

GIDALARDA HIZLI SALMONELLA KONTROLÜ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA*

A RESEARCH ON RAPID DETECTION OF SALMONELLA IN FOODS

Hilal B.DOĞAN, A.Kadir HALKMAN, Malihe R.NOVEIR
Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü-ANKARA

ÖZET: Bu çalışmada BAM/AOAC klasik kontrol yöntemi ve Oxoid hızlı salmonella test kiti kullanılarak toplam 64 salmonella analizi yapılmıştır. Testlerin 24 adedi geri alma denemesi, 40 adedi piyasa taraması şeklindedir. Oxoid hızlı salmonella test kiti BAM/AOAC'ye göre 1 adet (% 1,56) sahte (-) sonuç vermiştir. Analiz süresinin kısalığı, kullanım kolaylığı, çeşitli laboratuvar hatalarından arı olması gibi üstünlükleri dikkate alınarak Oxoid hızlı salmonella test kitinin klasik salmonella aranma yöntemine göre kayda değer üstünlükleri olduğu görülmüştür.

SUMMARY: Totally 64 samples were tested for salmonella by BAM/AOAC classical salmonella control method and Oxoid Salmonella Rapid Test. 24 of the samples were pre-inoculated with salmonella strains while others were market foods. OSRT gave only 1 (1.56 %) false negative result. Because of some advantages as shorter test time, simpler to use, free from various laboratory faults, OSTR was clearly superior then BAM/AOAC method.

GİRİŞ

Klasik bir gıda enfeksiyonu olarak bilinen salmonellosis'in etmeni olan salmonellaların gıda mikrobiyolojisindeki önemleri büyüktür. Tifo ve paratifo ile birlikte *Salmonella*'nın neden olduğu ölümler *Clostridium* ölümlerinden daha fazladır. *Salmonella* kaynaklı gastroenterit de ölümlerle sonuçlanabilir (ANONYMOUS, 1976; REFAI, 1979; VAR, 1993; TUNAIL (-).

Salmonellosis'e neden olarak en düşük kontaminasyon dozu 10^5 - 10^6 adet/gram canlı hücre olarak belirlenmiş, ancak türler arasında büyük farklılıklar olduğu gösterilmiştir. Salmonellosis'de hastahğin ortaya çıkması için belirli bir sayıda bakterinin pH'sı 1-2 olan mideyi geçerek barsaklara ulaşması, bunun için de çok sayıda bakterinin gıda ile alınması gerekmektedir. Diğer taraftan çok az sayıda *Salmonella* bulunan gıdalar dahi riskli kabul edilir. Kabul edilen sınır değer 25 gram gıdada *Salmonella* olmamasıdır (TUNAIL, -).

Salmonella, genellikle koliform grup bakteriler tarafından yoğun düzeyde kontamine olmuş gıdalarda bulunabilir. Gıdalarda *Salmonella* varlığının belirlenmesi ise başta *Salmonella* aleyhine olan yoğun rekabetçi flora varlığı olmak üzere pek çok olumsuz faktör tarafından güçleştirilmektedir.

Salmonella'nın en çok bulunduğu gıda maddelerinin başında hayvansal ürünler gelir. Bunlar arasında kümes hayvanları eti, kıyım, sosisler, yumurta ürünleri, su ürünleri, dondurma, süttozu ve krema *Salmonella* açısından önemli gıdalardır. Bunların yanında çeşitli soslar ve salatalar, pudingler, diğer süt ürünleri de *Salmonella* riski taşıyan gıdalardır. Hammadde, işleme teknolojisi ve depolama/pazarlama koşulları *Salmonella* riskinin büyümesine neden olmaktadır (ANONYMOUS, 1984; ANONYMOUS, 1986; GÖKTAN, 1990; VAR, 1993; TUNAIL, -).

Bugün, tüm mikrobiyolojik kontrollerde olduğu gibi gıdalarda *Salmonella* kontrolünde de doğruluk, çabukluk, kolaylık, ucuzluk önem sırası ile yeni yöntemler araştırılmaktadır.

Bu çalışmada hızlı salmonella kontrolüne yönelik olarak geliştirilen bir ticari kitin ülkemiz koşullarında kullanılabilirliği araştırılmıştır.

LİTERATÜR ÖZETİ

Salmonella cinsi içinde yalnız insanlarda, yalnız hayvanlarda ve hem insanlarda hem de hayvanlarda hastalık yapan birçok tür bulunmaktadır. Bunlardan ilk kez *Salmonella cholerae suis* 1886 yılında Salmon tarafından izole edilmiş, sonraları bu cinse *Salmonella* adı verilmiştir. Bu cins içinde 2000 kadar serotip tanımlanmıştır (ANONYMOUS, 1974; ALKIŞ, 1982; BEKAR, 1991).

