile meydana gelebilecek kontaminasyonun önüne geçilmesi gibi önlemlerin, satışa sunulan marul örneklerinin mikrobiyolojik kalitesini arttırmada gerekli ve önemli olduğu ortaya konulmuştur.

5. Kaynaklar

- Allende, A., Tomás-Barberán, F. A., & Gil, M. I. (2006). Minimal processing for healthy traditional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 17(9), 513-519.
- Alzamora, S.M., Lo’pez-Malo, A., & Tapia, M. S. (2000). Overview. In S. M. Alzamora, M. S. Tapia, and A. Lo’pez-Malo (ed.), *Minimally processed fruits and vegetables: fundamental aspects and applications*. Aspen, Gaithersburg, Md.
- Anonim, 2011. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği, Sayı: 28157 (3. Mükerrer), 29 Aralık 2011.
- Aslan, S., Altındış, M., & Yaman, H. (2016). Sığır ve ishali insan dışkıları ile bazı gıdalarda *Escherichia coli* O157: H7 ve STX1/STX2 gen varlığının araştırılması. *Nobel Medicus Journal*, 12(3), 17-23.
- Bell, C. (2002). Approach to the control of entero-haemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). *International Journal of Food Microbiology*, 78(3), 197-216.

- Brackett, R. E., & Splittstoesser, D.F. (2001). Fruits and vegetables, p. 515–520. In F. P. Downes and K. Ito (ed.), *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- CDC, (2018). Centers for Disease Control and Prevention, Multistate Outbreak of *E. coli* O157:H7 Infections Linked to Romaine Lettuce (Final Update). Erişim: <https://www.cdc.gov/ecoli/2018/o157h7-04-18/index.html> (Erişim Tarihi: 10.04.2019).
- De Oliveira, M.A., De Souza, V.M., Bergamini, A.M.M., & De Martinis, E.C.P. (2011). Microbiological quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brazil. *Food Control*, 22(8), 1400-1403.
- Doyle, M. P. (1991). *Escherichia coli* O157: H7 and its significance in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 12(4), 289-301.
- Elizaquível, P., Sánchez, G., & Aznar, R. (2012). Quantitative detection of viable foodborne *E. coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in fresh-cut vegetables combining propidium monoazide and real-time PCR. *Food Control*, 25(2), 704-708.
- Farber, J.M. & Peterkin, P.I. (1991). *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 55(3), 476-511.
- Franz, E., Tromp, S. O., Rijgersberg, H. & Van Der Fels-Klerx, H. J. (2010). Quantitative microbial risk assessment for *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* in leafy green vegetables consumed at salad bars. *Journal of Food Protection*, 73(2), 274-285.
- Fröder, H., Martins, C.G., De Souza, K.L.O., Landgraf, M., Franco, B.D., & Destro, M.T. (2007). Minimally processed vegetable salads: microbial quality evaluation. *Journal of Food Protection*, 70(5), 1277-1280.
- Gokmen, M., Akkaya, L., Kara, R., & Onen, A. (2016). Prevalence of *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes* in some ready to eat foods sold retail in Balıkesir. *Van Veterinary Journal*, 27(1), 31-36.
- International Standard Organisation, (2001). 11290-1 (1996). Microbiology of food and animal feeding stuffs—horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*—Part 1: detection method.
- International Standard Organisation, (2001). Microbiology of food and animal feeding stuffs—Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* 0157. ISO 16654.
- Kınay, A.G., & Kaptangil, K. (2018). Sinop İlinde Bulunan Yiyecek İçecek İşletmelerinde Gıda Hijyeninin Belirlenmesine Yönelik Bir Araştırma Ve Geliştirilebilecek Yönetimsel Yaklaşımlar. *Akademik Sosyal Araştırmalar Dergisi*, 68, 242-249.
- Lin, C.M., Fernando, S.Y., & Wei, C.I. (1996). Occurrence of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* and *E. coli* O157: H7 in vegetable salads. *Food Control*, 7(3), 135-140.
- Ongan, D. (2012). Huzurevlerin'de Yaşlılara Sunulan Beslenme Hizmetlerinin Değerlendirilmesi ve Yaşlıların Beslenme Durumlarının Saptanması. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme ve Diyetetik Programı, Ankara.
- Özpinar, H., Turan, B., Tekiner, İ.H., Tezmen, G., Gökçe, İ., & Akıncı, Ö. (2013). Evaluation of pathogenic *Escherichia coli* occurrence in vegetable samples from district bazaars in Istanbul using real-time PCR. *Letters in Applied Microbiology*, 57(4), 362-367.
- Oztürk, I., Tornuk, F., Caliskan-Aydogan, O., Durak, M.Z., Sagdic, O. (2016). Decontamination of iceberg lettuce by some plant hydrosols, *LWT-Food Science and Technology*, 74, 48–54. DOI:10.1016/j.lwt.2016.06.067.
- Tornuk, F., Cankurt, H., Ozturk, I., Sagdic, O., Bayram, O., Yetim, H. (2011). Efficacy of various plant hydrosols as natural food sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* on fresh cut carrots and apples. *International Journal of Food Microbiology*, 148 (1), 30-35. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.04.022.
- Warriner, K., Ibrahim, F., Dickinson, M., Wright, C. and Waites, W. M. (2003). Interaction of *Escherichia coli* with growing salad spinach plants. *Journal of Food Protection*, 66(10), 1790-1797.