



T.C.  
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**İSTANBUL İLİNDEKİ PAZAR VE MARKETLERDE  
AÇIKTA SATILAN BEYAZ PEYNİRLERİN HİJYENİK  
YÖNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ**

ELİF BİLGE ÇAĞLAYAN

BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Sine Özmen Togay

İSTANBUL - 2016

## TEZ ONAY FORMU

Kurum : İstanbul Medipol Üniversitesi  
Programın Seviyesi : Yüksek Lisans (X) Doktora ( )  
Anabilim Dalı : Beslenme ve Diyetetik  
Tez Sahibi : Elif Bilge ÇAĞLAYAN  
Tez Başlığı : İstanbul İlindeki Pazar ve Marketlerde Açıkta Satılan Beyaz  
Peynirlerin Hijyenik Yönünden Değerlendirilmesi  
Sınav Yeri : İstanbul Medipol Üniversitesi Kavacık Yerleşkesi  
Sınav Tarihi : 09.01.2017

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve nitelik yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

### Danışman

Yrd.Doç.Dr. Sine Özmen TOĞAY

### Kurumu

Uludağ Üniversitesi

### İmza



### Sınav Jüri Üyeleri

Prof.Dr.Muazzez GARİPAĞAOĞLU

İstanbul Medipol Üniversitesi

Yrd.Doç.Dr. Rabia İclal ÖZTÜRK

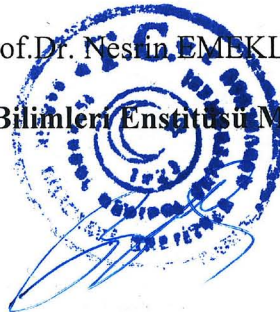
İstanbul Medipol Üniversitesi



Yukarıdaki jüri kararıyla kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nun ~~12~~./~~01~~./~~2017~~ tarih ve ~~2017~~./...~~02~~... - ~~03~~... sayılı kararı ile şekil yönünden Tez Yazım Kılavuzuna uygun olduğu onaylanmıştır.

Prof.Dr. Nesrin EMEKLİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



## BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “ İstanbul ilindeki pazar ve marketlerde açıkta satılan beyaz peynirlerin hijyenik yönden değerdendirilmesi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Yrd. Doç. Dr. Sine Özmen Togay‘ın sorumluluğunda tamamladığımı, örnekleri kendim topladığımı, analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı beyan ederim.

ELİF BİLGE ÇAĞLAYAN



## TEŞEKKÜR

Tezimin fikir aŐamasından sonuçlanmasına kadar geÇen sŸreŐte, her an bilimsel yŸnlendirmeleriyle bŸyŸk yardımlarını gŸrdŸğŸm, karŐılaŐtığım problemleri  ozmemde tavsiyeler sunan danışmanım Yrd. DoÇ. Dr. Sine Ŗzmen Togay olmak Ÿzere, çalıŐmalarımın yŸrŸtŸlmesinde yardımlarını esirgemeyen Fatma KoŐ'a ve Elif Ede'ye teŐekkŸrlerimi sunarım. Ayrıca eğitim hayatım boyunca her zaman yanımda olan ailemle, bu çalıŐmam sırasında Ÿzveriyle her an yanımda olan Derya  ağlayan ve Mustafa Akbaba'ya teŐekkŸrŸ bir borç bilirim.



## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa No

<b>TEZ ONAYI</b> .....	<b>i</b>
<b>BEYAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b> .....	<b>iv</b>
<b>TABLolar VE RESİMLER LİSTESİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>1. ÖZET</b> .....	<b>1</b>
<b>2. ABSTARCT</b> .....	<b>2</b>
<b>3. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>3</b>
<b>4. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>5</b>
4.1. Peynir ve Peynir Çeşitleri .....	5
4.1.1. Beyaz Peynir .....	6
4.1.2. Süt ve Süt ürünlerinin Mikrobiyolojik Durumu .....	7
4.1.3. Beyaz Peynirler ile ilgili Mikrobiyolojik Kriterler .....	9
4.2. Peynirlerde Aranan Patojen Mikroorganizmalar .....	10
4.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
4.2.2. <i>Salmonella</i> spp.....	12
4.2.3. <i>Listeria monocytogenes</i> .....	14
<b>5. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>17</b>
5.1. Gereç .....	17
5.1.1. Örneklerin toplanması ve analize hazır hale getirilmesi.....	17
5.1.2. Kullanılan malzeme ve ekipmanlar .....	17
5.1.2.2. Baird Parker Agar .....	17
5.1.2.2. Tryptic Soy Agar.....	18
5.1.2.3. Tryptic Soy Broth.....	19
5.1.2.4. Mannitol Salt Phenol-Red Agar .....	19
5.1.2.5. DNase Test Agar .....	19
5.1.2.6. Orsab (Oxacilin Resistance Screening Agar) Oxoid Agar.....	20
5.1.2.7. Hidrojen Peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) .....	21

5.1.2.8. Bactident® Coagulase.....	21
5.1.2.9. Serum Fizyolojik(SF).....	21
5.1.2.10. Fraser Listeria Selective Enrichment Broth Base .....	21
5.1.2.11. Oxford Listeria Selective Agar .....	22
5.1.2.12.Selenite Cystine Broth .....	22
5.1.2.13. <i>Salmonella</i> Enrichment ( Rappaport Vassiliadis Soy) Broth.....	22
5.1.2.14 Brilliant-green Phenol-red Lactose Sucrose Agar (BPLS Agar) .....	23
5.1.2.15. Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD Agar) .....	23
5.1.3. Kullanılan alet ve ekipmanlar .....	24
5.2. Yöntem .....	24
5.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i> Sayısının Belirlenmesi .....	24
5.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i> izolatlarına uygulanan biyokimyasal testler.....	25
5.2.2.1. Gram Boyama .....	25
5.2.2.2. Katalaz Testi.....	25
5.2.2.3. Koagülaz Testi .....	26
5.2.2.4. DNaz testi.....	28
5.2.2.5. Mannitol Salt Agar (MSA) Testi .....	28
5.2.2.6. Metisilin Direnci Testi .....	29
5.2.3.Örneklerde <i>Salmonella</i> spp. aranması .....	30
5.2.4. Örneklerde <i>Listeria monocytogenes</i> aranması.....	31
<b>6. BULGULAR .....</b>	<b>33</b>
6.1.Peynir örneklerinde <i>Staphylococcus aureus</i> sayısı.....	33
6.2.Örneklerde <i>Salmonella</i> spp. varlığı .....	38
6.3.Örneklerde <i>Listeria monocytogenes</i> varlığı .....	38
<b>7. TARTIŞMA .....</b>	<b>39</b>
<b>8. SONUÇ.....</b>	<b>45</b>
<b>9. KAYNAKLAR .....</b>	<b>46</b>
<b>10. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>52</b>

## TABLolar VE RESİMLER LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 4.1.3. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği .....	10
Tablo 4.2.1. <i>S.aureus</i> Gelişmesi ve Enterotoksin Üretimini Etkileyen Faktörler.....	12
Tablo 4.2.3. <i>L. monocytogenes</i> Üreme ve Canlı Kalmaları İçin Gerekli Koşullar ....	15
Tablo 6. Peynirlerin İllere ve Niteliklerine Göre İncelenmesi (Adet/Yüzde (n/%))..	33
Tablo 6.1. Beyaz Peynirlerde <i>S. aureus</i> Dağılımı.....	33
Tablo 6.2. Beyaz Peynir Örneklerinde <i>S. aureus</i> Sayım Sonuçları .....	34
Tablo 6.3. İzolatların Bazı Biyokimyasal Test Sonuçları .....	35
Tablo 6.4. İzolatların Bazı Biyokimyasal Test Sonuçları .....	36
Resim 5.2.1. Baird Parker Agar'da Üreyen <i>Staphylococcus aureus</i> Kolonileri.....	25
Resim 5.2.2.2. Katalaz Pozitif <i>Staphylococcus aureus</i> .....	26
Resim 5.2.2.3. Tüpte Koagülaz Pozitif <i>Staphylococcus aureus</i> .....	28
Resim 5.2.2.4. DNaz Pozitif <i>Staphylococcus aureus</i> Kolonileri .....	28
Resim 5.2.2.5. MSA'da Pozitif ve Negatif <i>Staphylococcus aureus</i> Kolonileri.....	29
Resim 5.2.2.6. Metisilin Direnç Testi Pozitif ve Negatif <i>Staphylococcus aureus</i> Kolonileri .....	30
Resim 5.2.4.1. Fraser <i>Listeria</i> Selektif Broth'da Üreme .....	32
Resim 5.2.4.2. Oxford <i>Listeria</i> Selektif Besiyerinde Şüpheli <i>Listeria</i> Kolonileri.....	32

## KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ

**AB:** Avrupa Birliği

**ABD:** Amerika Birleşik Devletleri

**BPA:** Baird Parker Agar

**DNase:** Deoksiribonuklease

**DSÖ:** Dünya Sağlık Örgütü

**EDTA:** Ethylenediaminotetraacetic Acid

**g:** Gram

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :** Hidrojen Peroksit

**HCl:** Hidroklorik asit

**ISO:** International Organization for Standardization

**Kob:** Koloni Oluşturan Birim

**MRSA:** Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus*

**NB:** Nutrient Broth

**SE:** Stafilokok Kaynaklı Enterotoksinler

**SF:** Serum Fizyolojik

**TAMB:** Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri

**TSA:** Triptik Soy Agar

**TSB:** Triptik Soy Broth

**TSST-1:** Toksik Şok Sendromu Toksini-1

**µg:** Mikrogram

**vb:** Ve Benzeri

**GMP:** İyi Üretim Teknikleri

**HACCP** Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları



## 1. ÖZET

### İSTANBUL İLİNDEKİ PAZAR VE MARKETLERDE AÇIKTA SATILAN BEYAZ PEYNİRLERİN HİJYENİK YÖNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışmada, İstanbul'da market ve pazarlarda satılan beyaz peynirlerde gıda kaynaklı patojenlerden *L. monocytogenes* ve *Salmonella* spp. varlığı, ayrıca gıda kaynaklı intoksikasyon etmeni bir patojen olan koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus* yönüyle değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 2015 yılı Ağustos-Eylül ayları arasında İstanbul ilinde çeşitli market ve pazarlarda açıkta satılan 50 adet beyaz peynir örneği toplanarak hijyenik durumları açısından incelenmiştir.. Ayrıca *S. aureus* izolatlarındaki DNaz enzim aktivitesi ve metisiline direnç özellikleri de değerlendirilmiştir. Peynir örneklerinin Baird Parker Agar'a yapılan ekimleri sonucu toplam 45 adet örnekte (% 90) şüpheli *Staphylococcus aureus* kolonileri yönüyle üreme olduğu belirlenmiştir. Örneklerde toplam 45 adet *Staphylococcus aureus* şüpheli izolatının 24'ünün (% 53.3) koagülaz testinde pozitif reaksiyon verdiği belirlenmiştir. İzolatların 19 adedinin katalaz pozitif, 39 adedinin mannitol pozitif, 20 adedinin metisilin dirençli oldukları tespit edilmiştir. Çalışmada incelenen 50 adet beyaz peynir örneğinin 11'inde (% 22) şüpheli *L. monocytogenes* kontaminasyonu saptanmıştır. Hiçbir beyaz peynir örneğinde *Salmonella* spp. izole edilmemiştir. Bu çalışmanın sonucu olarak beyaz peynir örneklerinin üretiminde ve pazarlanmasında hijyene özen gösterilmemesinden dolayı genel olarak hijyenik standartlara uyulmadığı saptanmıştır. Peynir örneklerinde gıda zehirlenmelerine yol açabilen ve bunun neticesinde önemli bir halk sağlığı sorunu olan *S. aureus* ile listeriozis hastalığına neden olabilecek etken *L. monocytogenes*'in bulunması her aşamada gıda hijyeni kurallarına uyulması gerektiğini ve kontamine olmuş peynirin halk sağlığı için ciddi risk taşıdığını ortaya koymuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Peynir, Hijyen, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *S. aureus*

## 2. ABSTARCT

### THE EVALUATION SANITARY DIRECTION OF WHITE CHEESE LOCATED IN İSTANBUL VARIOUS MARKET PALACE

In this study, a total of 50 cheese samples, collected from various dairy product sale points in İstanbul province, were investigated in order to determine their microbiological features between August and September 2015. In this study, we aimed to compare White cheese sold in Istanbul market and market palace on the comparison of coagulase positive *S. aureus* which is the food intoxication agent. In addition, DNase enzyme activity and methicillin-resistance properties of the isolates were also evaluated. White cheese sold in Istanbul market and market palace on the comparison of *L. Monocytogenes* and *Salmonella* spp. also were investigated. In the study total 50 of White cheese samples were examined by inoculated onto the Baird Parker Agar and *Staphylococcus aureus* suspicious colonies were determined from 45 (90%) of cheese samples. *Staphylococcus aureus* suspected isolates from the cheese samples and 24 of them (53.3%) were positive in the coagulase test. Eleven White cheese sample (%22) was also found to be contaminated with *L. monocytogenes*. No *Salmonella* spp. were founded in any of the cheese samples investigated. As a result, it was concluded that microbiological quality of the cheese samples were generally poor due to inadequate hygienic conditions provided during production and marketing. Presence of *S. aureus* causing food poisoning, *L. monocytogenes* causing listeriosis in cheese samples examined showed the importance of food safety protocols of from farm to fork approach and the public health risk caused by cheese.

**Key Words:** Cheese, Hygiene, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *S. aureus*

### 3. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde gıda kaynaklı hastalıklar dünyada en yaygın problemlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu hastalıklara zehirli bitkiler, ağır metaller, herbisit veya pestisit gibi mikrobiyal kaynaklı olmayan etkenlerin neden olmasının yanında mikrobiyal kökenli virus, bakteri, fungus veya protozoonlar da neden olabilmektedir. Bu hastalıklara neden olan en tehlikeli mikroorganizmanın ise patojen mikroorganizmalar olduğu bilinmektedir Mansfield (1).

Gıda zehirlenmeleri tüm toplumlarda önemli bir halk sağlığı sorunu olarak ortaya çıkmaktadır. Ülkelerde hijyen yetersizlikleri, üretici ve tüketicinin bilinçsiz olması gibi nedenler gıda kaynaklı zehirlenmelerin başlıca nedenini oluşturmaktadır Akkaya (2).

Yeterli ve dengeli beslenmede hayvansal kaynaklı gıda maddeleri büyük önem taşır. Bununla beraber hayvansal gıdalar içerdikleri aminoasitler, yağlar, karbonhidratlar, vitaminlerin yanı sıra su oranlarının yüksek olmalarından dolayı mikroorganizmalar için iyi birer üreme ortamıdır ve bu nedenle çok çabuk bozularak tüketilemeyecek duruma gelmektedir Gündoğan (3).