* Bu çalışma Hilal B.DOĞAN'ın master tezinin bir bölümünden alınmıştır (Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu 92-11-12-01)

Salmonellar, G⁻, spor oluşturmeyen, çubuk şeklinde, aerob ve fakültatif anaerob bakterilerdir. *S.gallinarum* ve *S.pullorum* dışındakiler hareketlidir. Hareketsiz mutantlarına rastlanmaktadır. Basit besiyerlerinde kolaylıkla ürerler. Optimum gelişme pH'ları 7,4; gelişme sıcaklıkları 37°C'dir. Düşük sıcaklıklarda ve 42°C'a kadar yüksek sıcaklıklarda da gelişebilirler. Bütün salmonellalar glükozu fermente ederler, bir kaç istisna dışında gaz oluştururlar. Mannitol ve sorbitol (+), laktoz, sakkaroz ve adonitol (-)'dirler. Salisini genellikle fermente edemezler ancak bazıları düzensiz ve geç olarak kullanabilirler. İndol (-)'dirler. Ancak *S.eastborne*, *S.enteritidis* ve *S.pullorum*'da indol (+) olanlar bulunmuştur. Üreaz, Beta galaktozidaz, fenilalanin deaminaz, triptofan deaminaz (-)'dirler. VP (-), metil red (+) reaksiyon verirler. Lisin dekarboksilaz enzimleri yoktur fakat *S.paratyphi A*'da lisin dekarboksilaz çok zayıf (+) veya (-)'dir. Bir kaç istisna dışında H₂S (+)'dir. Yine bir kaç istisna dışında nitratı nitrite redükte ederler. Salmonellaların büyük çoğunluğu jelatini hidrolize etmezler (EDWARDS ve EWING, 1972; ANONYMOUS, 1974; BEKAR, 1991; VAR, 1993; TUNAIL,-).

Salmonella Kontrolü

Gıda mikrobiyolojisi konuları içinde üzerinde en çok çalışılan bakteri kuşkusuz *E.coli*, izleyen bakteri ise *Salmonella*'dır. Gıda mikrobiyolojisinin yanında tıp ve veteriner mikrobiyolojisi konuları içinde de yoğun olarak salmonella çalışması yapılması bu bakterinin önemini artırmıştır. *Salmonella* üzerine yapılan araştırmalar *Salmonella* varlığını belirleme ve tiplendirme üzerine yoğunlaşmıştır (ARDA, 1978; BANWART, 1983; KÖSE, 1993).

Gıda maddelerinde salmonella belirlenmesi genellikle klasik kültürel yöntemler ile yapılmaktadır. Bu yöntemler ilaveten membran filtrasyon ve enzim immunoassay yöntemleri ile de salmonella varlığı araştırılabilmektedir. Bunların yanında "geliştirilmiş kültürel-enzimatik yöntemler" olarak tanımlanan "hızlı analiz yöntemleri" üzerinde de son yıllarda büyük çalışmalar yapılmaktadır.

Salmonella'nın klasik yöntemle tayininde önzenginleştirme, selektif zenginleştirme, selektif katı besiyerine sürme, biyokimyasal testler ve serolojik doğrulama aşamaları vardır ve bu tayin 7 gün sürmektedir. Bu yöntemde uygulamada görülen farklılıklar, çeşitli kuruluşlar tarafından farklı besiyerleri ve farklı inkübasyon sıcaklıkları önerilmesinden kaynaklanmaktadır.

Gıdalardan *Salmonella* izolasyonu için uygulanabilecek herhangi bir metot, gıda prosesi boyunca ölüm düzeyinde zarar görmüş, düşük düzeydeki hücrelerin belirlenmesi için yeterli düzeyde hassas olmak zorundadır. Performans kolaylığı içeren geliştirilmiş yeni tekniklerin kabulünü etkileyen diğer faktörler arasında ise, sonuca ulaşmak için gereken zaman, normal çalışma saatleri içerisinde yapılabilme özelliği maliyet ve otomasyon imkanı yer alır (HUGHES ve ark., 1987).

