

**DONDURULMUŞ GIDALARDA (ET VE SEBZE) FEKAL KOLİFORM
VE FEKAL STREPTOKOKLARIN VARLIĞI**

Erol KALA

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2006

ANKARA

Erol KALA tarafından hazırlanan DONDURULMUŞ GIDALARDA (ET VE SEBZE) FEKAL KOLİFORM VE FEKAL STREPTOKOKLARIN VARLIĞI adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Yrd. Doç. Dr. Sumru ÇITAK
Tez Yöneticisi

Bu çalışma, jürimiz tarafından BİYOLOJİ Anabilim Dalında Yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: : Prof. Dr. Aykut MISIRLIGİL

Üye : Yrd. Doç. Dr. Sumru ÇITAK

Üye : Prof. Dr. Yavuz BEYATLI

Üye : Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

Üye : Doç. Dr. Nihal YÜCEL

Tarih : 08/06/2006

Bu tez, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygundur.

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Erol KALA

**DONDURULMUŞ GIDALARDA (ET VE SEBZE) FEKAL KOLİFORM VE
FEKAL STREPTOKOKLARIN VARLIĞI
(Yüksek Lisans Tezi)**

Erol KALA

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Haziran 2006**

ÖZET

Araştırmamızda 1.10.2004 – 30.10.2005 tarihleri arasında Ankara'nın çeşitli market ve süpermarketlerinden toplanan dondurulmuş 20 köfte, 20 kıyma, 20 kuşbaşı, 20 brokoli 20 bezelye ve 20 karnıbahar olmak üzere toplam 120 dondurulmuş et ve sebze örneği materyal olarak kullanılmıştır. Toplam 120 dondurulmuş et ve sebze örneğinden izole edilen toplamda 63 Enterococcus izolatu çeşitli biyokimyasal ve karbonhidrat fermentasyonu testleri sonucunda tanımlanarak adlandırılmıştır. Dondurulmuş et ve sebze örneklerinden SB (Slanetz Bartley) besiyerinde izole edilen 40 (%33,3) Fekal Streptokok izolatının 28 (%70)'i *E. faecalis*, 12 (%30)'i *E. faecium*, olarak tanımlanmıştır. Toplam 120 dondurulmuş et ve sebze örneğinden izole edilen 290 Koliform izolatu çeşitli biyokimyasal testler sonucunda 76 (%26,2) *Escherichia coli* izolatu tanımlanarak adlandırılmıştır. Dondurulmuş 60 et örneğinden izole edilen 23 (%38,3) Fekal Streptokok izolatın 17 (%73,9)'si *E. faecalis* ve 6 (%26,1)'sı *E. faecium*, olarak adlandırılmıştır. Buna karşılık da dondurulmuş 60 et örneğinde izole edilen 141 Koliform izolatu çeşitli biyokimyasal testler sonucu 31 (%22) *Escherichia coli* izolatu tanımlanıp adlandırılmıştır. Dondurulmuş 60 sebze örneğinden izole edilen 17 (%28,3) Fekal Streptokok izolatının 11(%64,7)'i *E. faecalis*, ve 6 (%35,3)'sı *E. faecium* olarak tanımlanmıştır. Dondurulmuş 60 sebze örneğinden izole edilen 149 Koliform izolatu biyokimyasal testler sonucu

45 (%30,2) *Escherichia coli* izolatu tanımlanıp adlandırılmıştır. Ayrıca alışmamızda, dondurulmuş et ve sebze örneklerindeki Toplam aerob ve *Staphylococcus aureus* sayıları değerlendirilmiştir.

Bilim Kodu : 203.1.010
Anahtar Kelimeler : Dondurulmuş et ve sebze, Fekal Streptokok, Koliform *E.coli*
Sayfa Adedi : 88
Tez Yöneticisi : Yrd. Doç. Dr. Sumru ÇITAK

**EXISTENCE OF FAECAL COLIFORMS and FAECAL STREPTOCOCCI IN
FROZEN FOOD (MEAT and VEGETABLES) PRODUCTS**

(M.Sc. Thesis)

Erol KALA

**GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

June 2006

ABSTRACT

In this study, frozen 20 meatball, 20 ground meat, 20 meat cut in small chunks, 20 broccoli, 20 peas and 20 cauliflower, in total 120 meat and vegetable samples collected from various supermarket of Ankara between dates of 1.10.2004 – 30.10.2005. isolated 63 isolates were identified as belonging to the genus *Enterococcus*. 40 (%33,3) Faecal streptococci isolates isolated from frozen meat and vegetable samples, after carbohydrate and biochemical tests isolates were identified as 28 (%70) *E. faecalis* and 12 (%30) *E. faecium*. After identification procedures used on 290 Koliform isolates, isolated from frozen meat and vegetable samples 76 (%26.2) isolates were identified as *Escherichia coli*. 23(%38,3) isolates isolated from 60 meat samples as belonging to faecal streptococci were identified as 17 (%73,9) *E. faecalis* ve 6 (%26,1) *E. faecium*. Reply to faecal streptococci counts, after identification procedures used with all 141 Koliform isolates isolated from 60 meat samples, 31 (%22) isolates were identified as *Escherichia coli*. 17 (%28,3) isolates isolated from 60 vegetable samples as belonging to faecal streptococci, were identified as 11(%64,7) *E. faecalis*, ve 6 (%35,3) *E. faecium*. Again reply to faecal streptococci counts, after identification procedures used with all 149 Coliform isolates, isolated from 60 vegetable samples 45 (%30,2) isolates were identified as *Escherichia coli*.

Total aerob and *Staphylococcus aureus* counts have been also evaluated in this study.