Hayvansal kaynaklı gıdaların başında süt ve ürünleri gelmektedir. Süt ve ürünleri insan vücudu için elzem mineral, proteinleri ve vitaminleri taşıması bakımından oldukça önemlidir. Süt sıvı bir besin maddesi olduğu için çabuk bozulabilir ve nakli zordur. Bunun için daha dayanıklı ürünlere işlenmektedir. Kalsiyum ve protein içeriği oldukça zengin olan peynir, sütün en besleyici şekli olarak kabul edilmektedir Sert (4).

Peynir, uzun süre bozulmadan dayanabilmesinin yanında besleyici değeri ve çok sayıda çeşidiyle çok önemli bir süt ürünü olarak karşımıza çıkmaktadır. Sütün belli aşamalardan geçmesiyle oluşan peynir, olgunlaştırıldıktan sonra tüketime sunulmaktadır Gündoğan (3).

Peynirin niteliğinde en önemli unsurlardan biri çiğ sütün mikroflorasıdır. Süt peynirin ham maddesidir ve insanlar için çok besleyici bir üründür fakat süt mikroorganizmalar için de çok besleyici bir ortamdır. Çeşitli kaynaklardan süte bulaşabilen mikroorganizmalar sütte hızlıca çoğalmaktadırlar Çağlar (5), Donely (6).

Çeşitli kaynaklardan bulaşı olabileceği için çiğ süt oldukça fazla miktarda bakteri içermektedir. Toplam bakteri sayısı fazla olduğunda ısıl işlem uygulamalarında bu bakterilerin bir kısmı canlı kalabilmektedir. Süt ve süt ürünleri üretimi yapan yerlerde hijyen sanitasyon kurallarına uyulmaması durumunda süte çok miktarda mikroorganizma bulaşabilmektedir ve mikroorganizmalar tarafından kontamine olmuş bu ürünler tüketildiğinde insan sağlığı için tehlike oluşturabilmektedir. Peynir teknolojisinde pastörizasyonun yapılmadığı veya yeterli olmadığı durumlarda *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Brucella*, *Yersinia* gibi patojenlerle kontaminasyon sağlık açısından sorun oluşturabilmektedir Sert (4), Çağlar (5).

Bu çalışmada İstanbul ilindeki pazar ve marketlerde açıkta satılan beyaz peynirlerin hijyenik yönden değerlendirilmesi ile bu peynirlerin tüketimlerinin halk sağlığı açısından oluşturabileceği olası risklerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## 4. GENEL BİLGİLER

Sıvı bir besin maddesi olan süt çabuk bozulabildiği ve nakli zor olduğu için daha dayanıklı bir ürünlere işlenmektedir. Kalsiyum ve protein içeriği oldukça zengin olan peynir, sütün en besleyici ürün şekli olarak kabul edilmektedir Fox (7).

İnsan gıdası olarak çok eski tarihlerden beri kullanılmasına karşın peynirin ilk yapıldığı tarih ve yöre kesin olarak bilinmemekle beraber peynirin bazı hayvanların evcilleştirilmesinden sonra, günümüzden yaklaşık 6000-7000 yıl önce Orta veya Güneybatı Asya'da, sütün hayvan midelerinde veya derilerinde taşınması sırasında tesadüfen pıhtılaşması ile elde edildiği sanılmaktadır Tekinşen (8).

Peynir tarihinin bu kadar eskiye dayanmasına karşılık endüstriyel olarak üretimi 18 yy. sonlarına dayanmaktadır. Günümüzde starter kültür kullanan süt ürünleri işletmelerinde modernizasyon artmakta ve kaliteye önem veren büyük kapasiteli işletme sayısında artış görülmektedir Koçak (9).

Peynir özellikle kalsiyum ve protein içeriğinin yanında yaşam için elzem olan birçok bileşeni içerir. Peynir retim sürecinde süt pıhtılaştırılır daha sonra peynir altı suyu alınır. Bu sudan ayrılmış olan peynir değişik şekillerde işlenerek tüketime hazır hale getirilir. Peynirler, taze ya da çeşidine özgü tat, aroma ve yapı kazanması için belirli bir olgunlaşma dönemi geçirdikten sonra tüketime sunulmaktadır nsal (10).

İnsan yaşamının her evresinde gerekli olan ve peynirin ana maddesi olan süt, kalsiyum, fosfor, protein ve mineralleri dengeli ve yeterli düzeyde içerdiği için insan sağlığı ve beslenmesi bakımından çok önemli bir besindir. Büyüme ve gelişmenin yanı sıra; yapısında bulunan ve fizyolojik olarak önemli olan enzimler, immünoglobulinler, büyüme hormonları, enzim inhibitörleri ve diğer hormonlar, antimikrobiyal ajanlar ve büyüme faktörleri gibi peptit ve protein yapılı öğeler ile vitamin, mineral ve yağ asitleri içerdiğinden dolayı yaşam döngüsünde birçok hayati özelliğe sahiptir nsal (10).

### 4.1. Peynir ve Peynir eşitleri

Peynir; istenen yağ oranındaki sütün proteolitik enzimleri içeren peynir mayasıyla veya uygun organik asit ile pıhtılaştırılıp daha sonra; peyniraltı suyunun

ayrılmasıyla, pıhtının şekillendirilmesiyle ve tuzlanmasıyla elde edilen, taze veya olgunlaştıktan sonra tüketime sunulan süt ürünüdür Yerlikaya (11).

Dünyada çok eitte peynir üretimi yapılmakta, neredeyse her ülkenin kendine has peynir eitleri bulunabilmektedir. Ülkemizde ise peynir çeşidi olarak en çok beyaz peynir, kaar peyniri ve tulum peyniri üretilmektedir. Bunların yanında geleneksel olarak üretimi yapılan yörelere özgü peynirlerimiz de vardır. Ülkemizde tarımla uğraşan nüfusun eğitim seviyesinin dk olması, tarım işletmelerinin çok dağınık olması ve hayvan yetiştiriciliğinin bir yan uğraı oluundan dolayı, yapılan peynir çeşitlerinin sayısı ve üretim miktarı hakkında kesin bir bilgi bulunmamaktadır Tekinen (8).

#### **4.1.1. Beyaz Peynir**

Beyaz peynir, çiğ sütlerin veya karışımlarının pastörize edilmesiyle veya pastörize edilen sütlerin imalat tekniğine göre işlenmesi ve bu ilenme sırasında gerektiğinde katkı maddelerinin ilavesi ve olgunlatırılması sonucu elde edilen üründür Yerlikaya (11).

Peynirler; sütün rennin enzimiyle pıhtılatırılması sonucu elde edilmekte ve bu süreçte kalsiyum kazeinat ile birlikte vitaminler de peynirde kalmaktadır. Katılatırma sonucu yapılan işlemlere göre peynirler eitlendirilmektedir. Peynirin su ve yağ oranlarına göre besin değeri değişmektedir. Ortalama olarak 3-5 kısım sütten 1 kısım peynir elde edilmektedir. Peynir pıhtısı pişirme işlemine tabi tutulursa kaar peyniri, doğrudan tuzlu salamuraya yatırılırsa beyaz peynir eitleri elde edilmektedir. Isıl işlem uygulanmamış sütten yapılan peynirin mikrobiyel gıda güvenliği açısından yenmeden önce en az 3 ay süreyle tuzlu salamurada soğuk depoda tutulması önerilmektedir nsal (10).

Ülkemizde yerel peynir eitleri arasında gerek üretim gerekse tüketim bakımından ilk sırada yer alan peynir çeşidi beyaz peynirdir. Genellikle teneke peyniri, salamura peynir ya da Edirne peyniri adıyla tanınmaktadır. Türkiye'nin her yöresinde yapılmasına karşın üretimin büyük bir bölümü, Trakya, Marmara, Ege ve Orta Anadolu bölgelerinde gerçekleştirilmektedir Demirci (13).

Beyaz peynir her tür sütün yapılabilir, ancak kalite ve randıman açısından en uygunu koyun sütüdür. Bu süte değişik oranlarda keçi ve inek sütü de karıştırılabilmekte ya da sadece inek sütü kullanılabilir. Ancak, inek sütünden yapılan üretimde istenen kalite sağlanamamakta ve randıman düşmektedir. Ülkemizde sütün yaklaşık olarak % 20'si peynir üretiminde kullanılmaktadır Çetinkaya (14).

Devlet Planlama Teşkilatı'nın raporuna göre süt ve ürünleri üretim miktarlarına bakıldığında üretimi yapılan en çok süt ürününün yoğurt olduğu ve yoğurttan sonra üretimi süt ve beyaz peynirin takip ettiği bildirilmiştir. Süt ürünlerinin bu kadar fazla tüketiminin olması nedeniyle kontaminasyon durumlarında ne kadar önemli bir halk sağlığı sorunu ortaya çıkarabileceğini ortaya koymaktadır Güllüce (15).

#### **4.1.2. Süt ve Süt Ürünlerinin Mikrobiyolojik Durumu**

Süt, dişi memeli hayvanların yavrularını besleyebilmek için süt bezlerinden salgılanan ve yavru için elzem tüm besin maddelerini içinde bulunduran bir sıvı olarak tanımlanmaktadır Oktay (17)

2015/6 sayılı Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'ne göre ise çiğ süt "Hayvansal Gıdalar İçin Özel Hijyen Kuralları Yönetmeliği"ndeki çiğ süt kriterlerine uyan inek sütü, koyun sütü, manda sütü ve keçi sütü veya bunların karışımlarını ifade etmektedir Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği (18).

Sağlıklı bir memede, meme sisternasında bulunan süt sterildir. Ancak meme kanalına ulaştıktan sonra mikroorganizmaların kontaminasyonuna uğramaktadır. Çalışmalar meme bezini terk eden sütün milimetresinde 100-1000 adet bakteri ihtiva ettiğini belirtmişlerdir Yerlikaya (11). Bunun yanı sıra sağım, taşıma ve dağıtım sırasında çeşitli kaynaklardan, hayvanın derisinden, ahırın havasından, kullanılan kaplardan ve sağıcıdan süt çeşitli mikroorganizmalarla kontamine olmaktadır (Tekinşen (12).

Peynirin niteliğinde en önemli unsurlardan biri çiğ sütün mikroflorasıdır. Süt peynirin ham maddesidir ve insanlar için çok besleyici bir üründür fakat süt mikroorganizmalar içinde çok besleyici bir üründür. Türlü kaynaklardan süte bulaşabilen mikroorganizmalar sütte hızlıca çoğalırlar Çağlar (5), Donely (6).

Patojen mikroorganizmalar süte çevreden veya doğrudan inekten bulaşabilmektedir. Bulaşma yollarından biri de kontamine su kaynaklarıdır. Ayrıca böcekler, kemirgenler, kir ve dışkı sütün patojenlerle kontaminasyonunda önemli rol oynamaktadır. İnsanlara süt aracılığıyla bulaşan birçok hastalık bulunmaktadır Polat (19).

Süt ve süt ürünlerinin mikrobiyolojik kalitelerinin araştırıldığı çalışmalarda ülkemizde peynirlerin hijyenik kalitelerinin genel olarak düşük olduğu saptanmıştır. Süt ve süt ürünleri üretimi yapan yerlerde hijyen sanitasyon kurallarına uyulmaması durumunda süte çok miktarda mikroorganizma kontamine edebilmektedir ve mikroorganizmalar tarafında kontamine olmuş bu ürünler tüketildiğinde insan sağlığı için tehlike oluşturabilmektedir. Peynir teknolojisinde pastörizasyonun yapılmadığı veya yeterli olmadığı durumlarda *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Brucella*, *Yersinia* gibi patojenlerle kontaminasyon sağlık açısından sorun oluşturabilmektedir Sert (4), Çağlar (5).

Süt ürünlerinin özellikle patojen mikroorganizmalarla kontamine olması sonucunda kontamine eden mikroorganizmanın yapısı ve miktarına göre gıda kaynaklı enfeksiyonlar veya zehirlenmeler görülebilmektedir Pelczar (20), Heperkan (21), Kıvanç (22).

Ülkemizde görülen gıda zehirlenme vakalarının çoğuna *E. coli* ile streptokok, stafilokok, *Bacillus cereus* suşlarıyla *Salmonella* türlerinin neden olduğu saptanmıştır Carrique Mass (23).

Yukarıda belirtilen sağlık riskleri değerlendirildiğinde mikrobiyolojik kontroller ve HACCP temelli programların önemi ortaya çıkmaktadır. Araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda süt ürünlerindeki enfeksiyon ve toksikasyonları yetersiz pastörizasyon veya pastörizasyon sonrasında kontaminasyona bağlamaktadırlar. Bu anlamda hijyen indeksi mikroorganizmaların incelenmesi süt ve süt ürünlerinin güvenilirliği yönünden önemli bir kriter teşkil etmektedir Koçak (9).



#### 4.1.3. Beyaz Peynirler ile ilgili Mikrobiyolojik Kriterler

Dünyada oldukça fazla çeşidiyle severek tüketilen peynirlerin mikrobiyolojik kaliteleri insan sağlığı açısından önem arz etmektedir. Peynir yapımında kullanılan süte üretim prosesinde farklı kaynaklardan türlü mikroorganizmalar bulaşabilmektedir. Bunlar peynirde bulunan protein, karbohidrat ve yağ gibi besin kaynaklarını kullanıp kendilerine özgü metabolik yolları izleyerek ekşime, acılaşıma ve kokuşma gibi olaylar meydana getirmektedir. Bu mikroorganizmalardan bazıları saprofit türde olup kötü aroma ve tada neden olabilmektedir. Mikroorganizmaların yukarıda belirtildiği gibi çeşitli bozulmalara neden olmasının yanında bu mikroorganizmaları içeren ürünleri tüketmek gıda zehirlenmelerine neden olmaktadır Yetişmeyen (24).

Patojen karakterde bir mikroorganizmayı içeren süt ürününün tüketimi insan sağlığını ciddi tehdit edebilmekte, patojen mikroorganizmalar tüberküloz, tifo gibi hastalıklara ve zehirlenmelere yol açabilmektedir. Bu hastalık yapıcı etmenler düzgün uygulanan bir ısı işlemi ile yok edilebilmektedir Yetişmeyen (24).

Süt üretimi yapan işletmelerin bu patojenlerle kontaminasyonunu engellemek için Tarım Bakanlığı'nın gıda güvenliği ile ilgili kanunlarını, yönetmeliklerini, tebliğlerini iyi incelemesi ve uygulanması gerekmektedir. Gıda yasasına göre Türk Gıda Kodeksi'ne uygun ürünlerin üretimini yapmak zorunludur Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler (18).

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından yayınlanan Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği (Tebliğ No: 2015/6)

Hijyen alt başlığı altında bu tebliğ kapsamında yer alan ürünlerin "Hayvansal Gıdalar İçin Özel Hijyen Kuralları Yönetmeliği", 17/12/2011 tarihli ve 28145 sayılı Resmî Gazete 'de yayımlanan "Gıda Hijyeni Yönetmeliği" ve 29/12/2011 tarihli ve 28157 3'üncü mükerrer sayılı Resmî Gazete'de yayımlanan "Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği"nde yer alan hükümlere uygun üretilmesi gerektiği belirtilmektedir Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler (18).