Gıdalarda düşük sayılarda bulunabilecek salmonella'ların ciddi sağlık problemleri yaratacağı günümüzde iyi bilinmektedir. Bu nedenle gıdalardan *Salmonella* izolasyonunda kullanılacak yöntemlerin tam bir şekilde tanımlanması ve geliştirilmesi zorunludur. Gıdalardan *Salmonella* izolasyonu için genellikle klinik örneklerde kullanılan yöntemler uygulanmaktadır. Ancak doğal olarak bulaşmış gıdalarda *Salmonella*, klinik materyale göre çok düşük sayıda, genellikle 25 gramda 1'den az bulunmaktadır. Ayrıca bu bakteri hücreleri çoğu zaman dondurma, ısıtma gibi işlemler ile strese uğramış diğer bir deyişle zayıflamış ve yaralanmış durumdadır. Diğer taraftan yumurta albümini, kakao ve bazı baharatlar gibi belirli gıdalar *Salmonella* izolasyonunu güçleştirmektedir (ANDREWS, 1985; GÖKTAN ve TUNCEL, 1987).

Ayrıca Andrews, *Salmonella* izolasyonunda kullanılan kültürel metotların uzun zamana ihtiyaç gösterdiğini, bir örnekte *Salmonella* olmadığına ilişkin raporun analize başlandıktan en az 4 gün sonra verilebileceğini, salmonella şüpheli örneklerde ise kesin tanı için 3 günden sonra birkaç güne kadar ihtiyaç duyulduğunu, bu durumun gıdaların depolama süresinin uzatılmasına neden olduğunu, özellikle de ihracatta meydana gelen gecikmelerin büyük sorunlar yarattığını belirtmiştir (GÖKTAN ve TUNCEL, 1987).

Gıdalarda veya diğer örneklerde bulunan salmonellanın tespiti için, aşağıdaki aşamaların hepsini veya önemli bir bölümünü içeren bir plan gereklidir (FRICKER, 1987).

- Seçici olmayan uygun sıvı besiyerinde önzenginleştirme,
- Selektif sıvı ortamında zenginleştirme,
- Selektif veya diferansiyel katı besiyerine ekim yapılarak saf bakteri kolonilerinin izolasyonu,
- Morfolojik, biyokimyasal, fizyolojik ve serolojik testler kullanılarak organizmaların identifikasyonlarının yapılması.

Doğal olarak bu aşamaların uygulanmasına geçmeden önce numunenin uygun bir şekilde hazırlanması gereklidir.

Tüm mikrobiyolojik kontrollerde olduğu gibi *Salmonella* aranmasında da gıda maddesinin cinsi numune hazırlamada önemli bir etkidir. Granüler gıdalar için karıştırma, toz gıdalar için ezme, et ve sebzeler için blenderde parçalama veya stomacher'de parçalama önerilmektedir (ANDREWS, 1985).

Klasik yöntemle kontrolün diğer aşamalarında uluslararası kontrol kuruluşları tarafından kabul görmüş yöntemler yoktur. Bu farklılıklar önzenginleştirme ortamının bileşiminden selektif zenginleştirmede inkübasyon sıcaklığına, selektif katı besiyerinin bileşimine kadar görülmektedir (DOĞAN, 1993).

Hızlı *Salmonella* Kontrolü

Salmonella'nın hızlı bir şekilde tespitine yönelik olarak hareketliliğe dayanan test kiti geliştirilmiştir (BRIDSON, 1990). Test alt bölümlerinde, farklı dehidre zenginleştirme ortamlarını ve üst kısımda dehidre selektif ortamları bulunan iki tüp içeren kültür kabından oluşmaktadır. Ortam steril destile su ile rehidre edilir ve *salmonella* elektif ortam kültür kaplarına ilave edilir. Ayrıca kültür kaplarına novobiocin ilavesi söz konusudur. Kültür kabı aşılandıktan sonra (1 ml önzenginleştirme kültürü ile) 41°C'de 24 saat inkübe edilir ve her tüpün üst kısmındaki ortam *Salmonella*'nın varlığında renk değişimi açısından incelenir. Pozitif tüpler lateks aglütinasyon testi kullanılarak *Salmonella* için daha ileri olarak test edilebilir (HOLBROOK ve ark, 1989).

Salmonella'lar aktif bir şekilde tüplerin alt kısmındaki selektif ortamdan üst kısımlardaki indikatör ortama doğru hareket eder. Indikatör ortamda meydana gelen renk değişimi pozitif reaksiyona işaret eder. Metodun performansı, geniş ölçüde kontamine olmuş gıdalara karşı 5 ülkede 9 gıda mikrobiyolojisi laboratuvarında bağımsız olarak test edilmiştir. Bütün muhtemel *Salmonella*'lar standart testler kullanılarak tanımlanmıştır (HOLBROOK ve ark, 1989).