Science Code : 203.1.010

**Key Words : Frozen meat and vegetables, Enterococcus, Coliform,
*E. coli***

Page Number: 88

Adviser : Assoc. Doc. Dr. Sumru ÇITAK

TEŞEKKÜR

Bu araştırma konusunun seşiminde ve çalışmamın yşrştşlmesinde beni yşnlendiren, değerli şneri ve yardımlarını esirgemeyen sayın Hocam Yrd. Doç. Dr. Sumru ÇITAK'a, çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen hocalarım Yrd. Doç.Dr. Neslihan GşNDOğAN ve Doç. Dr. Nihal YşCEL'e teŐekkřrř bir borç bilirim. Uzakta olsalar bile her zaman destek ve anlayışlarıyla yanımda olan değerli babam Őani KALA, sevgili annem Tşrkan KALA ve çok sevdiğim niŐanlım Derya KAZAZ'a ve ayrıca çalışmalarım boyunca katkı ve desteklerinden dolayı tşm çalışma arkadaşlarıma sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	8
2.1. Koliform Mikroorganizmalar, Fekal Koliformlar Mikroorganizmalar ve <i>Escherichia coli</i>	8
2.1.1. Koliform mikroorganizmalar.....	8
2.1.2. Fekal koliform mikroorganizmalar.....	11
2.1.3. <i>Escherichia coli</i>	13
2.1.4. <i>Escherichia coli</i> 'nin gıdalardaki önemi.....	18
2.2. <i>Enterococcus</i> 'lar.....	21
2.2.1. <i>Enterococcus</i> 'ların morfolojisi.....	23
2.2.2. <i>Enterococcus</i> 'ların izolasyonu.....	25
2.2.3. <i>Enterococcus</i> 'ların identifikasyonu.....	26
2.2.4. Tiplendirme yöntemleri.....	27
2.2.5. <i>Enterococcus</i> 'ların neden olduğu enfeksiyonlar.....	29
2.2.6. <i>Enterococcus</i> 'ların indikatör olarak önemi.....	30
2.2.7. <i>Enterococcus</i> 'ların gıdalardaki önemi.....	32
2.2.8. Dondurulmuş gıdalarda <i>enterococcus</i> ve <i>e.coli</i> 'nin önemi.....	37

	Sayfa
3. MATERYAL VE METOD	40
3.1. Dondurulmuş Et ve Sebze Örneklerinde <i>Enterococcus</i> 'ların İzolasyon ve İdentifikasyonunda Kullanılan Yöntemler	40
3.1.1. Örnek alma ve örnekleri analize hazırlama	40
3.1.2. <i>Enterococcus</i> 'ların izolasyonunda kullanılan yöntemler.....	40
3.1.3. <i>Enterococcus</i> 'ların identifikasyonunda kullanılan yöntemler.....	41
3.1.4. <i>Enterococcus</i> 'ların izolasyon ve identifikasyonunda kullanılan besiyerleri ve testler.....	41
3.2. Dondurulmuş Et ve Sebze Örneklerinden Fekal Koliformların İzolasyonunda Kullanılan Yöntemler.....	48
3.2.1. Fekal koliformların izolasyon ve identifikasyonunda kullanılan besiyerleri ve testler.....	49
4. BULGULAR	55
4.1. VRBA ve BGLB Besiyerlerinden İzole Edilen Koliform, Fekal Koliform ve SB Besiyerinden İzole Edilen <i>Enterococcus</i> Türlerinin Dağılımı.....	55
5. SONUÇ	68
KAYNAKLAR.....	79
ÖZGEÇMİŞ.....	88

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Türk Standartlar Enstitüsünce belirlenen bazı sebzelerin ambalaj, depolama ve saklama koşulları.....	3
Çizelge 1.2. Türk Standartlar Enstitüsünce belirlenen bazı kırmızı ve beyaz etlerin saklama süreleri, depolama sıcaklıkları ve hazırlama yöntemleri.....	3
Çizelge 1.3. ICMSF 1978 gıdalardaki mikrobiyolojik ayrıntılar konusunda uluslar arası komisyona ve TSE (1999-2003) standartlarına göre dondurulmuş et ve et ürünlerinde mikrobiyolojik kriterler	5
Çizelge 1.4. ICMSF 1978 gıdalardaki mikrobiyolojik ayrıntılar konusunda Uluslar arası komisyona ve TSE (1999-2003) standartlarına göre dondurulmuş sebzelerde mikrobiyolojik kriterler.....	6
Çizelge 2.1. Koliform gurubu bazı bakterilerin İMVİC test sonuçları.....	9
Çizelge 2.2. <i>Enterobacteriaceae</i> familyası üyelerinin bazı özellikleri.....	12
Çizelge 2.3. <i>Enterococcus</i> türlerinin ayırıcı özellikleri.....	25
Çizelge 4.1. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş et ve sebze örneklerinin çeşidi ve sayısı.....	55
Çizelge 4.2. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş et ve sebze örneklerinden izole edilen toplam koliform mikroorganizma dağılımı.....	56
Çizelge 4.3. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş et ve sebze örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> dağılımı.....	56
Çizelge 4.4. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş et ve sebze örneklerinden izole edilen <i>Enterococcus</i> dağılımı.....	57
Çizelge 4.5. SB besiyerinden izole edilen <i>Enterococcus</i> türlerinin tanımlanmasında kullanılan biyokimyasal testler.....	57
Çizelge 4.6. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş et ve sebze örneklerinden izole edilen <i>Enterococcus</i> tür dağılımı.....	58

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.7. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 köfte örneğinde Toplam aerob, Koliform, <i>Enterococcus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> sayımlarının dağılımı.....	59
Çizelge 4.8. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 kıyma örneğinde Toplam aerob, Koliform, <i>Enterococcus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> sayımlarının dağılımı.....	60
Çizelge 4.9. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 kuşbaşı örneğinde Toplam aerob, Koliform, <i>Enterococcus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> sayımlarının dağılımı.....	61
Çizelge 4.10. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 brokoli örneğinde Toplam aerob, Koliform, <i>Enterococcus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> sayımlarının dağılımı.....	62
Çizelge 4.11. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 bezelye örneğinde Toplam aerob, Koliform, <i>Enterococcus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> sayımlarının dağılımı.....	63
Çizelge 4.12. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 karnabahar örneğinde Toplam aerob, Koliform, <i>Enterococcus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> sayımlarının dağılımı.....	64
Çizelge 4.13. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 köfte örneğinden izole edilen Fekal koliform, <i>Enterococcus faecalis</i> ve <i>Enterococcus faecium</i> dağılımı.....	65
Çizelge 4.14. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 kıyma örneğinden izole edilen Fekal koliform, <i>Enterococcus faecalis</i> ve <i>Enterococcus faecium</i> dağılımı.....	65
Çizelge 4.15. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 kuşbaşı örneğinden izole edilen Fekal koliform, <i>Enterococcus faecalis</i> ve <i>Enterococcus faecium</i> dağılımı.....	66
Çizelge 4.16. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 brokoli örneğinden izole edilen Fekal koliform, <i>Enterococcus faecalis</i> ve <i>Enterococcus faecium</i> dağılımı.....	66
Çizelge 4.17. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 bezelye örneğinden izole edilen Fekal koliform, <i>Enterococcus faecalis</i> ve <i>Enterococcus faecium</i> dağılımı.....	67