Bu tebliğ kapsamında doğrudan satış için hazır ambalajlı hale getirilmiş olan peynirlerin sadece bu tebliğin hijyen ile ilgili kriterlerini karşılayan yerlerde piyasaya arz edilebileceği ifade edilmektedir. Bu kapsamda peynirlerde aranan mikroorganizmalar ve limitleri Tablo 4.1.3.'de gösterilmiştir Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler (18).

**Tablo 4.1.3. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği**

Gıda	Mikroorganizmalar/toksinler/ metabolitler	Numune alma planı		Limitler <sup>(1)</sup>		Referans metot
		n	c	m	M	
1.1.5 Peynir (eritme peynir hariç diğer tüm peynirler)	Koagülaz pozitif stafilokoklar	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	EN/ISO 6888-1 veya 2
	<i>Salmonella</i>	5	0	0/25 g- ml		EN/ISO 6579
	<i>L.monocytogenes</i>	5	0	0/25 g- ml		EN/ISO 11290-1

*n: Partiden bağımsız ve rastgele seçilen numune sayısı*

*c: m ve M arasında olmasına izin verilen maksimum numune sayısı*

*m: (n-c) sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla mikrobiyolojik değer*

*M: c sayıdaki numunenin bu değeri aşması halinde uygunsuz olup kabul edilemez olduğunu gösteren mikroorganizma sayısı*

#### 4.2. Peynirlerde Aranan Patojen Mikroorganizmalar

Peynirin yapımında kullanılan sütün mikrobiyolojik kalitesi, peynirde mikrobiyel florayı etkileyen en önemli unsurlardan biridir. Peynirlerin mikroflorası, üretimde kullanılan sütte bulunan mikroorganizmalar, üretim esnasında kullanılan starter kültürler ile üretim sırasında ve sonrasında istenmeyen patojen

mikroorganizmalarla kontaminasyonlardan kaynaklanmaktadır. Peynirlerin üretiminde kullanılan sütün ısıl işleminin yetersiz olması, üretiminin herhangi bir yerinde kontaminasyon olması, üretim yapıldıktan sonra satışa sunulana kadar uygun şekilde muhafaza edilmemesi durumunda mikroorganizmaların gelişimini etkilemektedir. Bu nedenle peynir birçok gıda kökenli hastalığın kaynağını oluşturmaktadır Keskin (25).

Tarım Bakanlığı'nın Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine göre eritme peynirleri hariç diğer tüm peynirlerin 25 gramında *Salmonella* ve *L. monocytogenes* bulundurmaması istenmektedir. Ayrıca koagülaz pozitif stafilocoklar için üst sınır  $10^3$  kob/g olarak verilmiştir. Bu nedenle, hijyenik yönden kaliteli bir peynir elde etmek için, süte etkin bir pastörizasyon işlemi uygulanmalı ve üretim koşullarında hijyen kurallarına dikkat edilmelidir Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler (18).

#### **4.2.1. *Staphylococcus aureus***

Gıda kaynaklı salgınlarda en sık görülen etkenlerden biri enterotoksijenik *S. aureus*'tur. *Staphylococcus aureus* dünya çapında meydana gelen besin zehirlenmesinin yanı sıra gastroenteritin de yaygın nedenlerindedir. Bazı *S. aureus* suşları ısıya dayanıklı enterotoksin üretmekte ve bu enterotoksinler stafilocokal gıda zehirlenmesine neden olabilmektedir Keskin (25).

Etken, hareketsiz, sporsuz, fakültatif anaerobik, Gram pozitifdir. Diğer bakteri türleri ile rekabet özelliği azdır ve karışık bir kültür ortamında gelişimi baskılanmakta, ayrıca başlangıçta sayısı fazla değil ise gelişimi iyi olmamaktadır. Optimum olarak 7-7,5 pH'da gelişirlerken 4,0-9,2 pH arasında da gelişimini sürdürebilmektedir. Minimum su aktivite değeri ( $a_w$ ) aerob gelişme için 0,83-0,86, anaerob gelişme için 0,90 olarak belirlenmiştir. Toksin oluşturabilmesi için ise daha yüksek su aktivitesi değerlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Düşük su aktivitesi bulunan ortamlarda bakterinin gelişme ve enterotoksin oluşturma hızları azalmaktadır. Bu bakterinin enterotoksin üretemeyen ve üretebilen iki alt türü bulunmaktadır Keskin (25), Erol (26).

Gıdalardaki stafilocokların temel kaynağını insan ve hayvanlar oluşturmaktadır. Stafilocoklar insan ve hayvanların normal deri, burun ve diğer

mukozaalarında bulunmaktadır. Stafilokoklar hava ve su da dahil olmak üzere insan ve hayvansal organizma ile temas edebilecek her türlü ortamda bulunabilmektedir. *S. aureus* gelişmesi ve enterotoksin üretimini etkileyen faktörler Tablo 4.2.1.'de gösterilmiştir Erol (26).

**Tablo 4.2.1. *S.aureus* Gelişimi ve Enterotoksin Üretimini Etkileyen Faktörler**

Ortam Faktörleri	<i>S. aureus</i>		Enterotoksin	
	Sınır değerler	Optimum	Sınır değerler	Optimum
Sıcaklık (°C)	7-48	37	10-48	40-45
pH	4-10	6-7	4-9.6	7-8
Su aktivitesi ( $a_w$ )	0.83-0.99	0.98	0.85-0.99	0.98

Gıdalarda stafilokok aranmasında EMS (En Muhtemel Sayı) veya katı besiyerine ekim yöntemi kullanılmaktadır. Katı besiyeri olarak en yaygın kullanılan besiyeri Baird-Parker Agar besiyeridir Korkmaz (27).

Stafikokal gıda zehirlenmeleri dünyada önemli bir halk sağlığı sorunudur. Peynirlerden de kaynaklanabilen bu zehirlenmelere pastörizasyon yapılmaması veya ısısının yüksek olmaması, yapımında kullanılan starterin aktivitesinin yetersizliği veya tüm bu işlemlerin düzgün yapılması ama sonrasında çeşitli kaynaklardan kontamine olması neden olur. Araştırmacılar *S. aureus*'un peynirlerde gelişimini ve toksin oluşturabilmesini birçok faktöre bağlamışlardır. *S. aureus* ortamda yeterli bakteri varsa inhibisyona uğramakta yoksa çoğalmaya devam etmektedir. *S. aureus*'un peynirde gelişmesi ve toksin oluşturmasında kullanılan starterin de önemi vardır Waldvogel (28).

#### **4.2.2. *Salmonella* spp.**

*Salmonella* spp. en önemli patojen bakteri cinslerinden biri olarak kabul edilmektedir. *Salmonellalar* mezofil bakterilerdir ve geniş sıcaklık aralıklarında gelişip, olumsuz çevre koşullarına kolay adapte olurlar Erol (26).

*Salmonella*, Gram negatif, çubuk şekilli, fakültatif anaerobik, hücre içi bir mikroorganizma olup Enterobacteriaceae ailesi üyesidir. Kapsülsüz ve H<sub>2</sub>S oluşturma yeteneğinde olan bu bakteri, katalaz pozitif, oksidaz, indol ve üre negatiftir.

*Salmonella gallinarum* ve *Salmonella pullorum* türleri hariç hareketlidir ve karbonhidratları fermente edip gaz oluştururlar fakat sakkaroz ve laktozu fermente edemezler Keskin (26).

*Salmonella*, konağın kendi kendine iyileşebildiği intestinal epitelyumun enfeksiyonu ile karakterize non-tifoid salmonellosis veya gastroenteritis ile tifoid ya da enterik ateş olarak bilinen ve ciddi seyreden sistemik bir enfeksiyona neden olmaktadır. Gelişmiş ülkelerde oldukça az bir oranda olan tifoid salmonellosisin görülme sıklığı nispeten sabit seyretmekle birlikte, non-tifoid salmonellosis dünya genelinde artan bir ivmeye sahiptir Cremonesi ( 29).

*Salmonella* Typhimurium (*Salmonella enterica* subspecies *enterica*, serovartyphimurium), non-tifoid salmonellosise neden olmakta, enfeksiyonda ise abdominal ağrı, ishal ve mide bulantısı gibi semptomlar görülmektedir. Non-tifoid salmonellosis, Amerika'da her yıl yaklaşık 40.000 vaka ile seyretmekte, fakat bu sayının kliniklere başvurulmayan vakalar ile birlikte yılda 1.4 milyon olabileceği tahmin edilmektedir. Ayrıca 400-600 vakanın ise ölümle sonuçlandığı bildirilmektedir Nunez Hernandez (30).

Amerika'daki salmonellosis vakalarının yaklaşık %50'si *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Newport kökenli 3 serotip tarafından oluşturulduğu belirtilmiştir. *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium Avrupa'da da predominant suşlar olup 2009 yılında 100.000'den fazla vaka bildirilmiştir Keskin (26).

Epidemiyolojik yönden *Salmonella*'lar konak spesifik olanlar ve konak spesifik olmayanlar olmak üzere ayrılmışlardır. Yalnızca insanlarda enfeksiyon oluşturan serotipler; *S. Typhi*, *S. Paratyphi*, yalnızca hayvanlarda enfeksiyon oluşturan serotipler ise *S. Gallinarum*, *S. Dublin*, *S. Abortus-equi*, *S. Abortus-ovis* ve *S. Choleradis*'tir. Konak spesifik olmayan serotipler yani hem insan hem de hayvanda enfeksiyon oluşturan serotipler ise *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis*'i kapsamaktadır Keskin (26), Şireli (31).

*Salmonella*'ların enfeksiyon oluşturabilmesi için gerekli minimal enfektif dozun  $10^5$  - $10^6$  kob/g olarak bildirilmesine rağmen bu sayı, serotipin virulensine ve konakçının immun sistemine bağlı olarak farklılıklar göstermektedir Adams (32).

*Salmonella* türlerinin patojen olarak gıda enfeksiyonlarında ilk sıralarda yer almasının nedeni bu etkenin çevre koşullarına yüksek dirençliliği ve uzun süre canlılığını korumasıdır. Bu etken süt ürünlerinde 60-240 gün süreyle canlı kalabilmektedir Keskin (26), Jacobson (33).

*Salmonella*'ların aside direnç kazanması sonucunda peynir yapımı sırasında pH'nın düşmesiyle (pH 4.55) etkenin kaybolduğu ancak düşük asitli peynirlerde ( $\geq 4.95$ ) etkenin üremeyi devam ettirdiği ve özellikle yumuşak peynirlerde tüketime kadar canlı kalabildiği bildirilmektedir Şireli (31).

#### **4.2.3. *Listeria monocytogenes***

Listerozis gıda kaynakları hastalıklarının en önemli olanlarından biridir. *Listeria* etkeni patojen sıklıkla kontamine olan peynir veya süt, iyi pişirilmemiş et ve iyice yıkanmamış sebzelerde görülür Ünlütürk (34).

*Listeria monocytogenes*, fakültatif anaerob, Gram pozitif, sporsuz ve kapsülsüz bir bakteridir. Bakterinin peritris flagellası olmasına rağmen, hareketliliği gelişme sıcaklığına bağlıdır. Etken 20-25°C'de hareketli iken 30°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda hareket yeteneği azalmaktadır. Bu özelliklerin yanında *L. monocytogenes* karbonhidratlardan gaz üretmeden asit oluşturmaktadır Ünlütürk (34).

*L. monocytogenes* sahip olduğu somatik (O) ve flagellar (H) antijenlerine göre değişik serotiplere ayrılmıştır. Bunlardan 4b serotipi en önemli patojenik *Listeria monocytogenes* suşu olarak tanımlanmıştır Kim (35).

*L. monocytogenes* düşük sıcaklıklara çok iyi adapte olabilen psikrotrofik bir bakteri olması yanında % 10-15 NaCl konsantrasyonunda bile üremeye devam etmektedir Ünlütürk (34). *Listeria monocytogenes*'in üreme ve canlı kalması için gerekli koşullar Tablo 4.2.3.'de gösterilmiştir Erol (26),Liu (36).

**Tablo 4.2.3. *L. monocytogenes* Üreme ve Canlı Kalmaları İçin Gerekli Koşullar**

Ortam Özellikleri	Sınırlar	Değerler
Sıcaklık (°C)	0-45	35-37
pH	4.3-9.6	7.0
a <sub>w</sub>	0.92	0,97-0.99

*L. monocytogenes* patojeninin insanlarda minimum enfeksiyon dozu tam olarak belirlenmemiştir. Çalışmalarda duyarlılığının patojen virulansına, insan duyarlılığına, bağışıklık sistemine bağlı olduğu bildirilmiştir Koutsoumanis (37).

Enfeksiyon etkeni alındığında inkübasyon periyodu 1 gündür. *L. monocytogenes* alındıktan sonra ilk gün karaciğer ve dalakta kalmakta, bu süre içerisinde makrofajlara girerek 48 saat içerisinde logaritmik olarak çoğalarak ve makrofajları parçalamaktadır. Daha sonra granülomatoz lezyonların oluşmasına neden olduğu ve septisemi ile enfeksiyonun, vücudun diğer kısımlarına da yayıldığı saptanmıştır Mclauchin (38), Kolb Maurer (39).

*L. monocytogenes* doğada çok yaygın olup, toz, toprak, kanalizasyon, çürük bitkiler, hayvan yemleri (özellikle silaj), kanatlı etleri, süt ve süt ürünleri, çiğ ve işlenmiş et ürünlerinden izole edilmiştir. *Listeria* enfeksiyonlarında bulaşmanın primer veya sekonder olarak kontamine olmuş çiğ ya da az pişmiş gıdalar ile pişirme işleminden sonra çeşitli nedenlerle *Listeria* spp. ile kontamine olmuş gıdalardan kaynaklandığı düşünülmektedir Koutsoumanis (37).

Gıdalar etken ile doğrudan kontamine olabildiği gibi enfekte materyal veya kişiler tarafından gıdaların işlenmesi, muhafazası, satışı ve tüketimine kadar geçen süre içerisinde sekonder olarak da kontamine olabilmektedir Etken, hayvanların, kanında, sütünde ve gaitasında bulunmaktadır. İnsanların sindirim, temas ve göz yoluyla listeriosise'a yakalandığı bildirilmektedir Kim (35).

*L. monocytogenes* çiğ ve yetersiz pastörize edilmiş gıdalarda ve bazı peynirde izole edilmiştir. Etken genellikle peynire üretim, olgunlaştırma, depolama ve pazarlama aşamalarında bulaşmaktadır. Örneğin işletmelerdeki süt işleme makineleri,

salamura düzenleri ve presler *L. monocytogenes*'in izole edildiği ortamlardır Ekici (40).

*L. monocytogenes* peynirlerin, yapım, olgunlaşma ve depolama sırasındaki ısı ve zaman durumu, peynire ilave edilen starterler, pH, etkenin sütteki kontaminasyon miktarı, peynir kompozisyonu, olgunlaşma ve depolama ısısı, peynir mikroflorası gibi koşullara bağlı olarak peynirlerde farklı düzeylerde gelişmektedir. Peynir yapımında çiğ süt kullanılması ya da süte yeterli pastörizasyon uygulanmaması ile *L. monocytogenes* son üründe varlığını gösterebilmektedir. Ayrıca peynir yapımında starter kültür kullanılıp kullanılmaması ve peynirin 5,5'in üzerinde pH değerine sahip olması *L. monocytogenes*'in peynirde üreme potansiyelini önemli derecede etkilemektedir Roche (41).