Modifiye Yarıkatı RV (MSRV) Besiyeri Kullanımı

Bu yöntem ilk kez De Smetz ve ark. (1986) tarafından ortaya konulmuş ve ucuzluğu ile kolay kullanımı nedeniyle kısa zamanda popüler olmuştur. Metodun prensibi modifiye edilmiş yarıkatı RV ortamında *Salmonella*'nın hareketidir. Tüm serolojik doğrulama da dahil olmak üzere analiz 48 saat sürer. Bu sürenin ilk 20 saati önzenginleştirme, 8 saati Tetrasyonate Brilliant Green Broth'da selektif zenginleştirme ve son 16 saati MSRV'de hareketin izlenmesidir. Hareketsiz suşların varlığı açısından bu yöntem çok yaygın kullanım bulamamıştır (KÖSE, 1993).

Kondüktans Yöntemiyle *Salmonella*'nın Hızlı Analizi

Bakteriyel gelişmenin kondüktans ölçümü ile belirlenmesindeki prensip ilk kez 1978 yılında Richards tarafından açıklanmıştır. Bu yöntemin *Salmonella* kontrolünde kullanılabilmesi için başta selektif besiyeri olmak üzere pek çok çalışma yapılmış, analizi basitleştirecek cihazlar geliştirilmiştir. Bu yöntem ile önzenginleştirme sonrasında 6-8 saat sonra *Salmonella* varlığı gösterilebilmektedir. Kondüktans yönteminde çeşitli fajlar da kullanılmaktadır. Kondüktans yöntemi çabukluk ve doğruluk açısından genel olarak kabul görmüş olmakla beraber yüksek analiz maliyeti rutin kullanımı kısıtlamaktadır (OWENS ve ark, 1989; KÖSE, 1993).

Gelişmiş *Salmonella* Kontrol Yöntemleri

Salmonella izolasyon ve identifikasyonunu çabuklaştırmak için genetik ve enzimatik esaslı kontrol yöntemleri üzerinde yoğun çalışmalar yapılmış ve kayda değer sonuçlar alınmıştır. Ancak bu gün için güvenilirlik - maliyet sorunları bulunmaktadır. Bu yöntemlerden güvenilirliğini tam olarak kanıtlamış olanlar rutin gıda kontrolünde kullanılmıyacak kadar pahalıdır. Daha ucuz olanlarda ise sahte (+) ve sahte (-) sonuçlara rastlanmaktadır.

MATERYAL, METOT

Materyal

Bu çalışmada kullanılan 1.geri alma denemesi gıda materyalinden krema A.O.Ç.Süt Fabrikasından sağlanmış, mayonezli rus salatası ve garnitür salata hem piyasadan sağlanmış hem tarafımızca yapılmıştır. Piyasa kontrol materyali gıda maddeleri olan tavuklu hazır sandviç, arnavut ciğeri, kıyma, kokoreç, gobit (domates- yumurta-maydonozlu bazlama ekmeği), dondurma, kremalı yaş pasta, çiğ krema, garnitür salata, mayonezli rus salatası Ankara piyasasından alınmıştır.

1. Geri alma denemesinde kullanılan şahit *Salmonella* suşu Etlik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü Bakterioloji Laboratuvarından sağlanmış, 2.geri alma denemesinde kullanılan suşlar ise piyasa taraması sırasında tarafımızca izole edilen ve adı geçen enstitü tarafından doğruluğu onaylanan izolatlardır.
2. geri alma denemesinde kullanılan garnitür salata tarafımızca hazırlanmıştır.

Metot

Bu çalışma 3 aşamada gerçekleştirilmiştir. 1.aşama geri alma denemesidir.

Krema, garnitür salata ve mayonezli rus salatası örneklerine belirli sayılarda şahit *Salmonella* suşu ilave edilmiş, ödenemelerde belirlenen sürelerde (DOĞAN, 1993) +4°C buzdolabında bekletilmiş ve *Salmonella*'nın geri alınıp alınmadığı kontrol edilmiştir.

Buzdolabında belirli bir süre bekletmenin amacı salmonellanın zayıflamasıdır. Bir diğer deyiş ile geri alma denemesinde aktif değil, zayıflamış bakteri kriteri olarak ele alınmış, böylece yöntemlerin kolaylanmasında daha gerçekçi sonuçlar elde edilmiştir.