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.18. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 karnabahar örneğinden izole edilen Fekal koliform, <i>Enterococcus faecalis</i> ve <i>Enterococcus faecium</i> dağılımı.....	67

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
°C	Santigrat derece
D	Değişken
gr	Gram
ml	Mililitre
pH	Asitlik değeri
µg	Mikrogram
α	Alfa
β	Beta
+	Pozitif
—	Negatif

Kısaltmalar	Açıklama
MR	Metil – Red
PYR	Pirolidonil arilamidaz
VP	Voges – Proskauer

1. GİRİŞ

Dünyadaki ve ülkemizdeki ekonomik gelişmeye paralel olarak toplumlarda hızlı şehirleşme ve endüstrileşme sonucunda tüketim mallarında çeşitlilik, en iyi kalite istemi aranmaya başlanmıştır[Cemeroğlu ve Acar, 1986]. Tüm bu değişiklikler ülkelerin yiyeceklerinin de değişmesine neden olmuştur[Facklam ve Washington 1991]. Yaşam tarzının farklılaşması ve özellikle damak zevkinin değişmesi piyasada farklı yiyeceklerin görülmesine, dolayısıyla işlenmiş gıda sanayinin gelişmesine olanak sağlamıştır. Özellikle büyük kentlerde tüketici, besinleri hazır ve işlenmiş olarak tüketmeye başlamıştır[Pala, 1983].

İnsanlar besin ihtiyacını karşılamak amacıyla besin işleme ve saklama teknikleri geliştirmişlerdir. Genel olarak taze besinlere uygulanan saklama yöntemlerinden biri de “dondurma yöntemi” dir. Dondurma, besinin özelliğini tazeye en yakın olarak koruyan bir yöntemdir[Bilgin ve Yenitaş, 1992]. Belli sıcaklık derecelerinde besinlerdeki sebest suyun mikroorganizmalar tarafından kullanışsız hale gelmesine kimyasal, biyokimyasal ve mikrobiyal faaliyetinin minimum düzeye indirgenmesine neden olur[Bilgin ve Yenitaş, 1992].

Türkiye'nin sanayi tesislerinde ürünler soğuk hava ile “Sharp Freezing” (Hızlı Dondurma) yöntemi yada “Individual Quick Freezing” (IQF) (bireysel hızlı dondurma) yöntemi ile dondurulmaktadır[Ulusoy, 1994]. Dondurma işleminin en önemli amacı, gıdaların doğal yapısının mümkün olduğu oranda korunmasıdır. Bu nedenle dondurma işlemi için kullanılan hammaddelerin gerekli tazelik özelliklere sahip olması ve ürünün doğal yapısını bozabilecek kimyasal, biyokimyasal ve mikrobiyolojik aktivitenin önlenmesi için de gerekli teknik ekipmanın kullanımı önemlidir[Güneş ve Keskin, 1999].

Gıda içeriğindeki besin maddelerinin korunması, su içeriğinin belirli bir oranın altına inmemesine ve hücrelerin zarar görmemesine bağlıdır. Bunlara dikkat edildiği sürece, besinlerin dondurulması işleminde besin değerinden herhangi bir kayıp olmuyor. Çünkü dondurma işlemi, nütrientlerin kendisine herhangi bir zarar

vermiyor. İyi kalitede donmuş bir ürün, iyi kalitede bir hammaddenin dışında özenli bir hazırlama, paketlenme ve uygun bir dondurma işlemi gerektirir[Erkaya, 1994].

Genel olarak besinlerin paketlenmesi, dış etkenlerden korunması amacıyla üretimden tüketime kadar geçen sürede niteliklerin değişmesini kısmen veya tamamen önleyen, renk ve şekil bakımından alıcının ilgisini çekebilen maddelerle bozulmalarının önlenmesi ve niteliklerin korunması için tekniğine ve amacına uygun bir şekilde sarılma işlemidir[Müftügil ve Yiğit, 1984].

Dondurulmuş besinlerin paketlenmesinde teneke, kağıt, mukavva, iç yüzü selülozla kaplanmış alüminyum folyo'lar, polietilen, polipropilen ve plastik filmlerle kaplı, vaks kaplı kağıtlar kullanılmaktadır[Kundakçı, 1990]. Uygun ambalajlama dondurulma işleminden önce yapılmalıdır. Nem ve gaz geçirgenliği uygun olmayan bir ambalaj, besin yüzeyinde su kaybına, renk, lezzet ve yapıda bozulmalara neden olmaktadır[Dore, 1991].

Besinlerin dondurulmasında soğutma ne kadar hızlı yapılıp, dondurulmaya geçirilirse kalite o kadar iyi olmaktadır[Erkaya, 1994].

Ülkemizde dondurulmuş sebze, kırmızı ve beyaz etlerin paketlenmesi sırasında uygulanması gereken ambalaj özellikleri, depolama sıcaklıkları ve ürün özellikleri Çizelge 1.1 ve Çizelge 1.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. Türk Standartları Enstitüsünce belirlenen bazı sebzelerin ambalaj, depolama ve saklama koşulları

Ürünün adı	Raf ömrü	Ambalaj özellikleri	Depolama sıcaklığı	Ürün özellikleri
Patates	2 yıl	Polietilen torba	Min. – 18°C	Ayıklanmış, yıkanmış, ön kızartma yapılmış
Soğan	2 yıl	Polietilen torba	Min. – 18°C	Ayıklanmış, yıkanmış, küp şeklinde doğranmış
Brokoli	2 yıl	Polietilen torba	Min. – 18°C	Ayıklanmış, yıkanmış
Bezelye	2 yıl	Polietilen torba	Min. – 18°C	Ayıklanmış, yıkanmış
Ispanak	2 yıl	Polietilen torba	Min. – 18°C	Ayıklanmış, yıkanmış
Taze fasulye	2 yıl	Polietilen torba	Min. – 18°C	Ayıklanmış, yıkanmış
Bamya	2 yıl	Polietilen torba	Min. – 18°C	Ayıklanmış, yıkanmış