Bazı *L. monocytogenes* suşlarının pH 5,0 ve % 10'luk NaCl'nin güçlü sinerjik etkisine maruz kalmasına rağmen üreyebildikleri bilinmektedir. Bu nedenle *L. monocytogenes* yumuşak peynirler gibi tuzlu ve asidik gıdalarda risk oluşturmaktadır Ergüllü (42).

*L. monocytogenes* etkeni psikrotrof karakterdedir. Bunun için buzdolabı ısısında rahatça üreyebilir. Bu da peynirlerin etken ile kontaminasyonundan sonra, korunmada önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır Liu (36).

Etkenle kontamine gıda tüketildikten 12 saat sonra ateş, karın krampları, diyare, yorgunluk, baş ağrısı ve kusma ile seyreden gastrointestinal bir sendrom meydana gelmektedir. Listeriyal meningitis ve bakteriyemi gibi daha ciddi durumlar ancak günler veya haftalar sonra ortaya çıkmaktadır. Bu sendromların başlama süresi 11-70 gün arasında (ortalama 21 gün) değişmekte olup bu sürenin enfektif doza ve hastanın durumuna bağlı olduğu bildirilmektedir Rhoades (43), (Ireton (44).



## 5. GEREÇ VE YÖNTEM

### 5.1.Gereç

#### 5.1.1. Örneklerin toplanması ve analize hazır hale getirilmesi

Yapılan çalışma, hijyenik durumlarının belirlenmesi amacıyla, Ağustos-Eylül 2015 tarihleri arasında İstanbul'un Kavacık, Ümraniye ve Fatih ilçelerindeki marketlerin şarküteri bölümünden temin edilen 25 adet Fatih ve Ümraniye ilçelerindeki semt pazarlarından temin edilen 25 adet olmak üzere toplam 50 adet peynir örneği ile yürütülmüştür.

Örnekler soğuk zincir altında İstanbul Medipol Üniversitesi mikrobiyoloji laboratuvarına getirilerek *S. aureus*, *Salmonella* spp. ve *L. monocytogenes* varlığı yönünden analize alınmıştır.

#### 5.1.2. Kullanılan malzeme ve ekipmanlar

##### 5.1.2.2. Baird Parker Agar

Peynir örneklerinden *S. aureus* sayımı için Baird Parker agar (BPA, Fluka, 79893-500G) besiyeri kullanılmıştır. Besiyerinin hazırlanmasında her 90 mL distile su için 6.3 g besiyeri tartılarak distile suya eklenmiştir. Elde edilen homojen karışım 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra 45-50°C'ye soğutulurken egg yolk-tellürit emülsiyon (Merck, 1.03785.0001) 50 mL /950 mL miktarında besiyerine eklenerek BPA hazırlanmıştır. Besiyerinin bileşimi aşağıda yer almaktadır.

Baird-Parker Agar Base *Micrococcus* ve *Staphylococcus* türleri ile özellikle *Staphylococcus aureus* analizinde kullanılmakta, bu besiyerine yayma veya öze ile sürme yöntemi ile ekim yapılmaktadır Korkmaz (27).

*S. aureus* rekabetçi bir bakteri olmadığı için bu besiyeri içindeki tellurit ve lityum klorür refakatçi florayı inhibe etmektedir. Besiyerinin içindeki glisin ve piruvat *S. aureus* gelişimini stimule etmektedir. *S. aureus* kolonileri proteoliz ve lipoliz

sonucu koloni etrafında zon oluşturmakta, telluriti tellurima indirgemektedir. 37°C'da 24 saat inkübasyon sonunda *S. aureus* 1-1,5 mm çapında siyah, parlak konveks koloniler oluşturmaktadır. Koloni çapı 48 saat inkübasyondan sonra 1,5-2,5 mm olmaktadır Korkmaz (27).

Yumurta sarısı reaksiyonu ve tellurit indirgenmesi genellikle koagülaz reaksiyonu ile beraberce oluşur. Lesitinaz aktivitesi, besiyerinin 37 °C'da 24 veya 48 saat inkübasyonu ve sonra tercihen buzdolabında 1 gece bırakılması ile daha kesin olarak saptanır Korkmaz (27).

#### **Baird Parker Agar Base**

<b>Bileşen</b>	<b>g/L</b>
Casein Enzymatic Hydrolysate	10.0
Meat Extract	5.0
Yeast Extract	1.0
Sodium pyruvate	10.0
Glycine	12.0
Lithium chloride	5.0
Agar-agar	20.0

<b>Bileşen</b>	<b>Miktar</b>
Steril Egg Yolk (Yumurta Sarısı)	200 mL
NaCl	4,25 g
Maya ekstratı	1,0 g
Potasyum tellürit	2,1 g

#### **5.1.2.2. Tryptic Soy Agar**

Çalışmada elde edilerek stoklanan izolatların canlandırılmasında Tryptic Soy Agar (TSA, Merck, 1.05458.0560) besiyeri kullanılmıştır. 40,0 g/L oranında tartılarak sulandırılan besiyeri 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Besiyerinin içeriği aşağıda verilmiştir.

#### **TSA (Tryptic Soy Agar)**

<b>Bileşen</b>	<b>g/L</b>
Peptone from casein	15,0
NaCl	5,0
Pepton from soymeal	5,0
Agar-Agar	15,0

### 5.1.2.3. Tryptic Soy Broth

Peynir örneklerinden elde edilen tipik ve atipik *S. aureus* izolatlarının stok kültüre alınmasında Tryptik Soy Broth (TSB, Merck, 1.05459.0500) besiyeri kullanılmıştır. Besiyeri 30,0 g/L oranında tartılarak sulandırılmış ve 121°C’de 15 dk otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Besiyerinin bileşimi aşağıda yer almaktadır.

#### **Tryptic Soy Broth**

<b>Bileşen</b>	<b>g/L</b>
Peptone from casein	17,0
NaCl	5,0
Peptone from soymeal	3,0
D(+) Glucose	2,5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2,5

### 5.1.2.4. Mannitol Salt Phenol-Red Agar

İzolatların tanımlanması amacıyla uygulanan mannitol fermentasyon testinde Mannitol Salt Phenol-Red Agar (Merck, 1.05404.0500) kullanılmıştır. Besiyeri 42,0 g/L oranında tartılarak sulandırılmış ve 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Besiyerinin bileşimi aşağıda verilmiştir.

#### **Mannitol Salt Phenol-Red Agar**

<b>Madde (içerik)</b>	<b>g/L</b>
Peptone	10,0
Meat extract	1,0
NaCl	75,0
D(-) Mannitol	10,0
Phenol red	0,025
Agar-agar	12,0

### 5.1.2.5. DNase Test Agar

İzolatların DNaz enzim aktivitelerinin belirlenmesinde DNase Test Agar (Merck, 1.10449) besiyeri kullanılmıştır. Besiyeri 108,0 g/L oranında tartılıp sulandırılarak hazırlanmış ve 121°C’de 15 dakika süreyle otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Besiyerinin bileşimi aşağıda verilmiştir.

### **DNase Test Agar (Merck 1.10449)**

<b>Bileşen</b>	<b>g/L</b>
Tryptose	20,0
NaCl	5,0
Deoxyribonucleic acid	2,0
Agar-agar	15,0

### **5.1.2.6. Orsab (Oxacilin Resistance Screening Agar) Oxoid Agar**

İzolatların metisilin direnç özelliklerinin belirlenmesi amacıyla Orsab Oxoid Agar besiyeri kullanılmıştır. 103,5 g/L oranında tartılıp sulandırılarak hazırlanan besiyeri 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Oxacilin Resistance Screening Agar’ın hazırlanmasında her 500 mL Oxacilin Resistance Screening Agar için 1 şişe Orsab Selective Supplement, 2 mL distile su ile sulandırılarak kullanılmıştır. Besiyerinin bileşimi aşağıda yer almaktadır.

### **Oxacillin Resistance Screening Agar Base**

<b>Bileşen</b>	<b>g/L</b>
Pepton	11,8
Yeast extract	9,0
Mannitol	10,
Sodium chloride	55,0
Lithium chloride	5,0
Aniline Blue	0,2
Agar	12,5

### **Orsab Selective Supplement içeriği**

<b>İçerik</b>	<b>Şişe başına</b>	<b>Litre başına</b>
Polymyxin B	25,000 IU	50,000 IU
Oxacillin	1.0 mg	2.0 mg

#### 5.1.2.7. Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

İzolatların katalaz enzim aktivitesinin belirlenmesi amacıyla % 30'luk hidrojen peroksit (Merck, 1.08597.1000) çözeltisi kullanılmıştır.

#### 5.1.2.8. Bactident® Coagulase

İzolatların koagulaz enzim aktivitesinin belirlenmesi amacıyla Bactident® Coagulase (Merck, 1.13306.0001) kiti kullanılmıştır. Kit, EDTA ilave edilmiş liyofilize tavşan plazmasından oluşmaktadır.

#### 5.1.2.9. Serum Fizyolojik(SF)

Peynir örneklerinin homojenizasyonu ve dilüsyonlarının yapılması amacıyla 9,0 g/L oranında tartılan NaCl distile su ile sulandırılmış ve 121°C'de 15 dakika süreyle otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

#### 5.1.2.10. Fraser *Listeria* Selective Enrichment Broth Base

<b>Bileşen</b>	<b>g/L</b>
Proteose peptone	5,0
Peptone from casein	5,0
Yeast extract	5,0
Meat extract	5,0
NaCl	20,0
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	12,0
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,35
Esculin	1,0
Lithium chloride	3,0

*L. monocytogenes* aranmasında Fraser Broth besiyeri selektif zenginleştirme için kullanılmaktadır.

#### 5.1.2.11. Oxford *Listeria* Selective Agar

Bileşen	g/L
Peptone	23,0
Starch	1,0
NaCl	5,0
Agar agar	13,0
Esculin	1,0
Ammonium iron(III) citrate	0,5
Lithium chloride	15,0

ISO 11290 ile BAM ve IDF yönergelerine uygundur. *In vitro* (canlı hücre dışında) yapılan standart mikrobiyolojik analizlerde *Listeria* spp. ve özellikle *Listeria monocytogenes* izolasyonu ve sayımı için selektif katı besiyeri olarak kullanılmaktadır.

#### 5.1.2.12. Selenite Cystine Broth

Bileşen	g/L
Peptone from casein	5,0
L(-)-cystine	0,01
Laktoz	4,0
Phosphate buffer	10,0
Sodium hydrogen selenite	4,0

Besiyeri bileşimindeki selenit inkübasyonun ilk 12 saatine kadar koliform bakterilerin ve enterokokların gelişimini baskılamakta, *Salmonella* spp. türleri analizlerinde selektif zenginleştirici besiyeri olarak kullanılmaktadır.

#### 5.1.2.13. *Salmonella* Enrichment ( Rappaport Vassiliadis Soy) Broth

Bileşen	g/L
Peptone from soymeal	4,5
Magnesium chloride hexahydrate	28,6
NaCl	7,2
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,26
Malachite-green	0,036

APHA ve ISO 6579 uygundur. *In vitro* analizlerde *Salmonella* için selektif zenginleştirme besiyeri olarak kullanılmaktadır. Besiyeri bileşiminde bulunan malasit yeşili ve magnezyum klorür konsantrasyonları benzeri diğer besiyerlerine göre daha azdır. Bu konsantrasyonlar, *Salmonella*'nın 43°C'daki inkübasyon sırasında

gelişmesini artıracak düzeyde tutulmuştur. Aynı amaçla besiyeri bileşiminde soya peptonu bulunmaktadır. pH'nın 5,2 olması bu besiyerinin selektivitesini yükseltmektedir.

#### 5.1.2.14 Brilliant-green Phenol-red Lactose Sucrose Agar (BPLS Agar)

*In vitro* (canlı hücre dışında) yapılan standart mikrobiyolojik analizlerde *Salmonella* izolasyonu için selektif katı besiyeri olarak kullanılır.

<b>Bileşen</b>	<b>g/L</b>
Peptone from meat	5,0
Peptone from casein	5,0
Meat extract	5,0
NaCl	3,0
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2,0
Lactose	10,0
Sucrose	10,0
Phenol red	0,08
Brillant green	0,0125
Agar agar	12,0

#### 5.1.2.15. Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD Agar)

*In vitro* yapılan mikrobiyolojik analizlerde *Salmonella* ve *Shigella* için selektif katı besiyeri olarak kullanılır.

<b>Bileşen</b>	<b>g/L</b>
Yeast extract	5,0
NaCl	5,0
D(+) Xylose	3,75
Lactose	7,5
Sucrose	7,5
L(+) lysine	5,0
Sodium deoxycholate	1,0
Sodium thiosulfate	6,8
Ammonium iron(III) citrate	0,8
Phenol red	0,08
Agar agar	14,5

Besiyeri bileşiminde bulunan tiyosülfat ve demir tuzu ile hidrojen sülfür oluşumu, laktoz kullanımı pH indikatörü olan fenol red ile belirlenir. Lisinin dekarboksilasyonu ile kadeverin oluşması koloni etrafındaki pH yükselmesine bağlı olarak menekşe renkli bir zon ile görülür.

Bu besiyerinin refakatçi flora üzerinde zayıf bir inhibitör etkisi vardır. *Salmonella* kolonileri besiyeri ile aynı renkte, yarı saydam, bazen siyah merkezli olurlar. *Shigella*, *Providencia*, *Pseudomonas* kolonileri de besiyeri ile aynı renkte ve yarı saydamdır ancak bunlarda siyah merkez oluşmaz. Sarı ve sarı zonlu koloniler koliform grup bakteriler, *Aeromonas*, *Citrobacter*, *Proteus* ve *Hafnia* kolonileridir. Ksiloz pozitif olan *Salmonella Typhosa* bu besiyerinde portakal-hafif opak koloni oluşturmaktadır.

### 5.1.3. Kullanılan alet ve ekipmanlar

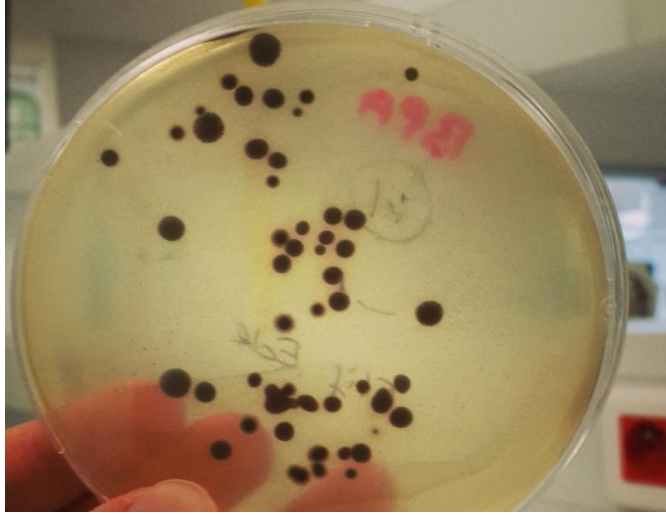
Çalışmada yukarıda sıralanan besiyeri ve çözeltilerin yanında İstanbul Medipol Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı bünyesinde yer alan hassas terazi (Radwag), inkübatör (Nüve), otoklav (Nüve), buzdolabı (Beko), mikrodalga fırın (Samsung), elektrikli su ısıtıcısı (Arçelik), cam pipetler (HBG), disposable petri kapları (Isolab), deney tüpleri (Isolab), cam şişeler (Isolab), beher (Isolab), erlenmayer (Isolab), oze (Isolab), su banyosu (Nüve), mezür (Isolab), stomacher torbası (bagmixer) stomacher cihazı (bagmixer), eldiven gibi alet ve ekipmanlardan da yararlanılmıştır.