1.geri alma denemesinde kullanılan gıda materyalinde öncelikle tarafımızca katılan salmonellanın dışında doğal *Salmonella* kontaminasyonu olup olmadığı kontrol edilmiştir. Bu amaçla gıda maddesinden 25 gram ayrılıp BAM/AOAC (ANONYMOUS, 1984) tarafında gösterilen yöntemle *Salmonella* kontrolü yapılmıştır. Geri alma denemesinde kullanılan gıda materyalinde doğal *Salmonella* kontaminasyonuna rastlanmamıştır.

25 gram gıda maddesi üzerinde 225 mL Laktoz Broth (Merck) ilave edilmiş, 37°C'da 24 saat inkübasyondan sonra 10'ar mL Tetrasyonat (Merck) ve Selenit Sistin (Merck) besiyerlerine 1'er mL inoküle edilmiş ve yine aynı süre ve sıcaklıkta inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyonun bitiminde her iki selektif zenginleştirme besiyerinden Bizmut Sülfat Agar (Merck), Hektoen Enterik Agar (Merck) ve Ksiloz Lisin Deoksiçolat Agar (Merck) besiyerlerine sürme yapılmış ve petriyerler 37°C'da 48 saat süre ile inkübe edilmişlerdir. Geri alma denemelerinde aynı katı besiyerlerine şahit *Salmonella* bakterisi de sürülmüş, böylece koloni morfolojisinin incelenmesi ile geri alma kontrolü yapılmıştır. Tüm şüpheli koloniler Üre Broth (Merck), Triple Sugar Iron Agar (Merck) ve Lisin Iron Agar (Merck) besiyerlerinde teste alınmıştır.

Gıda maddelerine ilave edilen *Salmonella* sayısı ön denemeler ile belirlenmiştir. Bu amaçla Nutrient Broth (Merck) besiyerinde 37°C'da 24 saatlik 3 ardışık aktiveleştirmeden sonra Bizmut Sülfat Agar besiyerinde sayım yapılmıştır. Çeşitli kereler yapılan sayım sonuçlarına göre aktif kültürde ortalama 10⁸ adet/mL canlı hücre olduğu saptanmıştır. Gıda maddelerine ilave edilen *Salmonella* miktarı bu değer üzerinden hesaplanmış,

ancak ilave sırasında gerçek sayı ayrıca belirlenmiştir. Bu aşamada krema için 10¹ ve 10² adet/gram; mayonezli rus salatası ve garnitür salata için 10¹ adet/gram *Salmonella* olacak şekilde inokülasyon yapılmıştır.

Açım zamanı gelen materyal, gerekli ise (mayonezli rus salatası ve garnitür salatada) Waring marka blenderde düşük hızda 2 dakika homojenize edildikten sonra yukarıda gösterilen BAM/AOAC (ANONYMOUS, 1984) yöntemiyle klasik anlamda *Salmonella* kontrolüne alınmıştır.

Oxoid hızlı *Salmonella* test kitinin denemesi amacıyla yine 25 gram gıda maddesi alınmış, üzerine 225 mL Tamponlanmış Peptonlu Su (Merck) ilave edilip gerekli ise homojenize edilmiş ve 37°C'da 24 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrasında hazır kitin kullanma kılavuzunda (ANONYMOUS,-) gösterildiği şekilde hazırlanmış olan kite ön zenginleştirme kültüründen 1 ml ilave edilmiş ve hazır kitler 41°C'da 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda yine klavuzda (ANONYMOUS,-) gösterildiği şekilde kit içindeki 2 tüpteki renk değişimi esaslı üzerinde salmonella değerlendirmesi yapılmıştır.

Çalışmaların 2. aşaması piyasa kontrolüdür. Bu amaçla yukarıda belirtilen 10 gıdadan 4'er adet örnek piyasadan sağlanmış, laboratuvara getirilen örneklerde hem klasik yöntemle hem de Oxoid hızlı test kiti ile *Salmonella* kontrolü yapılmıştır.

Bu aşamada klasik *Salmonella* kontrol yönteminde önzenginleştirme ortamı olarak Tamponlanmış Peptonlu Su (Merck) kullanılmış, dolayısıyla ön zenginleştirme kültüründen hem selektif zenginleştirme ortamına hem de Oxoid hızlı test kitine ekim yapılmıştır. Klasik yöntemle *Salmonella* kontrolündeki bu değişikliğin nedeni önzenginleştirme ortamı olarak Tamponlanmış Peptonlu Su'nun Laktoz Broth'a oranla daha iyi sonuç vermesidir (DOĞAN, 1993).