Çizelge 1.2. Türk Standartları Enstitüsünce belirlenen bazı kırmızı ve beyaz etlerin saklama süreleri, depolama sıcaklıkları ve hazırlama yöntemleri

Ürünün adı	Raf ömrü	Depolama sıcaklığı	Hazırlama Yöntemleri
Dana (parça)	12 ay	- 18, - 25°C	Porsiyonlara ayrılır, paketlenir.
Dana (kıyma)	10 – 12 ay	- 18, - 25°C	Porsiyonlara ayrılır, paketlenir.
Koyun, Kuzu (parça)	9 – 10 ay	- 18, - 25°C	Porsiyonlara ayrılır, paketlenir.
Tavuk – Piliç	10 – 12 ay	- 18, - 25°C	Bütün veya porsiyonlara ayrılır, paketlenir.
Balık (yağlı)	4 – 8 ay	- 18, - 25°C	Tane veya porsiyonlara ayrılır, temizlenir, paketlenir.
Balık (yağsız)	8 – 18 ay	- 18, - 25°C	Tane veya porsiyonlara ayrılır, temizlenir, paketlenir.
Karides	6 – 12 ay	- 18, - 25°C	Porsiyonlara ayrılır, temizlenir, yıkanır, paketlenir.

Dondurulmuş Gıdalara Mikroorganizmaların Bulaşması

Dondurulmuş gıdalarda mikrobiyal bulaşma genellikle ambalaj oluşumuyla kendini göstermektedir. Bunun dışında dondurulmuş gıdalarda işlem uygulaması sırasında personelin hijyen yetersizliği sonucu özellikle fekal mikroorganizmaların gıdalara bulaşması söz konusu olmaktadır. Alet ve ekipmanlar da olası bir kontaminasyon kaynağı olarak gösterilmektedir. Ayrıca tüketime sunulan raflardaki dondurulmuş gıdalara yeterince soğutma işlemlerinin uygulanmaması sonucu inhibe edilmiş olan mikroorganizmaların tekrar üremesine sebep olur. Paketlerde meydana gelen bozulmalar sonucu da mikroorganizmaların tekrar ürüne geçmesine sebep olmaktadır[Karaboz ve Dinçer, 2002].

Tüketime Sunulan Dondurulmuş Gıdalarda Bakteriyolojik Kriterler

Çizelge 1.3. ICMSF (International Commission on Microbiological Specification for Foods) 1978 Gıdalardaki Mikrobiyolojik Ayrıntılar Konusunda Uluslararası Komisyon'una ve TSE (1990 – 2003) standartlarına göre dondurulmuş et ve et ürünlerinde mikrobiyolojik kriterler

Gıda	c	m	M
Dondurulmuş kemiksiz et			
Toplam canlı sayısı	3	5×10^5	10^7
Salmonella	1 (0)	0	0
Dondurulmuş kıyma			
Salmonella	1 (0)	0	0
Dondurulmuş çiğ karides ve istakoz			
Toplam canlı sayısı	3	10^6	10^7
Fekal koliform sayısı	3	4	400
<i>S.aureus</i>	3	10^3	2×10^3
<i>V. parahaemolyticus</i>	0	10^2	10^2
Dondurulmuş çiğ balık filetosu			
Toplam canlı sayısı	3	10^6	10^7
Fekal koliform sayısı	3	4	400
<i>S. aureus</i>	3	10^3	2×10^3
Dondurulmuş tavuk eti			
Toplam canlı sayısı	3	5×10^5	10^7
Salmonella	1	0	0
Taze dondurulmuş et ürünlerinde mikrobiyolojik kriterler			
Toplam canlı sayısı		$\leq 5 \times 10^6$ adet/g	
Koliform sayısı		$\leq 5 \times 10^2$ adet/g	
<i>E. coli</i>		≤ 50	
<i>S. aureus</i>		$\leq 5 \times 10^2$ adet/g	
<i>Salmonella</i>		Bulunmamalı	
<i>C. perfringens</i>		Bulunmamalı	
Maya		$\leq 5 \times 10^6$ adet/g	
Küf		$\leq 5 \times 10^5$ adet/g	

Çizelge 1.4. ICMSF (International Commission on Microbiological Specification for Foods) 1978 Gıdalardaki Mikrobiyolojik Ayrıntılar Konusunda Uluslar arası Komisyon'una ve TSE (1990 – 2003) standartlarına göre dondurulmuş sebzelerde mikrobiyolojik kriterler

Gıda	c	m	M
Çiğ olarak tüketilen dondurulmuş sebze			
<i>E. coli</i>	2	10	10 ²
<i>Salmonella</i>	0	0	0
Dondurulmuş kıyma			
Toplam mesofilik aerobik bakteri	2	10 ⁵	2 x 10 ⁵
<i>E. coli</i>	0	0	0
<i>Salmonella</i>	0	0	0
Maya – Küf	0	10 ²	10 ²
Dondurulmuş sakız kabağı, lahana, bezelye, havuç, patlıcan			
Koliform sayısı			≤ 10 ² adet/g
Küf sayısı			≤ 10 ³ adet/g
<i>E. coli</i>			Bulunmamalı
<i>S. aureus</i>			Bulunmamalı
<i>Salmonella</i>			Bulunmamalı
Dondurulmuş karnabahar, pırasa, taze fasulye			
Koliform sayısı			≤ 10 ² adet/g
Küf sayısı			≤ 10 ³ adet/g
<i>E. coli</i>			Bulunmamalı
<i>S. aureus</i>			Bulunmamalı
<i>Salmonella</i>			Bulunmamalı

c: Müsaade edilen maksimum değerdeki numune sayısı

m: Bir örnekte müsaade edilen maksimum mikroorganizma sayısı

M: Analize alınan örneklerden hiçbirinde mikroorganizma sayısı M değerinin üzerinde olmamalıdır.