## 5.2. Yöntem

### 5.2.1. Peynir Örneklerinden *Staphylococcus aureus* Sayım ve İzolasyonu

Peynir örneklerinin *S. aureus* sayımında örnekler, 25'er gram olacak şekilde aseptik şartlarda tartılarak üzerine 225 mL steril fizyolojik peptonlu su (Buffered Peptone Water (Merck 1.07228.0500)) eklenmiş ve stomacher (Bag mixer, Interscience, France) yardımı ile 1 dk süreyle homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örneklerden hazırlanan seri dilüsyonlar Egg yolk-tellurite emulsion (Merck 1.03785) içeren Baird Parkar Agar (BPA, Merck 1.05406.0500) besiyeri yüzeyine yüzeye yayma yöntemiyle ekimler gerçekleştirilmiştir. Örnekleri içeren petri kutuları 37°C'de 48 saat süreyle inkübasyonun ardından etrafı şeffaf ve mat zonla çevrili, gri ve siyah renkli karakteristik koloniler (Resim 5.2.1.) *S. aureus* şüpheli kolonisi olarak değerlendirilmiştir. Bu şüpheli koloniler daha sonra saflaştırılarak % 30'luk gliserol içeren ortamda -20°C'de stoklanmış ve ayrıca Gram boyama, katalaz, koagülaz, DNaz, mannitol fermentasyonu ve metisilin direnci testlerine tabi tutulmuştur.





**Resim 5.2.1. Baird Parker Agar'da Üreyen *Staphylococcus aureus* Kolonileri**

## **5.2.2. *Staphylococcus aureus* izolatlarına uygulanan biyokimyasal testler**

### **5.2.2.1. Gram Boyama**

İzolatların Gram reaksiyonlarının ve mikroskopik morfolojilerinin belirlenmesi amacıyla Gram boyama tekniği uygulanmıştır. Elde edilen izolatların 24 saatlik aktif kültürleri bir lam üzerine damlatılan serum fizyolojik içerisinde iyice homojenize edilmiş ve lam yüzeyine yayılmıştır. Preparat havada kurutulduktan sonra üç kez alevden geçirilerek tespit işlemi gerçekleştirilmiştir. Preparat kristal violet çözeltisi ile 1 dakika süreyle boyanmış ardından boya dökülerek preparat distile su ile yıkanmıştır. Daha sonra preparata 1 dakika süreyle iyot çözeltisi (lügol) uygulanmış ve ardından dökülerek preparat distile su ile yıkanmıştır. Preparat alkol çözeltisi ile 15-20 saniye süreyle dekolorize edilmiş ve distile su ile yıkanmıştır. Son olarak safranin çözeltisi ile 30 saniye boyanan preparat distile su ile yıkanarak kurutulmuş ve immersiyon objektifinde (100X) incelenmiştir Bilgehan (45).

### **5.2.2.2. Katalaz Testi**

Katalaz çoğunlukla aerobik mikroorganizmalar tarafından üretilen bir enzimdir ve hidrojen peroksiti su ve oksijene ayrıştırmaktadır. Aerobik ve pek çok fakültatif anaerobik mikroorganizma katalaz enzimine sahiptir. Sıvı ve katı besiyerine hidrojen peroksit ilavesiyle oluşan gaz kabarcıkları görünümü katalaz pozitif reaksiyon

göstergesidir. *Staphylococcus aureus* katalaz pozitif özellikte bir bakteridir Temiz (46).

Stafilokok izolatlarının katalaz pozitif reaksiyonu Resim 5.2.2.2’de gösterilmiştir.



**Resim 5.2.2.2. Katalaz Pozitif *Staphylococcus aureus***

### **5.2.2.3. Koagülaz Testi**

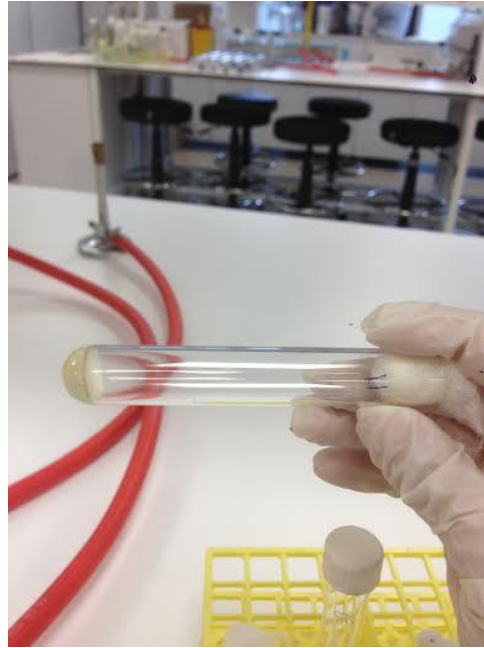
Koagülaz enzimi birçok bakteri türünde bulunmaktadır. *Staphylococcus aureus* suşlarında koagülaz enzim üretimi ile enterotoksin üretimi arasında bir korelasyon olduğu bilinmektedir. Bu test lamda veya tüpte yapılabilmektedir Temiz (46).

### **Lamda Koagülaz testinin yapılış aşamaları;**

Temiz bir lam, iki bölgeye ayrılmakta, her bölgenin ortasına bir öze dolusu distile su aktarılmaktadır. Birinci bölgedeki damlanın hemen yanına incelenecek kültürden aktarma yapılmakta ve öze ile aktarılan örnek ve sıvının homojen hale gelmesi sağlanmaktadır. Aynı işlem diğer bölgede koagülaz negatif olduğu bilinen bakteri kültürü ile tekrarlanmaktadır. Birinci ve ikinci bölgelerdeki süspansiyonların üzerine birer damla kan plazması aktarılmakta ve ayrı özeyele karıştırılmaktadır. Lama, kendi düzleminde 5-10 saniye süreyle hafifçe aşağı yukarı ve sağa sola gelecek şekilde hareketler yapılmaktadır. Birinci lam bölgesinde süspansiyonda gözle görülebilen partiküller oluştuğunda, yapılan test koagülaz pozitif kabul edilmektedir Temiz (46).

### **Tüpte Koagülaz testinin yapılış aşamaları;**

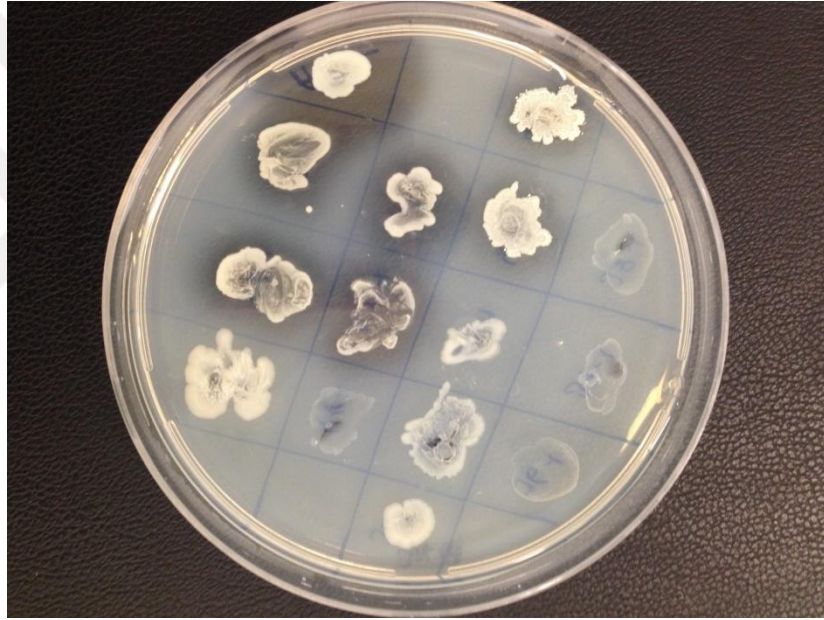
İki tane küçük deney tüpünün her birine, aseptik koşullarda 0.5 mL kan plazması aktarılmakta, birinci tüpe test edilecek bakteri kültüründen, ikinci deney tüpüne ise koagülaz negatif olduğu bilinen aktif bir bakteri kültüründen ilave edilmektedir. Tüp içerikleri öze yardımıyla homojen hale getirilmekte ve 37°C’de 24 saat süre ile inkübe edilmektedir. Tüpün dip kısmında kolayca akmayan, jel benzeri kıvamda kitle oluşumu reaksiyonun koagülaz pozitif olduğunu göstermektedir Temiz (46). İzolatların koagülaz pozitif reaksiyonu Resim 5.2.2.3.’de gösterilmiştir.



### Resim 5.2.2.3. Tüpte Koagülaz Pozitif *Staphylococcus aureus*

#### 5.2.2.4. DNaz testi

DNaz aktivitesi, özellikle, koagülaz negatif reaksiyon veren *S. aureus* 'ların patojenitelerinin tayinine yardımcı olmaktadır. Hazırlanan DNaz (Merck 1.10449) besiyerine canlandırılan kültürlerden inokülasyon gerçekleştirilmiş ve 37°C'de 24-48 saat aerobik koşullarda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda kolonilerin üzerine HCl çözeltisinden 1 mL aktarılmış ve etrafında berrak zon oluşan kültürler (Resim 5.2.2.4.) DNaz pozitif olarak değerlendirilmiştir Winn (47).



Resim 5.2.2.4. DNaz Pozitif *Staphylococcus aureus* Kolonileri

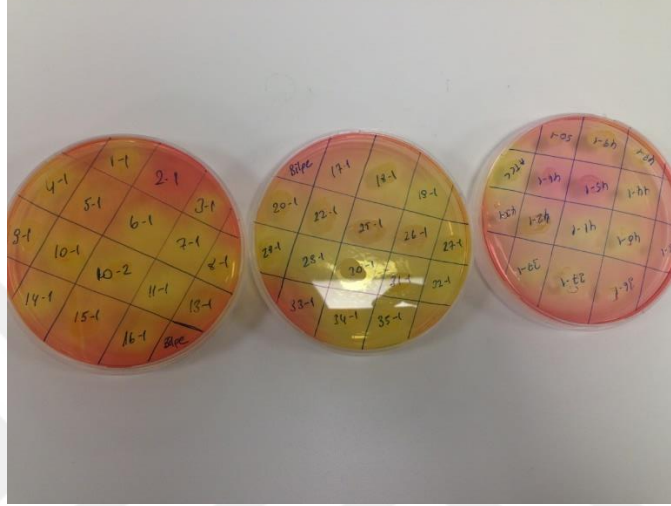
#### 5.2.2.5. Mannitol Salt Agar (MSA) Testi

*Staphylococcus epidermidis* ve diğer koagülaz negatif türlerinden farklı olarak, *S. aureus* mannitolü fermente edebilmektedir. Mannitol Salt Agar (MSA), *S. aureus*'un selektif izolasyonu için uygun bir besiyeridir. MSA'nın içerdiği yüksek tuz refakatçi florayı baskılar. Mannitol, *S. aureus*'un gelişimini destekler ve sarı zon oluşturmasını sağlar Chapman (48).

Hazırlanan Mannitol Salt Agar üzerine izolatların canlandırılan kültürlerinden inoküle edilmiş ve 37°C'de 24-48 saat aerobik koşullarda inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonunda sarı parlak zonlu koloni oluşturanlar mannitol pozitif *S. aureus*, renk değişimi gözlenmeyen ve zayıf gelişenler ise negatif olarak değerlendirilmiştir Chapman (48).

MSA'da pozitif ve negatif *Staphylococcus aureus* kolonileri Resim 5.2.2.5.'de gösterilmiştir



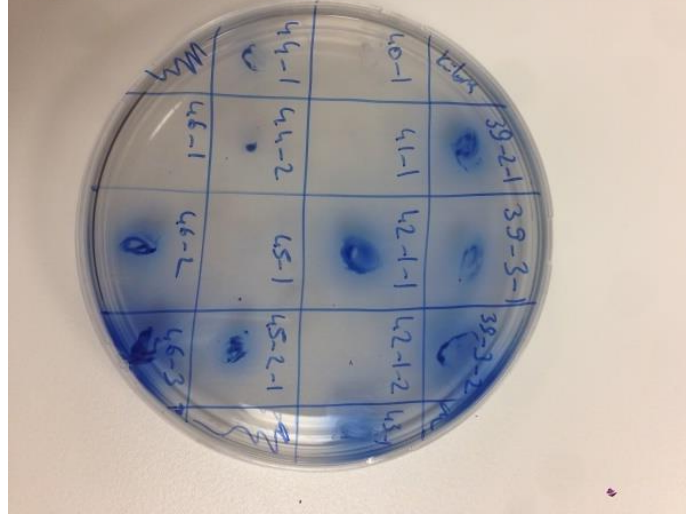
**Resim 5.2.2.5. MSA'da Pozitif ve Negatif *Staphylococcus aureus* Kolonileri**

#### 5.2.2.6. Metisilin Direnci Testi

Bu test metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşlarının tespiti amacıyla yapılmıştır. MRSA'lar, zoonoz karakterlerinin yanı sıra antimikrobiyallere karşı geliştirdikleri direnç mekanizmaları nedeniyle son yıllarda önemi giderek artan bir konuma sahiptir Cesur (49).

Hazırlanan Orsab Oxoid Agar besiyerine izolatların 24 saatlik aktif kültürlerinden inoküle edilmiş ve petri kutuları 37°C'de 24-48 saat aerobik koşullarda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda mavi koloni oluşturarak üreyen izolatlar metisiline dirençli olarak değerlendirilmiştir Cesur (49).

Metisilin direnç testi pozitif ve negatif *Staphylococcus aureus* kolonileri Resim 5.2.2.6.'da gösterilmiştir.



**Resim 5.2.2.6. Metisilin Direnç Testi Pozitif ve Negatif *Staphylococcus aureus* Kolonileri**

### 5.2.3. Örneklerde *Salmonella* spp. aranması

Aseptik olarak alınan, soğuk zincir altında laboratuara getirilen örneklerde *Salmonella* spp. varlığının tespiti amacıyla peynir örnekleri steril stomacher torbalarına 25'er gram tartılarak 225 mL tamponlanmış peptonlu su (Buffered Peptone Water (Merck 1.07228.0500)) içerisinde 1 dakika süreyle homojenize edildikten sonra homojenizat 37°C'de 24 saat süre ile inkübasyon uygulanarak ön zenginleştirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra selektif zenginleştirme amacıyla ilk olarak 100 mL miktarda hazırlanan Selenit Sistin (SC) Broth besiyerine 10 mL miktarda, ön zenginleştirme kültürü ilave edilip 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bir diğer yandan selektif zenginleştirme için ikinci olarak 10 mL miktarda hazırlanan Rappaport Vassiliadis (RV) Broth besiyerine 0.1 mL miktarda ön zenginleştirme kültürü ilave edilerek 42-43°C'de 24 saat süreyle inkübasyon uygulanmıştır (ISO 6579-2002)).