3. aşama yine geri alma denemesi şeklinde kurulmuştur. Piyasa taraması aşamasında izole edilen 3 farklı *Salmonella* suşu tarafımızca hazırlanan garnitür salataya 5 farklı konsantrasyonda ilave edilmiş ve bir önceki aşamada olduğu gibi klasik yöntemle ve Oxoid hızlı test kiti ile geri alma durumu araştırılmıştır.

ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

1. geri alma denemesinde elde edilen sonuçlar Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Geri Alma Denemesi Sonuçları

Gıda	Sayı (Adet/gr)	Süre (gün) Sonucu	Klasik Yöntem Sonucu	Oxoid Yöntemi
Krema 1	740	47	VAR	VAR
Krema 1	7400	47	VAR	VAR
Krema 2	740	47	VAR	VAR
Krema 2	7400	47	VAR	VAR
Mayonezli rus salatası (Piyasa)	540	20	VAR	VAR
Mayonezli rus salatası (yapılan)	540	20	VAR	VAR
Garnitür salata (piyasa)	540	6	VAR	YOK
Garnitür salata (yapılan)	540	6	VAR	VAR

Çizelge 1'den görüldüğü gibi 3 farklı gıda için yapılan 8 denemenin 7'sinde klasik *Salmonella* kontrol yöntemi ile Oxoid hızlı kontrol yöntemi aynı sonucu vermiş, sadece piyasadan alınan garnitür salatada klasik yöntem ile

Salmonella (+) bulunurken Oxoid hızlı kiti (-) sonuç vermiştir. Bir diğer deyiş ile 8 örneğin 1 adedinde Oxoid hızlı test yöntemi sahte (-) sonuç vermiştir.

Oxoid hızlı test kiti ile sahte (-) sonuç alınan örnekte klasik yöntemle açık bir (+) sonuç alınmamıştır. Nitekim selektif katı besiyerlerinden Bismut Sülfid Agar'da her iki önzenginleştirme ortamından yapılan ekimlerde (-) sonuç alınırken Ksiloz Lisin Deoksiçolat ve Hektoen Enterik Agar'da sadece Tetraiyonat Broth'dan yapılan ekimlerde oldukça zayıf bir gelişme olmuş, Selenit Sistin Broth kültürlerinden yapılan ekimlerde ise (-) sonuç alınmıştır. Bir diğer deyiş ile 2 farklı selektif zenginleştirme ortamından 3'er selektif katı besiyeri olmak üzere toplam 6 ekimden sadece 2 adedinde yeterli deneyime sahip olmayan mikrobiyoloji personeli tarafından rahatlıkla gözden kaçırılabilir düzeyde zayıf bir gelişme ile (+) sonuç alınmıştır. Bu bakış açısı altında Oxoid hızlı test kitinin BAM/AOAC klasik *Salmonella* kontrol yönteminden daha yetersiz sonuçlar verdiği söylenemez.

Bununla birlikte, bu çalışma oldukça geniş kapsamlı bir projenin* bir kısım bulgularını göstermektedir. Projenin, burada değinilmeyen tüm bulgularına göre BAM/AOAC yöntemi dışındaki diğer klasik kontrol yöntemlerinden bazıları aynı örnekte tartışmasız bir (+) sonuç vermiştir. Kuşkusuz bu yaklaşım altında BAM/AOAC klasik salmonella kontrol yöntemi de zayıf kalmaktadır.

* Gıda Maddelerinde *Salmonella* ile *E.coli* Aranma ve Sayılma Yöntemlerinin Karşılaştırılması. A. Kadir HALKMAN, Hilal B.DOĞAN, Malihe R.NOVEIR; Ank. Üniv.Araştırma Fonu Proje no 92-11-12-01. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın no: 21

Çalışmanın 2. aşamasında Ankara piyasasından sağlanan 40 adet gıda maddesinin 3 adedinde (garnitür salata, gobit, çiğ kıyma) *Salmonella* bulunmuştur. Bu aşamada gerek Oxoid hızlı test kiti ile ve gerek klasik kontrol yöntemi ile aynı sonuçlar alınmıştır.

3. ve son aşama (2.geri alma denemesi) sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. Çizelgeden de görüldüğü gibi 16 testin sonucu klasik yöntemde ve Oxoid hızlı test kitinde aynıdır.