İndikatör Mikroorganizmalar

İndikatör mikroorganizmalar gıda sanayinde kurallara uygun olarak üretim yapıp yapılmadığının göstergesi olarak değerlendirilir. Hammadde, üretim teknolojisi, Good Manufacturing Practice (GMP) (İyi üretim uygulaması) konusunda indikatör mikroorganizmalar yeterli bilgi verir. Bir diğer deyişle indikatör mikroorganizmalar kalitenin göstergesidir. Gıda kalitesi hakkında fikir elde etmek için aranan / sayılan

grup mikroorganizmalar toplam bakteri, toplam maya ve küf, toplam koliformlar, fekal koliformlar gibi mikroorganizma gruplarıdır[Ünlütürk ve Turantaş, 1998].

Hangi mikroorganizma gruplarının indikatör olarak ele alınacağı ile ilgili olarak farklı görüşler bulunmaktadır. Yapılan araştırmaların bazılarında indikatör mikroorganizmaların mutlaka dışkı kökenli olması gerekirken, diğer bazı araştırmalarda da her türlü mikroorganizmayı indikatör olarak kabul edilmektedir[Chen, 1994].

İndikatör Mikroorganizmaların Özellikleri

Gıda endüstrisinde indikatör olarak seçilen mikroorganizmaların belirli özellikleri taşınması gerekmektedir. Öncelikle gıdalarda mikrobiyal kalite ile ilişkili bu mikroorganizmaların varlığı kolaylıkla ve hızla belirlenebilmeli ve sayılabilmeli, diğer mikroorganizmalardan ayrılabilmesi, gıdada bulunan doğal flora tarafından bu mikroorganizmaların gelişmesi engellenmemelidir. Buna bağlı olarak toplam bakteri, toplam maya ve küf, toplam osmofilik ve osmotolerant mayalar, ksérofil küfler, toplam proteolitik bakteriler, toplam koliformlar vb. gibi farklı mikroorganizmalar yukarıda da belirtildiği gibi farklı gıdaların kalitesinin belirlenmesinde indikatör mikroorganizma olarak kullanılmaktadır[Ünlütürk ve Turantaş, 1998].

İndikatör mikroorganizmalar olarak en önemli grup fekal kontaminasyon göstergesi olan bakterilerdir. Bunların varlığı gıdaya hammadde'den başlayıp gıdanın taşınmasına kadar bir yada daha fazla aşamada doğrudan yada dolaylı olarak lağım ile dışkı bulaştırmasının göstergesidir.

Yapılan çalışmalarda fekal koliformlar, enterokoklar ve *Clostridium perfringens* tipik fekal kontaminasyon göstergesidir. Fekal koliformların içinde en yaygın olarak *E. coli* kullanılır[Birollo ve ark., 2001].

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Koliform Mikroorganizmalar, Fekal Koliform Mikroorganizmalar ve *Escherichia coli*

2.1.1. Koliform mikroorganizmalar

İnsan ve hayvanların bağırsaklarında doğal olarak bulunan ve genellikle hastalık etmeni sayılmayan çeşitli mikroorganizmaların olduğu bilinmektedir. Ancak insan ve diğer sıcak kanlı canlıların bağırsak sisteminde patojen olarak tanımlanan mikroorganizmalara da rastlanmaktadır[Gürgün ve Halkman, 1988, Temiz, 1998].

Enterobacteriaceae familyasında yer alan koliform grup mikroorganizmalar, indikatör mikroorganizmalar arasında en sık aranan mikroorganizma grubunu oluşturur. Bu nedenle koliform gruba dahil mikroorganizmalar gıda mikrobiyolojisinde oldukça önemlidir[Hofstra, 1988].

Koliform mikroorganizmalardan indikatör olarak ilk defa suların güvenliği açısından, daha sonraları ise diğer gıdalarda olası bir fekal kontaminasyon ve gıda sanayinde sanitasyon göstergesi olarak yararlanılmıştır. Koliformlar, *Enterobacteriaceae* familyası içinde yer alan ve laktoz'dan 35°C'de 48 saat içinde gaz oluşturma yeteneğine sahip bakteriler olarak tanımlanabilmektedir. Bu bakteriler Gram negatif, sporsuz, çubuklar olup genellikle hareketli, peritrik flagellalı olan aerobik veya fakultatif anaerobiktirler. Glikoz'u gaz oluşturarak hem aerobik hem de anaerobik olarak parçalarlar, nitratı nitrite indirgerler, oksidaz negatif, katalaz pozitifler[Gürgün ve Halkman, 1988, Alkış, 1982, Anonymous, 1984].

Koli-aerogenes grubu olarak da isimlendirilebilen koliformlar içinde en tipik iki bakteri *E. coli* ve *Enterobacter aerogenes*'dir. Önemli olabilen diğer türler arasında *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumonia* ve *Citrobacter freundii* sayılabilir. Koliform bakterilerin tiplendirilmesinde klasik IMViC testlerinin (I = İndol

oluşturma, M = Metil Red reaksiyonu, V = Voges-Proskauer reaksiyonu, C = Sitrat kullanımı) büyük önemi vardır[Ünlütürk ve Turantaş, 1998].

İnsan ve sıcak kanlı hayvanların bağırsak sistemlerinde doğal olarak bulunan koliformların gıdalardaki varlığı aynı zamanda enterik patojenlerin bulunabileceğinin de bir göstergesi olarak kabul edilmiştir. Ancak bazı koliform bakteriler sadece fekal orijinli değildir. *E. coli*, tipik dışkı orijinli bir koliform bakteridir ve birincil doğal habitatı insan ve sıcak kanlı hayvanların sindirim sistemidir. *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Citrobacter freundii* ise doğada hem bitkilerde hem de insan ve hayvanların bağırsak sisteminde bulunabilmektedir[Temiz, 1998].

Çizelge 2.1. Koliform grubu bazı bakterilerin IMViC test sonuçları

Koliform bakteriler	İndol testi	Metil – Red testi	Voges-Poskauer testi	Sitrat testi
<i>Escherichiacoli</i>				
Biyotip I (tipik)	+	+	—	—
Biyotip II (atipik)	—	+	—	—
Ara tipler (<i>Citrobacter</i>)				
Tip I	—	+	— ^(b)	+
Tip II	+	+	— ^(b)	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>				
Tip I (tipik)	—	—	+	+
Tip II (atipik)	+	—	+	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	—	—	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	— ^(c)	— ^(c)	+	+
Düzensiz diğer tipler	D	D	D	D

(a): Bu bakteriler 35-37°C'de laktozdan 48 saatte asit ve gaz üretirler.