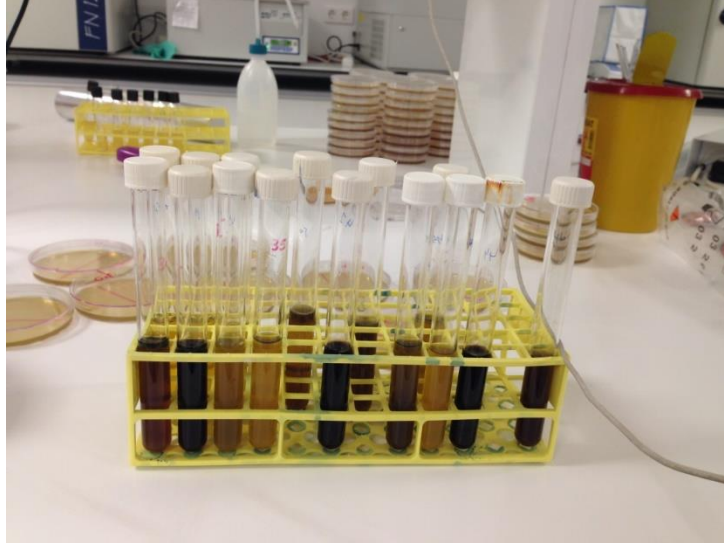
Selektif zenginleştirme işleminden sonra uygulanan selektif katı besiyerine ekim işlemi Brilliant-green Phenol-red Lactose Sucrose Agar (BPLS Agar) ve Xylose Lysine Deoxycholate Agar XLD Agar besiyerleri kullanılmıştır. SC broth ve RV broth besiyerlerinde gelişen her bir kültürden ayrı ayrı olacak şekilde BPLS ve XLD agar besiyerlerine öze yardımıyla ekimler gerçekleştirilmiş ve 37 °C'de 24 saatlik inkübasyonun ardından petri kutularında gelişen tipik koloniler değerlendirilmiştir.

*Salmonella* türleri Brilliant-green Phenol-red Lactose Sucrose Agar'da etrafı parlak, kırmızı zon ile çevrili pembe kırmızı renkli koloni, Xylose Lysine Deoxycholate Agar'da ise bazen besiyeri ile aynı renkli yarı saydam bazen siyah merkezli koloni oluşturmaktadır. Inkübasyonun ardından gelişen *Salmonella* şüpheli kolonilerine doğrulama amaçlı biyokimyasal test olarak Triple Sugar Iron Agar'da üreme testi uygulanmıştır. *Salmonella* tanısı koyabilmek için şüpheli kolonilere tüpte yatık hazırlanan TSI agar besiyerlerine yüzeye sürerek ekim yapılmış ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilerek izolatların şekerleri fermentasyon durumları ve H<sub>2</sub>S oluşturma potansiyelleri değerlendirilmiştir (ISO 6579-2002).

#### **5.2.4. Örneklerde *Listeria monocytogenes* aranması**

Peynir örneklerinde *Listeria monocytogenes* aranması amacıyla 25 g beyaz peynir örneği 225 mL tamponlanmış peptonlu su içinde stomacher cihazı ile homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenizatlar 37°C'de 24 saat süreyle ön zenginleştirme amacıyla inkübasyona bırakılmıştır.

37 °C'de 24 saat inkübasyonun ardından selektif zenginleştirme amacıyla hazırlanan 10 mL tam kuvvetli Fraser *Listeria* Selective Enrichment Broth Base besiyerine 0.1 mL ön zenginleştirme kültürü ilave edilerek 30°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Selektif zenginleştirme işleminden sonra gelişen kültürden öze ile katı besiyerine ekim yapılarak 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır.



**Resim 5.2.4.1. Fraser *Listeria* Selektif Broth'da Üreme**



**Resim 5.2.4.2. Oxford *Listeria* Selektif Besiyerinde Şüpheli *Listeria* Kolonileri**

Oxford agar besiyerinde 1,5-2 mm çapında, zeytin yeşili-gri renkli, siyah merkezli, siyah harelî koloniler (Resim 5.2.4.2.) değerlendirilmiştir.

Oxford besiyerinde gelişen *Listeria* şüpheli koloniler doğrulama amacıyla kromojenik bir besiyeri olan Chromagar *Listeria* besiyerine ekilerek 37°C'de 24-48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Chromagar besiyerinde siyah merkezli, siyah harelî koloniler *Listeria* şüpheli kabul edilmiştir.



## 6. BULGULAR

Çalışma kapsamında incelenen beyaz peynir örneklerinin 25 tanesi (% 50) 5 farklı marketin şarküteri bölümünden temin edilmiştir. Alınan örneklerin %12'sinin yarım yağlı, % 88'inin ise tam yağlı beyaz peynir olduğu tespit edilmiştir. İncelemeye alınan beyaz peynirlerin diğer 25 adedinin (%50) ise pazarda açıkça satılan beyaz peynirler olduğu, bu peynirlerin %16'sinin yarım yağlı, kalan %84'ünün ise tam yağlı olduğu görülmüştür.

**Tablo 6. Peynirlerin İllere ve Niteliklerine Göre İncelenmesi (Adet/Yüzde)**

Satın alınan yerler	Peynir örnekleri	Yağlı	Az yağlı
Market	25 (%50)	%88	%12
Pazar	25 (%50)	%86	%14

### 6.1. Peynir örneklerinde *Staphylococcus aureus* sayısı

Beyaz peynir örneklerinde tespit edilen *S. aureus* sayısı ve yüklere göre dağılımı Tablo 6.1 ve Tablo 6.2.'da gösterilmiştir.

**Tablo 6.1. Beyaz Peynirlerde *S. aureus* Dağılımı**

<i>Staphylococcus aureus</i> yükü	<i>S. aureus</i> görülen peynir sayısı (%)
10 <sup>3</sup> 'den fazla	39 (%78)
10 <sup>2</sup> -10 <sup>3</sup> arası	6 (%12)
10 <sup>2</sup> 'den az	5 (%10)

İncelenen peynir örneklerinin toplamda %78'inde üst sınırdan daha fazla *Staphylococcus aureus* üremesi gözlenmiştir. Marketlerin şarküteri bölümünden alınan beyaz peynir örneklerinin % 68'inin üst sınır olan 10<sup>3</sup> kob/g değerini geçtiği tespit edilmiştir. Pazarda açıkta satılan beyaz peynirlerin ise % 88'inin üst sınır olan 10<sup>3</sup>kob/g değerini geçtiği görülmüştür (Tablo 6.1.)

**Tablo 1.2. Beyaz Peynir Örneklerinde *S. aureus* Sayım Sonuçları**

Örnek	Örnek Yeri	Atipik/Tipik Koloni	<i>S. aureus</i> sayısı (log kob/g)
1	Market	Atipik	3,23
2	Market	Atipik	4,87
3	Market	Atipik	5,23
4	Market	Atipik	3,11
5	Market	Atipik	4,40
6	Market	Atipik	5,14
7	Market	Atipik	6,26
8	Market	Atipik	4,43
9	Market	Atipik	6,06
10	Market	Atipik	4,28
11	Market	Atipik	4,43
12	Market	Üreme yok	< 2
13	Market	Atipik	4,20
14	Market	Atipik	2
15	Market	Atipik	3,32
16	Market	Atipik	5,86
17	Market	Atipik	2,77
18	Market	Atipik	5,82
19	Market	Atipik	5,14
20	Market	Atipik	2,47
21	Market	Üreme yok	< 2
22	Market	Atipik	3,73
23	Market	Üreme yok	< 2
24	Market	Üreme yok	< 2
25	Market	Atipik	2,0
26	Pazar	Atipik	3,66
27	Pazar	Atipik	3,14
28	Pazar	Atipik	4,08
29	Pazar	Atipik	2,30
30	Pazar	Atipik	6,54
31	Pazar	Atipik	2,90
32	Pazar	Atipik	4,69
33	Pazar	Atipik	3,90
34	Pazar	Atipik	4,08
35	Pazar	Atipik	3,11
36	Pazar	Atipik	6,25
37	Pazar	Atipik	3,64
38	Pazar	Atipik	5,41
39	Pazar	Atipik	5,49
40	Pazar	Atipik	3,87
41	Pazar	Atipik	4,18
42	Pazar	Atipik	3,39
43	Pazar	Atipik	2,47
44	Pazar	Atipik	3,68
45	Pazar	Atipik	4,51
46	Pazar	Atipik	4,90
47	Pazar	Üreme yok	< 2
48	Pazar	Atipik	5,50
49	Pazar	Atipik	6,48
50	Pazar	Atipik	4,41

Analize alınan örneklerden elde edilen *S. aureus* sayım sonuçları Tablo 6.2’de gösterilmiştir. Buna göre, araştırma sonucunda üreme gözlemlenen marketlerde satılan peynir örneklerinde en düşük ve en yüksek *Staphylococcus aureus* yükü sırasıyla 2,0 ve 6,2 log kob/g düzeyinde iken pazarlarda satılan peynir örneklerinde en düşük ve en yüksek *Staphylococcus aureus* yükü sırasıyla 2,0 ve 6,5 log kob/g bulunmuştur. *Staphylococcus aureus* yükü marketten elde edilen peynirlerde ortalama 3,27 log kob/g, pazardan elde edilen peynirlerde ise 3,97 log kob/g’dir.

İstanbul’da pazar ve marketlerden toplanan peynir örneklerinden elde edilen toplam 45 adet *Staphylococcus aureus* şüpheli izolatının hepsinin atipik olduğu ve bunların 24’ünün (% 53,3) koagülaz testinde pozitif reaksiyon verdiği belirlenmiştir (Tablo 6.2., Tablo 6.3.).

Elde edilen 45 *Staphylococcus aureus* şüpheli izolatından 19 (% 42,2)’sının katalaz pozitif, 39 (% 86,6)’ünün ise mannitol pozitif olduğu tespit edilmiştir.

Elde edilen 45 adet *Staphylococcus aureus* izolatından 28 (% 62,2)’inin DNaz pozitif olduğu tespit edilmiştir.

Elde edilen 45 adet *Staphylococcus aureus* izolatından 20 (% 44,4)’sinin metisilin antibiyotikine karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir.

**Tablo 6.3. İzolatların Bazı Biyokimyasal Test Sonuçları**

Testler	Pozitif sonuç gözlenen izolat sayısı (%)	Negatif sonuç gözlenen izolat sayısı (%)
Koagülaz	24 (% 53,3)	21 (% 46,7)
Katalaz	19 (%42,2)	26 (% 57,8)
DNaz	28 (%62,2)	17 (% 37,8)
MSA	39 (%86,6)	6 (% 13,4)
Metisilin direnci	20 (% 44,4)	25 (% 55,6)

**Tablo 6.4. İzolatların Bazı Biyokimyasal Test Sonuçları**

İZOLAT	Örnek yeri	Tipik/Atipik	Koagülaz	Katalaz	DNAaz	Mannitol Salt Agar	Metisilin Direnci
M 1-1	Market	Atipik	-	+	+	+	-
M 2-1	Market	Atipik	-	+	+	-	-
M 3-3	Market	Atipik	+	-	-	+	-
M 4-1	Market	Atipik	-	+	+	+	+
M 5-1	Market	Atipik	-	-	+	+	-
M 6-3	Market	Atipik	+	-	-	+	-
M 7-3	Market	Atipik	+	+	-	+	-
M 8-1	Market	Atipik	+	+	+	+	-
M 9-3	Market	Atipik	+	-	-	+	+
M 10-1	Market	Atipik	-	-	+	+	-
M 11-1	Market	Atipik	-	-	-	+	-
M 13-1	Market	Atipik	+	-	+	+	+
M 14-1	Market	Atipik	+	+	-	+	-
M 15-1	Market	Atipik	-	-	+	+	+
M 16-3	Market	Atipik	-	-	-	+	+
M 17-1	Market	Atipik	+	-	+	-	-
M 18-3	Market	Atipik	+	-	-	+	-
M 19-3	Market	Atipik	+	-	-	+	-
M 20-1	Market	Atipik	+	+	+	+	-
M 22-1	Market	Atipik	-	+	+	+	+
M 25-1	Market	Atipik	-	+	+	+	+
P 26-1	Pazar	Atipik	+	+	+	+	-
P 27-1	Pazar	Atipik	+	+	+	+	-
P 28-1	Pazar	Atipik	+	+	+	+	-

P 29-1	Pazar	Atipik	+	-	+	+	-
P 30-3	Pazar	Atipik	-	-	+	+	+
P 31-1	Pazar	Atipik	+	+	+	+	+
P 32-3	Pazar	Atipik	+	-	+	+	+
P 33-1	Pazar	Atipik	-	-	+	-	+
P 34-1	Pazar	Atipik	-	-	-	+	-
P 35-1	Pazar	Atipik	+	-	-	+	-
P 36-3	Pazar	Atipik	-	-	-	+	-
P 37-1	Pazar	Atipik	-	-	+	+	-
P 38-3	Pazar	Atipik	-	-	+	+	-
P 39-1	Pazar	Atipik	-	+	-	-	+
P 40-1	Pazar	Atipik	-	-	-	+	+
P 41-1	Pazar	Atipik	+	-	-	+	+
P 42-1	Pazar	Atipik	+	+	+	+	+
P 43-1	Pazar	Atipik	-	-	+	+	-
P 44-1	Pazar	Atipik	-	-	-	+	-
P 45-1	Pazar	Atipik	-	+	+	-	+
P 46-1	Pazar	Atipik	+	+	+	-	+
P 48-1	Pazar	Atipik	+	+	-	+	+
P 49-3	Pazar	Atipik	+	-	+	+	+
P 50-1	Pazar	Atipik	+	+	+	+	+

## 6.2. Örneklerde *Salmonella* spp. varlığı

Çalışma kapsamında *Salmonella* spp. aranması amacıyla analize alınan beyaz peynir örneklerinin 3'ünden *Salmonella* spp. şüpheli kolonisi izole edilmiş ancak yapılan TSI agarda doğrulama testi sonucu izolatların hiçbirinin *Salmonella* spp. olmadığı tespit edilmiştir. Şüpheli izolatların pazarda açıkta satılan beyaz peynir örneklerinden izole edildiği belirlenmiştir.

## 6.3. Örneklerde *Listeria monocytogenes* varlığı

Çalışma kapsamında *Listeria monocytogenes* aranması amacıyla analize alınan beyaz peynir örneklerinin 11'inden *Listeria monocytogenes* şüpheli izolat elde edilmiştir. Şüpheli izolat tespit edilen örneklerin 5 adedinin (% 45.4) marketlerin şarküteri bölümünde satılan, 6 adedinin ise (% 54.6) pazarda açıkta satılan beyaz peynirler olduğu belirlenmiştir.