3 suşun 5'er konsantrasyonu olmak üzere 15 geri alma denemesi her iki yöntemde de (+) olarak bulunurken doğal *Salmonella* kontaminasyonu her iki yöntemde de (-) olarak bulunmuştur.

64 Örnekte BAM/AOAC ve Oxoid hızlı test kiti ile *Salmonella* kontrol edilen bu çalışmanın toplu sonuçları Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 3'den görüldüğü gibi toplam 64 örnek de Oxoid hızlı test kitinde 1 adet (% 1,56) sahte (-) sonuç alınmış, sahte (+) sonuca rastlanmamıştır. BAM/AOAC'de sahte (+) ve sahte (-) sonuç alınmamıştır.

5 ülkede 9 gıda mikrobiyolojisi laboratuvarında toplam 820 gıdada klasik yöntemlerle ve Oxoid hızlı test kiti ile *Salmonella* kontrolü yapılan bir çalışmada (HOLBROOK ve ark., 1989) Oxoid yönteminde %3,2 sahte (+); %4,4 sahte (-); klasik yöntemde %9,8 sahte (-) alındığı dikkate alınırsa bu çalışmada elde edilen bulguların yeterince tatmin edici olduğu ortaya çıkar. Her ne kadar sadece araştırma bulguları dikkate alınırsa Oxoid hızlı test kiti'nin klasik yöntemle göre bir üstünlüğü olmasa dahi en azından klasik yöntemle eşdeğer olduğu söylenebilir.

Çizelge 3. Toplu Sonuçları

Aşama	Örnek sayısı	AOAC(+) sayısı	Oxoid(+) sayısı	AOAC(-) sayısı	Oxoid(-) sayısı
1. Geri Alma	8	8	7	0	1
Piyasa Taraması	40	3	3	37	37
2. Geri Alma	16	15	15	1	1
TOPLAM	64	26	25	38	39

laboratuvarlarda sadece besiyeri hazırlamaktan gelen ve sahte (-) sonuç almaya yol açan pek çok hata kaynağı olduğu da gözden uzak tutulmamalıdır.

SONUÇ

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- Sadece araştırma bulguları dikkate alınırsa *Salmonella* kontrolü açısından Oxoid hızlı test kitinin klasik yöntemden daha üstün olduğu söylenemez, ancak ihmal edilebilir bir sahte (-) sonuç ile Oxoid hızlı test kitinin BAM/AOAC yöntemine eşdeğer olduğu açıktır.

Çizelge 2. Garnitür Salatada *Salmonella*'nın Geri Alınması

Suş no	Sayı (adet/gram)	Klasik yöntem sonucu	Oxoid yöntemi sonucu
<i>Salmonella</i> 157	6000	VAR	VAR
	1200	VAR	VAR
	600	VAR	VAR
	120	VAR	VAR
	12	VAR	VAR
<i>Salmonella</i> 40	5000	VAR	VAR
	1000	VAR	VAR
	500	VAR	VAR
	100	VAR	VAR
	10	VAR	VAR
<i>Salmonella</i> 19	7000	VAR	VAR
	1400	VAR	VAR
	700	VAR	VAR
	140	VAR	VAR
	14	VAR	VAR
Doğal kontaminasyon	-	YOK	YOK

Bu çalışmada klasik yöntemle *Salmonella* kontrolü aleyhine bir sonuç çıkmamasının olası bir nedeni araştırmanın yapıldığı laboratuvarın klasik mikrobiyolojik analizlerde yapılabilecek hatalardan olabildiğince arınmış olmasıdır. Oysa deneyimsiz

- Laboratuvar çalışma koşullarından gelebilecek hata yapma olasılığı Oxoid hazır kitinde klasik yöntemle göre çok daha azdır.
- Oxoid hızlı test kitinin kullanımı klasik yöntemle göre tartışmasız düzeyde kolay ve çabuktur. Kit 5 dakika gibi kısa bir süre içinde kullanıma hazır hale gelmektedir. Laboratuvar personelinin çalışma güvenliği açısından da klasik yöntemle göre yine tartışmasız üstünlükleri vardır.
- Oxoid hızlı test kiti hareketsiz *Salmonella* suşları için sahte (-) sonuç vermektedir. Ancak literatür özeti kısmında da belirtildiği gibi *Salmonella* genel olarak hareketli bir bakteridir.
- *Salmonella* izolasyonu klasik yöntemde 3 gün, Oxoid hızlı test kitinde 2 gündür. Aradaki 1 günlük fark pek çok analiz koşulu için ihmal edilemeyecek bir üstünlük sağlar.
- Analiz maliyeti klasik yöntemle lehine önemli görülse bile hızlı kitin kolaylık, analiz süresi kısahğı gibi üstünlükleri analiz maliyetindeki dezavantajı kapatmaktadır.