(b): Nadiren zayıf pozitif reaksiyon verenlerine rastlanmaktadır.

(c): Nadiren pozitif sonuç verenlerine rastlanmaktadır.

(d): Değişken.

Koliform Bakterilerin İndikatör Olarak Önemi

Koliform bakteriler içerisinde *E. coli* gibi fekal orijinli bakterilerin yanı sıra fekal orijinli olmayan bakterilerin de bulunması, koliformların gıda güvenliği indikatörü olarak değerini önemli ölçüde düşürmektedir. Buna göre de; gıdada koliform bakterilerin varlığının ortaya konması fekal kontaminasyon veya enterik patojen varlığının kesin bir göstergesi değildir. Çünkü koliform bakteriler, insan ve hayvan bağırsak sistemi dışındaki birçok ortamda da yaygın olarak bulunmakta ve bu ortamlarda uygun koşullarda çok iyi gelişip üreyebilmektedir. Koliform bakterilerin doğada yaygın olarak bulunması, insan ve hayvan vücudu dışında üreyebilmesi ve bazı suşların fekal kaynaklı olmayışı gibi nedenlerle bu gruptan daha çok sanitasyon indikatörü olarak yararlanılmaktadır[Madden ve Gilmore, 1995].

Gıdalarda sıkça rastlanan koliform grup mikroorganizmaların varlığı; insan veya hayvan kaynaklı fekal bulaşma düzeyini, yetersiz veya yanlış pastörizasyon tekniğini, pişirme veya pastörizasyon sonrası tekrar bulaşma olduğunu, kötü depolama koşullarını göstermektedir. Yapılan çalışmalarda koliform grup mikroorganizmaların donurma işlemine karşı duyarlı olduğu sonucuna varılmıştır. Bu nedenle dondurulmuş gıdalarda koliform mikroorganizmaların indikatör olma özellikleri ya çok kısıtlı yada hiç yoktur. Haşlanıp, dondurulmuş sebze işleme hatlarında yapılan bir araştırmaya göre, bu tip gıdalarda ve üretim hatlarında koliformlar en yaygın kontaminantlar olarak tespit edilmiştir[Splittstoesser, 1983].

Koliform bakterilerin dondurulmuş halde muhafaza edilen haşlanmış sebzeler için sanitasyon indeksi olarak herhangi bir önemi yoktur. Çünkü özellikle *Enterobacter* suşları olmak üzere bazı koliform bakterilerin bitkiler ile çok yakın ilişkisi bulunmaktadır. Bu tip gıdalarda, ancak *E. coli* varlığının işlem basamaklarındaki bir sanitasyon sorununa işaret etmesi bakımından önemi vardır[Temiz, 1998].

2.1.2. Fekal koliform mikroorganizmalar

Fekal koliformlar insanlar da dahil olmak üzere sıcak kanlı hayvanların sindirim sistemlerinde yaşayan mikroorganizmalardır. Bu bakteriler dışkı, gübre gibi kaynaklardan doğrudan veya dolaylı olarak gıdalara bulaşır[Halkman ve ark., 1994].

Fekal koliform terimi, Eijikman, 1904 yılında intestinal koliformların 46°C'ye yükseltilmiş inkübasyon sıcaklığında glikoz'dan gaz oluşturmalarını, fekal örijinli olmayanların ise bu ortam koşullarında gelişemediğini keşfetmesiyle ortaya çıkmıştır[Colquhoun ve ark., 1995].

İşlenmiş veya yüksek düzeyde fekal bulaşmaya maruz kalmış topraklarda bulunan fekal koliform bakterileri toprağın doğal ortamında genellikle ölme eğilimindedirler. Ancak uygun besin maddeleri ve ortamda nem bulunması halinde sayılarını artırabilirler[Splittstoesser, 1983].

Doğaya dışkı yoluyla dahil olan fekal koliform bakterileri uygun olmayan koşullar nedeni ile genellikle ölürlür. Doğal çevrede yaşamaları güçtür. Güneş, çevredeki diğer mikroorganizmalar, protozoa, toksik endüstriyel atıklar gibi etkenler fekal koliformların hayatta kalmasını engellemektedirler[Şansever, 2001].

Bazı *Citrobacter* ve *Klebsiella* suşları fekal koliform tanımına uymakla birlikte fekal koliformlar çok yüksek oranda *E. coli* biyotip I'den oluşmakta ve bu durumda da fekal koliform deyince akla hemen *E. coli* biyotip I gelmektedir. Ancak standart EC-Broth besiyerinde 44,5°C'de üreyemeyen, buna karşılık safra tuzları içeriği %0,15'den %0,112'ye düşürülmüş EC-Broth besiyerinde gelişebilen enterohemorajik *E. coli* (EHEC) suşların bu konuda kayda değer bir istisna oluşturduğu bildirilmiştir[Dupont ve ark., 1994].

Çocuk ve yetişkinlerde gastroenteritise neden olan *E. coli* suşları “patojenik *E. coli* suşları” olarak anılmaktadırlar. Bu suşlar içinde birbirinden farklı olan ve enterotoksijenik (ETEC), enteroinvasif (EIEC), enterohemorajik (EHEC) ve enteropatojenik (EPEC) olarak isimlendirilen tipler bulunmaktadır. Patojenik *E.coli* suşları fekal kontaminasyon indikatörü olmalarından daha çok patojen olmaları açısından önem taşımaktadır[Çakır, 1999].

Yapılan araştırmalar fekal kökenli bakteri olan *E. coli*'nin %90 kadarının 44,5°C'de gaz oluşturabildiğini belirtirken, fekal koliform testinde gaz üreten bakterilerin %95-98'nin *E. coli* olduğu görülmüştür. Bir diğer deyiş ile sadece *E. coli* aranması %95-98 isabetle fekal koliform sayısının belirlenmesinde kullanılabilir[Şansever, 2001].