## 7. TARTIŞMA

Peynir, besin değeri yüksek olan ve toplumun gelişen damak zevki ve isteklerine yanıt verebilecek çok sayıda çeşidiyle önemli bir süt ürünüdür. Sütün pıhtılaştırılıp peynir altı suyunun ayrılmasından sonra pıhtının değişik şekillerde işlenmesiyle elde edilen peynir, taze ya da çeşidine özgü tat, aroma ve yapı kazanması için belirli bir olgunlaşma dönemi geçirdikten sonra tüketime sunulmaktadır. Son yıllarda patojen mikroorganizmalar veya toksinleriyle kontamine olan peynir tüketimi sonucunda zehirlenme ve enfeksiyon vakaları görülebilmektedir Sert (4).

Süte çeşitli kaynaklardan bulaşı olabileceği için çiğ süt oldukça fazla miktarda bakteri içermektedir. Toplam bakteri sayısı fazla olduğunda ısıtma işlem uygulamalarında bu bakterilerin bir kısmı canlı kalabilmektedir. Süt ve süt ürünleri üretimi yapan yerlerde hijyen sanitasyon kurallarına uyulmaması durumunda süte çok miktarda mikroorganizma bulaşabilmektedir ve mikroorganizmalar tarafından kontamine olmuş bu ürünler tüketildiğinde insan sağlığı için tehlike oluşturabilmektedir. Peynir teknolojisinde pastörizasyonun yapılmadığı veya yeterli olmadığı durumlarda *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Brucella*, *Yersinia* gibi patojenlerle kontaminasyon sağlık açısından sorun oluşturabilmektedir Özkaya (50), Topçu (51).

Besin kaynaklı salgınlarda en sık görülen etkenlerden biri olan *Staphylococcus aureus*'un gelişimi ve toksin oluşturması için uygun bir ortam olan peynirlerin uygun olmayan koşullarda hazırlanması ve tüketime sunulması halk sağlığı açısından risk oluşturabilmektedir Topçu (51), Demiret (52).

Yapılan çalışmada analize alınan peynir örneklerinin 45 adedinde ortalama 3,62 log kob/g düzeyinde *S. aureus* olduğu belirlenmiştir. Bu örneklerden elde edilen 45 adet *S. aureus* izolatlarının 24 adedinin koagulaz pozitif, 19 adedinin katalaz pozitif, 39 adedinin mannitol pozitif, 20 adedinin metisiline dirençli oldukları tespit edilmiştir. Patojenite potansiyeli görülen bu *S. aureus* izolatları genellikle pazardan alınan peynirlerden elde edilmiştir. Çalışmada saptanan *S. aureus*, işletmenin alet ve ekipmanının yeterli düzeyde temiz ve hijyenik olmamasından, personel hijyeninin yeterli olmamasından, peynirlerin yeterli pastörizasyon ısısında pastörize edilmemesinden kaynaklanıyor olabilir. Türk Gıda Kodeksi'nin 2015/6 tebliğ no'lu

Peynir Tebliği'ne ve 2011 sayılı Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne göre beyaz peynirlerde *Staphylococcus aureus* için üst sınır  $10^3$  kob/g olarak belirtilmiştir Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği (18).

İncelenen peynir örneklerinin toplamda %78'inde üst sınırdan daha fazla *Staphylococcus aureus* üremesi gözlenmiştir. Marketlerin şarküteri bölümünden alınan beyaz peynir örneklerinde %68'inin üst sınır olan  $10^3$  kob/g değerini geçtiği görülmüştür. Pazarda açıkta satılan beyaz peynirlerinin ise %88'inin üst sınır olan  $10^3$  kob/g değerini geçtiği görülmüştür.

Türkiye dahil olmak üzere dünyanın çeşitli ülkelerinde süt ve çeşitli tip peynirlerde *S. aureus* varlığı ve patojenite oluşturma özellikleri ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır.

Çiğ süt ve beyaz peynirlerde koagülaz pozitif *S. aureus* araştırması yapılan bir çalışmada analize alınan peynir örneklerinin toplam 60 adet peynir örneğinin 40 adedinde 102 ile 107 düzeyi arasında *S.aureus* olduğu belirlenmiştir. Bu izolatların 18 adedinin koagülaz pozitif oldukları tespit edilmiştir Yıldırım (53).

Metisiline dirençli *S. aureus* enfeksiyonları ülkemizde ve tüm dünyada yaygın olup, prevalansı ülkeler arasında oldukça farklılık göstermektedir. Kuzey Avrupa ülkelerinde MRSA prevalansı % 1'in altındadır. Güney Avrupa ülkelerinde ve Amerika Birleşik Devletleri'nde % 5-40, Japonya'da % 60'lara çıkmıştır Normanno (54).

Yücel ve Anıl (2011) yaptıkları çalışmada Ankara ilinde çeşitli firma ve mandıralardan temin edilen çiğ süt ve peynir örneklerinde koagülaz pozitif stafilocok, koagülaz negatif stafilocokların bulunma sıklığı ve bu suşların antimikrobiyal dirençliliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. İncelenen çiğ süt ve peynir örneklerinden 236'sı koagülaz pozitif stafilocok, 94'ü koagülaz negatif stafilocok olmak üzere toplam 330 stafilocok izolatı elde edilmiştir. Koagülaz pozitif stafilocok türleri içinde çiğ süt ve peynir örneklerinde sırasıyla en fazla *Staphylococcus intermedius* (% 40,0 - % 44,3) ve *Staphylococcus aureus* (% 35,0 - % 20,2) tespit edilmiştir Yücel (55).



Ankara ve çevresinde tüketime sunulan 90 peynir örneği üzerinden yürütülen ve stafilocok türlerinin dağılımı ile çeşitli antibiyotiklere direnç profillerini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, peynir örneklerinden izole edilen toplam 87 izolatın 79'unun koagulaz pozitif oldukları tespit edilmiştir Yücel (55).

De Luca ve ark. (1997), İtalya'nın Bologna bölgesindeki marketlerde satılan 135 peynir örneğini (34 mavi peynir, 36 Cottage peyniri, 12 Mozzarella peyniri, 53 Cammembert peyniri) *S. aureus* varlığı yönünden incelediklerinde, örneklerin 22'sinde (% 16,3) *S. aureus* tespit edilmistir. Çalışma ile benzer şekilde *S. aureus*'u103 ile105 kob/g arasında değişen düzeylerde tespit etmişlerdir De Luca (56).

Goudarzi ve ark (2014), İran'da yaptıkları çalışmada 100 örnekte enterotoksijenik *Staphylococcus aureus* yaygınlığını araştırmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda bütün örneklerin % 27'sinde *Staphylococcus aureus* bulunduğu tespit edilmiştir Goudarzi (57).

Yapılan çalışmalar ile bizim yaptığımız çalışmanın sonuçları benzerlik göstermektedir. *S. aureus* varlığı ve patojenitesi ile ilgili çalışmalar genellikle peynir örnekleri üzerinden yürütülmektedir. Çünkü zehirlenmelerinin en çok görüldüğü süt ürünü peynirdir. Çalışmaların ortak sonucu, ülkemizde peynirlerin üretiminin ve tüketiminin yüksek olduğu ve çoğunun kontrolsüz bir şekilde üretilmesine bağlı olarak mikroflorasının yapım sırasında değiştiği yönündedir. Sütten peynir yapımında starter peynirin olgunlaşma süresi önemlidir. Çiğ süttten yapılan peynirler halk sağlığı riski taşır, fakat yetersiz pastörizasyon yapılması, çiğ süte mastisit dolasıyla *S. aureus* bulaşısı veya ekipman ve personel kaynaklı kontaminasyon nedeniyle pastörize süt ve diğer süt ürünlerinde de bulunabilmektedir.

Yapılan çalışmada analize alınan toplam 50 adet peynir örneğinin 11 adedinde *Listeria monocytogenes* izole edilirken örneklerin hiçbirinde *Salmonella*'ya rastlanmamıştır. Şüpheli izolat tespit edilen örneklerin 5 adedinin (%45.4) marketlerin şarküteri bölümünde satılan; 6 adedinin ise (% 54.6) pazarda açıkta satılan beyaz peynirler olduğu belirlenmiştir. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'ne göre beyaz peynirlerde 25 g'da *Listeria monocytogenes* bulunmamalıdır Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği (18).

Bizim çalışmamız ile benzer şekilde, Kaynar ve arkadaşları Ankara'da tüketime sunulan beyaz peynirlerin hijyenik kalitelerinin araştırılması üzerine yaptıkları bir çalışmada analize alınan 30 adet peynir örneğinin 6 adedinde *Listeria monocytogenes* izole edilirken hiçbirinde *Salmonella* spp. bulunmadığı ve bu durumun da beyaz peynirlerin *Salmonella* spp. içeren bir etkenle çapraz kontaminasyona uğramadığından kaynaklanabileceği bildirilmiştir Kaynar (58).

Kaynar bu çalışmasında *Listeria monocytogenes* etkeninin çiftlikteki çevre materyallerinden ve işleme yüzeylerinden bulaşabileceğini, işletmedeki süt işleme makineleri, peynir salamura düzenlerinin, preslerin ve peynir yıkama düzenlerinin *L. monocytogenes*'in izole edilebileceği kaynaklar olabileceğini bildirmiştir Kaynar (58).

Akkaya ve Alişarlı yaptıkları çalışmada Afyonkarahisar'da tüketime sunulan Peynirlerde *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* spp. varlığı belirlemeye çalışmışlardır. Afyonkarahisar il merkezinde bulunan semt pazarlarından satın alınan 100 adet beyaz peynir örneğinde *Listeria monocytogenes* ile *Salmonella* spp.'nin varlığı ve yaygınlığı araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda analize alınan 100 adet peynir örneğinin % 6'sında *L. monocytogenes* ve % 2'sinde *Salmonella* spp. tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu sonucu Afyonkarahisar'da peynirlerin geleneksel olarak çiğ süttten yapılması ve henüz olgunlaşmadan satışa sunulması, semt pazarlarında satılan peynirlerin genellikle köylerde hijyenik olmayan koşullar altında üretilen peynirler olması, pazarlamanın hijyenik olmayan ortamlarda, oda ısısında ve üstü açık olarak yapılmasına bağlamışlardır Akkaya (2).

Keskin ve ark (2006), yaptıkları çalışmada İstanbul ilindeki semt pazarında satılan beyaz peynirlerin mikrobiyolojik kalitesinin araştırmışlardır. İstanbul'un bir semt pazarından sağlanan beyaz peynir örneklerinde koliform bakteriler, *E. coli*, *S. aureus*, *Clostridium perfringens*, küf ve maya görülmüştür. Örneklerde *Salmonella* ve *L. monocytogenes*'e rastlanılmamıştır Keskin (25).

Tümbay ve arkadaşları inceledikleri 323 adet peynir örneğinin 19 adedinde *Listeria* türleri izole etmişlerdir. Elde edilen 19 şustan 3 adedinin *L. monocytogenes* olduğunu tespit etmişlerdir Gülmez (59).

İzmir ili ve çevresinde yaptıkları bir çalışmada satılan 82 beyaz peynir örneğinin % 13,4'ünden *L. monocytogenes* bulunduğunu saptamışlardır Yerlikaya (11).

Gülmez ve ark. (2001), Kars ilinde satışa sunulan taze ve salamura beyaz peynir ile çeçil peyniri örneklerini *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Listeria* türleri yönünden incelemişlerdir. İnceleme sonucunda; taze peynir örneklerinin % 5'inde *C. jejuni* ve % 15'inde *Listeria* türlerine (*L. monocytogenes* % 5'inde, *L. innocua* % 5'inde, hem *L. monocytogenes* hem de *L. innocua* % 5'inde) rastlanılmıştır. Peynir örneklerinin hiçbirinde *Salmonella* bulunmamıştır. Salamura beyaz peynir örneklerinde ise *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Listeria*, çeçil peyniri örneklerinde *Campylobacter* ve *Salmonella* türlerinin bulunmadığı belirlenmiştir Gülmez (59).

Afyonkarahisar'da yapılan beyaz peynirlerin *Listeria* türleri prevelans araştırması sonucunda 5 ayrı süt işletmesinden alınan 600 adet numunenin 69'unda kontaminasyon belirlenmiştir. Bu durumun özellikle üretim alanı dışına çıktığında (tuvaletler, depolar, fabrika dışı vb.) gerekli hijyen ve sanitasyon kurallarına riayet edilmeden fabrika içerisine geri dönülmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir Akarca (60).

*L. monocytogenes* toksikasyonlarının yaklaşık olarak % 30'unun üzerinde ölümlerle sonuçlan gıda zehirlenmelerine yol açması, +1 derecenin altında dahi üreme özelliği gösterebilmesi sütte fazla olması durumunda düşük ısılarda pastörizasyon yapıldığında tamamen yıkımlanamaması gibi özellikleri nedeniyle peynirler, bu etken tarafından meydana gelen enfeksiyonlar bakımından riskli gıdalar grubuna girmektedir.

Çalışma kapsamında *Salmonella* spp. aranması amacıyla analize alınan 50 beyaz peynir örneğinin 3'ünden *Salmonella* spp. şüpheli koloni izole edilmiş ancak yapılan TSI agarda doğrulama testi sonucu izolatların *Salmonella* spp. olmadığı tespit edilmiştir. Şüpheli izolatların pazarda açıkta satılan beyaz peynir örneklerinden izole edildiği belirlenmiştir. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'ne göre beyaz peynirlerde 25 g'da *Salmonella* spp. bulunmamalıdır Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği (18).

Coveney ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada, inceledikleri 31 adet peynir örneğinde *Salmonella* spp ve *L. monocytogenes* izole edilmemiştir. Turantaş ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada ise incelenen 38 adet peynir örneğinde *Salmonella* spp ve *L. monocytogenes* tespit edilmemiştir. Bizim bulgularımız da araştırmacıların bulguları ile benzerlik göstermektedir Gülmez (59).

Konu ile ilgili olarak yapılan benzer çalışmalarda tespit edilen sonuçlar, yapmış olduğumuz araştırmadan elde edilen sonuçlar ile karşılaştırıldığında, gıda üretimi yapan tesislerin büyük çoğunluğunda hijyen ve sanitasyon eksikliğinin bulunduğu, özellikle gıda üretiminde çalışan işçilerin kişisel hijyen kurallarına gerektiği kadar uymadığı tespit edilmiştir.

Çalışmanın sonucunda peynir üretim işletmesinde kullanılan sütün pastörize edilmesi, çalışan personelin hijyen eğitimi alması ve hijyen kurallarına uyması, kullanılan alet ve ekipmanların dezenfekte edilmesi, peynirlerin uygun ve hijyenik koşullarda hazırlanması ve soğuk zincir bozulmadan depolanması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.