KAYNAKLAR

- ALKIŞ,N.1982. Gıda Mikrobiyolojisi. Yeni İnci Matbaacılık Sanayii, Ankara, 174 s.
- ANDREWS, W.H. 1985. A Review of Culture Methods and their Relation to Rapid Methods for the Detection of *Salmonella* in Foods. Food Tech 1985 (March) 77-82.
- ANONYMOUS-. User Guide. Salmonella Rapid Test, Oxoid. Unipath Ltd, Hampshire, UK.
- ANONYMOUS 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Edition. Eds R.E.Buchanon, N.E. Gibbons. The William Wilkins Comp, Baltimore, 1246s.
- ANONYMOUS 1976. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Ed M.L. Speck. The American Public Health Assoc (APHA), Washington DC.
- ANONYMOUS 1984. Bacteriological Analytical Manual. 6th Edition. US Food and Drug Administration. Published and Distributed by Association of Official Analytical Chemist (AOAC), Virginia. 31 Bölüm + 3 Ek.
- ANONYMOUS 1986. International IDF Standart 93 A: 1985. Milk and Milk Products; Detection of *Salmonella*. International Dairy Federation, Brussels, 10 s.
- ARDA,M.1978. Genel Bakterioloji. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları no: 342. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 521 s.
- BANWART,G.J.1983. Basic Food Microbiology. Avi Publishing Comp. Westport, Connecticut, 781 s.
- BEKAR,M. 1991. *Salmonella*. Genel Karakterleri ve Tam Yöntemleri. *Salmonella* Semineri Notları. Etlik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü Ankara. 26 s + ekler, teksir.
- BRIDSON,E.Y.1990. The Oxoid Manual 6th Ed. Unipath Ltd. Basingstoke.
- DOĞAN,H.B. 1993. Gıda Maddelerinde *Salmonella* Aranması Üzerine Karşılaştırmalı Bir Araştırma. Ank. Üniv.Fen Bilimleri Enst. Yüksek Lisans Tezi, basılmamış, Ankara.
- EDWARDS, P.R.,W.H.EWING 1972. Identification of *Enterobacteriaceae*. 3rd Ed. Burgess Publ. Co. Minneapolis.
- FRICKER,R.1987. Isolation of *Salmonellae* and *Campylobacter's*. J.App Bact 63(3) 99-116.
- GÖKTAN,D.1990. Gıdaların Mikrobiyel Ekolojisi, cilt 1 Et Mikrobiyolojisi. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları no 21. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 292 s.
- GÖKTAN,D.,G.TUNCEL 1987. Gıdalarda *Salmonella* İzolasyonunda Son Çalışmalar. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Seri B Gıda Mühendisliği 5(1) 115-123.
- HOLBROOK,R.,J.M.ANDERSON,A.C.BARID-PARKER,L.M.DOOS1989. Rapid Detection of *Salmonella* in Foods-A Convenient Two Day Procedure. Letters in Appl Micr 8: 139-142.
- HUGHES,D.,P.S.SUTHERLAND,G.KELLEY,G.R.DAWEY 1987. Comparison of the TECRATM *Salmonella* Visual Immunology and Standard Cultural Methods for the Detection of *Salmonellae* in Foods. Food Tech in Australia 39(9) 446-454.
- KÖSE,S. 1993. Investigation into Toxins and Pathogens Implaceted in Fish Meal Production. Doktora Tezi. Loughborough University of Technology, Loughborough U.K., 215 s.
- OWENS,J.D.,D.S.THOMAS,P.S.THOMPSON,W.TIMMERMAN 1989. Indirect Conductimetry: A Novel Approach to the Conductimetric Enumeration of Microbial Populations. Letters in Appl Micr 9: 245-249.
- REFAI,M.K.1979. Manuals of Food Quality Control, 4. Microbiological Analyses. Food and Agriculture Organisation of the United States, FAO,Roma.
- TUNAIL,N.(.). Gıda Mikrobiyoloji II Ders Notları. A.Ü.Ziraat Fakültesi Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü, Ankara. Basılmamış.
- VAR,I. 1993. Yumurtalarda *Salmonella* Enfeksiyonu ve Isıl İşlemin *Salmonella* Üzerine Etkisi. Çukurova Üniv. Fen Bilimleri Enst. Doktora Tezi, basılmamış.