Çizelge 2.2. Enterobacteriaceae familyası üyelerinin bazı özellikleri

	Fekal orijinlik	Koliform testleri ile belirlenebilirlik	İnsanlar için enteropatojen
<i>Escherichia</i>	Evet	Evet	Hayır ^c
<i>Edwardisiella</i>	Evet	Hayır	Hayır ^c
<i>Salmonella</i>	Evet	Hayır	Evet
<i>Shigella</i>	Evet	Hayır	Evet
<i>Yersinia</i>	Evet	Hayır	Hayır ^c
<i>Erwinia</i>	Hayır	Hayır ^d	Hayır
<i>Citrobacter</i>	Hayır ^a	Hayır ^b	Hayır
<i>Klebsiella</i>	Hayır ^a	Evet	Hayır ^c
<i>Enterobacter</i>	Hayır ^a	Evet	Hayır
<i>Hafnia</i>	Hayır ^a	Hayır ^c	Hayır
<i>Serratia</i>	Hayır ^a	Hayır	Hayır
<i>Proteus</i>	Hayır ^a	Hayır	Hayır
<i>Providencia</i>	Hayır ^a	Hayır	Hayır ^c
<i>Morganella</i>	Evet	Hayır	Hayır

(a) Bazı suşlar bağırsak sisteminde bulunur ancak bu bakteriler diğer doğal çevrelerde de bulunurlar.

(b) Laktozu yavaş fermente edenler hariç

(c) Nadiren de olsa bazı türler koliform testlerinde pozitif sonuç verirler

(d) 37°C'de hızlı üreyebilen suşlar hariç

(e) Bazı tür ve serotipleri enteropatojeniktir

Fekal Koliform Bakterilerin İndikatör Olarak Önemi

Fekal koliform bakteriler doğal olarak insan ve sıcak kanlı hayvanların bağırsak florasında bulunan (enterik) spesifik bir bakteri grubudur. Bu nedenle de fekal koliform bakteriler fekal kontaminasyon indikatörü olarak önemli bir grubu oluştururlar. Ancak yine de bir gıdanın güvenliğinin belirlenmesinde indikatör testler kullanıldığında; sadece fekal koliform testi sonuçlarına göre karar verilmesinin gıda güvenliğini yansıtmada yetersiz kalacağı yönünde görüşler bulunmaktadır. Fekal koliform bakteriler insan ve hayvanların sindirim sistemi dışında, hayvan ve bitkilerde, bunların ürünlerinde ve kontamine toprak ve suda da bulunabilmekte ve bu ortamlarda uygun çevre koşullarında rahatlıkla üreyebilirler. Buna göre de fekal koliformlar hammadde veya ürüne bir gıda işletmesindeki hijyen ve sanitasyonaya uygun olmayan her türlü çalışma varlığı direkt olarak ürüne fekal bir bulaşma olduğunu değil, işletmedeki hijyen ve sanitasyon uygulamalarının etkinliğini yansıtır[Ünlütürk ve Turantaş, 1998].

2.1.3. *Escherichia coli*

E. coli ilk kez 1885 yılında Alman bilim adamı Theodor Escherich tarafından, bir çocuğun dışkılarından izole edilmiş ve *Bacterium coli commune* olarak isimlendirilmiş, sonradan bu bakteriye *Escherichia coli* adı verilmiştir. Bu bakteri 1950'li yılların sonuna kadar sıcak kanlı hayvanların normal bağırsak florasında yer alan bir bakteri olarak kabul edilmesinden dolayı fekal kontaminasyonun göstergesi sayılmıştır. Günümüzde insanları ve hayvanları ölüme kadar götürebilen patojen tiplerin bulunması ile birlikte *E. coli*'ye bakış açısı değişmektedir[Halkman ve ark., 1994].

Escherichia coli fekal koliformların temelini oluşturmaktadır ve genel olarak fekal koliform popülasyonların %95-98'ni oluşturmaktadır ama bazı *Klebsiella* ve *Enterobacter* türleri pozitif fekal koliform reaksiyonları oluşturabilirler[Paille ve ark., 1986]

İnsan sağlığı açısından risk faktörü olarak görülen *E. coli*'nin insanlarda ve hayvanlarda fırsatçı patojenite gösteren suşların yanında insanları ölüme götüren ve primer patojen olan *E.coli* 0157:H7 gibi serotipleri de bulunmaktadır. Önceden tanımlanan koliform bakterilerden dışkı kökenli olanlar “fekal koliform” olarak tanımlanmıştır. Bunlar fekal koliform analizi ile belirlenmektedirler. Fekal koliform deyimine kimi kaynaklarda termotolerant koli olarak da rastlanmaktadır. Aslında koliform grup içinde fekal koliform olarak tespit edilen bakterilerin büyük çoğunluğu *E. coli*'dir. Fekal *E. coli* deyimini ise kullanılmaz, çünkü *E. coli* zaten fekal bir bakteridir. *E. coli*, özellikle fekal kontaminasyon indikatörü olma ve genetik araştırmalarda kullanılma nedenleriyle halen yeryüzünde, üzerinde en çok çalışılan canlı olma niteliğini taşımaktadır. Buna bağlı olarak *E. coli* aranması ve sayılması üzerine pek çok yöntem ve sistem geliştirilmiştir[Şansever, 2001].

Escherichia coli'nin Morfolojisi

E.coli düz çubuklar, 1,1-1,5 ile 2,0-6,0 µm (canlı) veya 0,4-0,7 ile 1,0-3,0 µm (kurutulmuş ve koyulaştırılmış), tek veya çiftler halindedir. Hareketleri peritrik flagella yardımıyla veya hareketsizdirler. *E. coli*'nin temel habitatu insan ve sıcak kanlı hayvanların bağırsak sistemidir. *E. coli*, fekal koliformlar alt grup üyesi olarak *Escherichia coli* Broth besiyerinde 44,5°C'de laktozdan gaz oluşturur. Optimum gelişme sıcaklıkları 37°C, optimum gelişme pH'ları 7,2'dir. Tümü glikozu asit oluşturarak katabolize eder. Gram (-), Laktoz (+), İndol (+), Metil-red (+), Voges Proskauer (VP) (-) ve sitrat (-)'dir. Nitratı nitrite indirgerler, mannitol (+), üre (-), hareket (+), malonat (-), adonitol (-), inositol (-), jelatin (-), hidrojen sülfür (-); sakaroz, salisin ve dulsitol testleri değişkendir. Ortho Nitrofenol β-D-Galactopronosid (ONPG) (+) sonuç verirler[Barrow ve Fetham, 1995].