## 8. SONUÇ

Peynirin mikrobiyolojik kalitesi üzerine ülkemizde yapılan çeşitli araştırmalar sonucunda; üretiminden tüketimine kadar geçen tüm aşamalarda, hijyenik koşullara uyulmasının peynirin mikrobiyolojik kalitesi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

İncelenen 50 adet beyaz peynir örneğinden Baird Parker Agar'a yapılan ekimler sonucu toplam 45 adet örnekte (%90) şüpheli *Staphylococcus* kolonileri yönüyle üreme olduğu belirlenmiştir. Türk Gıda Kodeksinin 2015/6 no'lu peynir tebliğine ve 2011 sayılı mikrobiyolojik kriterler tebliğine göre beyaz peynirlerde *Staphylococcus aureus* için üst sınır  $10^3$  kob/g dır (18). Bu peynirlerin %78'ninin Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliğine uygun olmadığı saptanmıştır. Çalışmada incelenen 50 adet beyaz peynir örneğinin 11'inde (% 22) şüpheli *L. monocytogenes* kontaminasyonu saptanmıştır. Hiçbir beyaz peynir örneğinde *Salmonella* spp. izole edilmemiştir. Bu sonuçlara göre, peynirlerin üretim ve saklama koşullarının hijyenik kurallara uygun olmadığı ve bu nedenle kontaminasyona maruz kaldıkları sonucuna varılmıştır. Tüketime sunulan peynirlerin mikrobiyolojik kriterlere uygunluğunun daha etkin bir şekilde denetlenmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak, sağım aşamasında mastitislerin takibine ve sağıtımına, sağım hijyenine dikkat edilmeli, sütün taşınması ve fabrikada işlenmesine kadar olan tüm aşamalarda sütün soğukta muhafaza edilmeli, peynir üretiminde işletmelerde iyi üretim uygulamalarının (Good Manufacture Practice, GMP) ve sütün sağımından peynir üretimine ve tüketiciye sunulmasına kadar tüm aşamalarda toplam HACCP sisteminin oluşturulması ve uygulamaya konulması gerekmektedir.

## 9. KAYNAKLAR

1. Mansfield LP, Forsythe SJ. Detection of *Salmonellae* in food. Medical Microbiology. 11(1);37-46, 2000.
2. Akkaya L, Alişarlı M. Afyonkarahisar'da Tüketime Sunulan Peynirlerde *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella spp.* Varlığının Belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 17 (1);91-87, 2006.
3. Gündoğan N, Çitak S, Yücel N, Devren A. A Note On the Incidence and Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus* Isolated From Meat and Chicken Samples. Meat Sci. 69; 807-810, 2005.
4. Sert S, Kıvanç M. Erzurum Piyasasında Taze Olarak Tüketime Sunulan Beyaz Peynirlerin Kaliteleri Üzerinde Bir Araştırma. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayını Ziraat Dergisi.; 15(3-4);89-79, 1984.
5. Çağlar A, Coşkun H, Bakırcı İ. Peynirde Patojen Mikroorganizmalar ve Bunların Kontrol Altına Alınmaları. Süt Teknolojisi Dergisi. 1(1); 48-42, 1996
6. Donely CW. Concerns of Microbial Pathogens in Association with Dairy Foods. J. Dairy Sci. 5(73); 16661 -1656, 1990.
7. Fox PF, McSweeney PLH. "Cheese: an overview." Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Elsevier Academic Press. 4(18-1), 2004.
8. Tekinşen O.C. Süt Ürünleri Teknolojisi, Selçuk Üniversitesi Basımevi Konya. 135-140, 2000.
9. Koçak P. Aydın İlindeki Mandıralarda Üretilip Satışa Sunulan Beyaz, Tulum, Kaşar ve Lor Peynirlerinin Mikrobiyolojik Kalitesinin Araştırılması Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2014.
10. Ünsal A. Süt uyuyunca 'Türkiye Peynirleri'. YapıKredi Yayınları. İstanbul, s. 21, 2000.
11. Yerlikaya O. İnsan Beslenmesinde İnek Sütü. Türkiye 10. Gıda Kongresi Erzurum; 21-23 Mayıs 2008.
12. Tekinşen KK, Elmalı M. Taze Civil (Çeçil) Peynirin Bazı Mikrobiyolojik Özellikleri Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi. 1(3-4) ;78-81, 2006.
13. Demirci M, Şimşek O, Taşan M. Ülkemize Yapılan Muhtelif Tip Yerli Peynirler. Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Yayınları. Edirne. 1; 281-273,1994.

14. Çetinkaya, B., Ertaş, H.B., Muz, A. Süt ürünlerinde *Listeria* türlerinin izolasyonu. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 13: 21–25,1999.
15. Güllüce, M., Adıgüzel, A., Algur, Ö.F. Erzurum bölgesinde Temin Edilen Çeşitli Peynir Örneklerinde *Brucella* Antijenlerinin ELİSA ile Saptanması. Türk Mikrobiyoloji Cemiyet Dergisi, 33: 356-360,2003.
16. T.C. Başbakanlık, Devlet Planlama Teşkilatı. Dokuzuncu Beş Yıllık Kalkınma Planı 2007-2013.
17. Oktay H.İ. Peynir, Tereyağı Ve Kumpirde Patojenik Mikrofloranın Belirlenmesi Ve Bazı Patojenlerin Vıdas Yöntemi İle Tayini. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği, İstanbul, Mayıs 2005.
18. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği. Sayı: 24511. Ankara. Tebliğ No: 2001/19. 02.09.2001
19. Polat G. Ankara Piyasasında Satılan Civil Peynirlerinin Mikrobiyolojik, Kimyasal ve Duyusal Niteliklerinin Saptanması. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2001.
20. Heperkan, D., Sarıyar, L., AYTEKİN, A. Peynirlerde *Escherichia coli* Gelişmesi ve Hijyenin Önemi. Animal. 9: 87–95,1994
21. Kıvanç M. Peynirlerden İzole Edilen Koliform Grubu Bakterilerin Tanımlanması. Gıda. 15:99-93, 1990.
22. Pelczar, J.M., Chan, E.C.S., Krieg, N.R. Microbiology: Concepts and Applications, McGraw-Hill Inc., USA,1993.
23. Carrıqe-Mass, J.J., Hokeberg, I., Anderson, Y. Febrile Gastroenteritis After Eating On-farm Manufactured Fresh Cheese-an Outbreak of Listeriosis? J. Epidemiol. Infect.,130: 79,2003.
24. Yetişmeyen A, Yıldız F. Urfa Peynirlerinin Mikrobiyolojik, Kimyasal ve Duyusal Niteliklerinin Saptanması. Gıda Dergisi. 28(3); 294-287, 2003.
25. Keskin Y, Özyaral O, Başkaya R, Susur M. ‘Semt Pazarlarında Satılan Beyaz Peynirlerin Mikrobiyolojik Kalitesinin Araştırılması’. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 36;9-19, 2006.
26. Erol, İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi, Ankara, 2007

27. Korkmaz MY. 'Bazı hazır yemek işletmelerinin üretim zincirinde *Staphylococcus aureus* ve toksininin aranması'. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ABD.Yüksek Lisans Tezi. Erzurum 2012.
28. Waldvogel FA: '*Staphylococcus aureus* (Including *Staphylococcal* Toxic Shock)'. 5th ed. Vol. 2. New York (NY): Churchill Livingstone, 2092–2069, 2000.
29. Cremonesi, P., et al. "Detection of Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* Isolates in Raw Milk Cheese." Letters in Applied Microbiology 45.6: 586-591,2007.
30. Núñez-Hernández, Cristina, et al. "Dormant Intracellular *Salmonella* Enterica Serovar Typhimurium Discriminates Among *Salmonella* Pathogenicity Island 2 Effectors to Persist Inside Fibroblasts." Infection and immunity. 82.1: 221-232,2014.
31. Şireli, Ufuk Tansel. "Salmonella Enfeksiyonlarına Genel Bakış ve Yasal Uygulamalar." Türkiye Klinikleri JVS 1.2: 114-120, 2010.
32. Adams, Deborah, et al. "Summary of Notifiable Infectious Diseases and Conditions—United States, 2013." MMWR. Morbidity and mortality weekly report 62. 53: 1-122, 2014.
33. Jacobson, Andrew Patrick, et al. "Evaluation of Methods to Prepare Samples of Leafy Green Vegetables for Preenrichment with the Bacteriological Analytical Manual Salmonella Culture Method." JFP 75.2 : 400-404,2012.
34. Ünlütürk A. 'Süt ve Süt Ürünlerinde Mikrobiyolojik Bozulmalar, Patojen Mikroorganizmalar ve Muhafaza Yöntemleri'. Ed. Gıda Mikrobiyolojisi. Gıda Mikrobiyolojisi, Mengi Tan Basımevi. 1:289-307,1998.
35. Kim, Jeong Soon, et al. "A novel multiplex PCR assay for rapid and simultaneous detection of five pathogenic bacteria: *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, and *Vibrio parahaemolyticus*." JFP 70.7: 1656-1662,2007.
36. Liu D. 'Identification, Subtyping and Virulence Determination of *Listeria monocytogenes*, an Important Foodborne Pathogen'. JMM 55: 645–659,2006.



37. Koutsoumanis KP, Kendall PA, Sofos JN. 'A comparative study on growth limits of *Listeria monocytogenes* as affected by temperature, pH and aw when grown in suspension or on a solid surface'. *Food Microbiology*. 21: 415-422,2004.
38. McLauchlin J, Mitchell RT, Smerdon WJ, Jewell K. '*Listeria monocytogenes* and Listeriosis: a Review of Hazard Characterisation for Use in Microbiological Risk Assessment of Foods'. *International Journal of Food Microbiology*. 92: 15-33,2004.
39. Kolb-Maurer A, Gentschev H, Fries W, Fiedler F, Brocker EB, Kampgen E, Goebel W. '*Listeria monocytogenes*-Infected Human Dendritic Cells: Uptake and Host Cell Response'. *Infection Immunology*. 68:3680-3688,2004.
40. Ekici K, İşleyici Ö, Sağun E. 'Süt ve Süt Ürünlerinde *Listeria monocytogenes* Varlığı'. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 15 (1-2):97-101, 2004.
41. Roche SM, Kerouanton A, Minet J, Le Monnier A, Brisabois A, Velge P. 'Prevalence of low-virulence *Listeria monocytogenes* strains from different foods and environments'. *International Journal of Food Microbiology*. 130: 151-155, 2009.
42. Ergüllü E. 'Beyaz peynirlerin olgunlaşması sırasında mikrofloranın, özellikle gaz yapan bakterilerin değişimi üzerine araştırmalar'. *Ege Üniv. Ziraat Fakültesi Dergisi*, s. 21, 1980.
43. Rhoades JR, Duffy G, Koutsoumanis K. 'Prevalence and Concentration of Verocytotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in the Beef Production Chain: a Review'. *Food Microbiology*, 26: 357-376, 2009.
44. Voetsch AC, Angulo FJ, Jones TF. 'Reduction in the incidence of invasive listeriosis in foodborne diseases active surveillance network sites', 1996-2003. *Clinical Infection Disease*. 44: 513-520, 2007.
45. Bilgehan H. *Klinik Mikrobiyoloji*. S.15-5. 9. Baskı, Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, İzmir, 1996.
46. Temiz A. *Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri*, s.125-120. 5. Baskı, Hatiboğlu Yayınevi, Alp Ofset Matbaacılık Ltd. Şti. Ankara, 2010.

47. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods: Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6. baskı, Lippincott Williams & Wilkins, UK. 648-624, 2006.
48. Chapman, G.H.. The significance of sodium chloride in studies of staphylococci. J.Bacteriol. 50: 201-203; 1945.
49. Cesur S, Yildiz E, Irmak H, Aygün Z, Karakoç E, Kinikli S. ve ark. 'Evaluation of oxacillin resistance screening agar and chromogenic MRSA agar media for the detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* clinical isolates'. *Mikrobiyoloji bülteni*. 44(2);284-279, 2010.
50. Özkaya FD, Cömert M. 'Gıda Zehirlenmelerinde Etken Faktörler'. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*. 65(3);158-149, 2008.
51. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. 'Enfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi'. s.1070-1064. İstanbul Nobel Tıp Kitapevleri, 2008.
52. Demiret NN, Karapınar M. 'Süt ve süt ürünleri sempozyumu tebliğler kitabı. Süt mikrobiyolojisi ve katkı maddeleri'. s.85-78. Rebel Yayıncılık. 4th Ed.: Prof. Dr. Mehmet Demirci: İstanbul, 2000.
53. Yıldırım T, Sırken B, Çiğ Süt ve Peynirlerde Koagülaz Pozitif Stafilocoklar Vet. Hekim Der. Derg: 87(2): 3-12, 2016.
54. Normanno, G., La Salandra, G., Dambrosio, A., Quaglia, Nc., Corrente, M., Parisi, A.; et al. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. *Int J Food Microbiol*, 115: 290–6; 2007.
55. Yücel N, Anıl Y.; Çiğ süt ve peynir örneklerinden *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilocokların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılığı. *Türk Hij Den Biol Derg*, 68(2): 73–8; 2001.
56. D Luca, G Zanetti. '*Staphylococcus aureus* in Dairy Products in the Bologna area'. *Int. J. Food Microbiol*. 35: 267-270, 1997.
57. Goudarzi Mehdi, et al. "Characterization of Coagulase-Negative *Staphylococci* Isolated from Hospitalized Patients in Tehran, Iran." *JPS* 5.2, 2014.
58. Kaynar P. 'Ülkemiz Peynirleri Üzerine Mikrobiyolojik Araştırmalar'. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*. 41(1):1-8, 2011.

59. Gülmez M, Güven A. 'Beyaz ve Çeçil Peynirlerinde *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Listeria* Türlerinin Araştırılması'. Kafkas Üni Vet Fak Derg. 7:155-61, 2001.
60. Akarca G, Tomar O. 'Afyonkarahisar İlinde Faaliyet Gösteren Süt İşletmelerinin Hijyen ve Sanitasyon Koşullarına Uygunluğunun Araştırılması'. Kocatepe Vet J. 8(2):27-35, 2015.



## 10. ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Elif Bilge	<b>Soyadı</b>	ÇAĞLAYAN
<b>Doğum Yeri</b>	İstanbul/Fatih	<b>Doğum Tarihi</b>	29.12.1993

### Eğitim Durumu

	<b>Mezun Olduğu Kurumun Adı</b>	<b>Mezuniyet Yılı</b>
<b>Lisans</b>	İstanbul Medipol Üniversitesi	2015
<b>Lise</b>	Özel Topkapı Fetih Anadolu Lisesi	2011

<b>Yabancı Dilleri</b>	<b>Okuduğunu Anlama</b>	<b>Konuşma</b>	<b>Yazma</b>
<b>İngilizce</b>	Orta	Orta	Orta
<b>İspanyolca</b>	Zayıf	Zayıf	Zayıf

	<b>Sayısal</b>	<b>Eşit Ağırlık</b>	<b>Sözel</b>
<b>ALES Puanı</b>	78	76	72,14
<b>(Diğer) Puanı</b>			

### Bilgisayar Bilgisi

<b>Program</b>	<b>Kullanma Becerisi</b>
Microsoft Office; Excel, Word, Power Point	İyi
Spss	Zayıf