Suşların çoğunun kapsülü var veya benzeri az gelişmiş yapı (mikrokapsül)'ları vardır. Suşların bazılarındaki fimbrialar (pil), direkt hemoglutaminik kapasitelerine veya morfolojik farklılıklarına göre birkaç fimbria tiplerine ayrılmışlardır: cinsiyet fimbria tipi antijenik içeriği ile ayırt edilebilir. *E. coli*'nin bazı suşları laktoz'u 24

saatten fazla sürede fermente etmektedirler. Bunlara paracolicoliform yada paracolobacterium denir. Bu suşlar özellikle çabuk tayin yöntemlerinde sorun çıkarmaktadırlar. Bazı nadir mutantlar hariç çok aktif bir β -galactosidase enzimine sahiptirler. *E. coli* suşlarının %95'den fazlasının β -glucoronidase enzimine enzimi içerdiği saptanmıştır[Halkman ve Doğan, 1998].

Escherichia coli'nin İdentifikasyonu

E. coli'yi ayırt etmede kullanılan en uygun yol Serolojidir, bu da değişik yüzeyli yapıların içeriğine dayanır ki bunlar; O (somatik), K (kapsüllü veya mikrokapsüllü) ve H (flagella) gibi serolojik terimleri ile ifade edilirler. Suşların antijenik modeli veya örneği O, K ve H antijenlerin numaralarıyla belirtilir Örneğin: O 111 : K 58 : H 2. Tanımlanmış 150 O antijeni, 90 K antijeni ve 50 H antijeni vardır. *E.coli* O antijenleri, *Salmonella* gurubunun O antijenlerinde olduğu gibi ayırt edici faktörler olarak nitelendirilemezler[Chen ve Wu, 1992].

Geleneksel kültür yöntemlerinde modifikasyon ile *E. coli* analizinde bugün en çok rağbet gören ve Food and Drug Administration (FDA) tarafından da benimsenen, β -Glucuronidase (β -GUR) enzim varlığının belirlenmesi yöntemidir. Başka bir sınıflandırma yöntemi de suşların belirtilen faj'lara olan duyarlılıklarına dayanarak, faj'ların aktivitelerine veya faj'ların durumuna göre yapılabilir[Halkman ve Doğan, 1998].

Escherichia coli'nin Neden Olduğu Enfeksiyonlar

Sıcak kanlı hayvanların bağırsaklarının aşağı kısmında bulunan *E. coli*'nin hepsi olmasa da, çoğu üyeleri fırsatçı patojenlik (insanda üre yolları enfeksiyonu ve inekte mastitis) gösterirler[Ferley ve ark., 1989].

E. coli'nin suşlarının çoğu zararsızdır ama yine de bazen enfeksiyonlara neden olan fırsatçı patojen de olabilirler. Bu suşlardan biri de gıda kontaminasyonlarında sıkça

rastlanan *E. coli* 0157:H7'dir. *E. coli* 0157:H7, ABD'de 74.000 enfeksiyon vakasına ve yaklaşık 61 ölüme sebep olan bir insan patojenidir[Brashears, 2004].

Bazı suş ve serotipler insan ve hayvanlar için patojenite göstermektedir. Özellikle buzağı, kuzu, domuz yavruları ve civcivlerde önemli ekonomik kayıplara yol açabilen kolibasillosis etmenidir. Bunların yanı sıra kedi ve köpeklerde idrar yolları enfeksiyonları sık rastlanan *E. coli* enfeksiyonlarındanır. *E. coli*, insanlarda safra ve idrar yolları enfeksiyonları, menenjit, arteriosklerosis, hemolitik üremik sendrom (HUS), yara enfeksiyonları, çeşitli immunolojik hastalıklar ve karaciğer apsesi oluşturmaktadır. İnsanlarda nadiren septisemi'ye neden olurken, süt çocuklarında ise epidemik gastroenteritis yapmaktadır[Arda, 1981, Bekar, 1990, Noveir, 1993].

Diyare'ye yol açan *E. coli* bakterisinin bazı suşları, ilk olarak 1940'lı yılların ortasında belirlenmiştir. Gıda kaynaklı diyare'ye neden olan *E. coli* virulenslik özellikleri, klinik sendromları, epidemiyolojilerindeki farklılıklar ve farklı O:H sero gruplarına göre çeşitli gruplara ayrılmaktadırlar. Önceden zararsız gibi görünen *E. coli*'nin sadece bazı enteropatojenik suşlarından söz edilmiştir. Daha sonra bu bakterinin belirli serotiplerinin hem patojenik hem de enterotoksijenik özellikler gösterdiği ve çok çeşitli virulans faktörler içerdiği ortaya konmuştur. İnsanları ve hayvanları ölüme kadar götüren bağırsak hastalıklarına neden olan serotipler, bağırsakların ağırlıklı florası olan *E. coli*'den ayrı olarak Enterovirulent *E. coli* grubunda toplanmıştır[Tunail, 1999].

Sınırlı sayıda iyi tanımlanan serotipler, bebeklerde ve diğer hayvan yavrularında *infectious enteric* hastalığıyla yakından ilişkilidir. Bu suşlardan bazıları domuz yavrularındaki enfeksiyonlarda genetiksel olarak plazmidlerle toksin meydana getirmektedirler. Hemolitik suşlara, domuzlarda yüksek yoğunlukta rastlanmıştır, ki bu hemolitik özellikler plasmid'ler tarafından meydana getirilebilir[Ferley ve ark., 1989].

0111:K58:H2 gibi iyi karakterize edilmiş serotip'in çocuk ishalinde aynı biyotip ile ilişkin olduğu bütün dünyada görülmüş ve muhtemelen bir tek klonun geniş bir şekilde dağılım gösterdiği düşünülmektedir[Capita ve ark., 2002].

Escherichia coli'nin İndikatör Olarak Önemi

E.coli'nin fekal orijinli olması nedeniyle bazı bilim adamları sularda fekal kontaminasyonun indikatörü olarak olarak yalnızca *E. coli*'yi dikkate almaktadırlar. *E. coli*'nin sularda fekal kontaminasyonun indikatörü olarak kabul görmesinin en önemli nedenlerinden bir tanesi ise bu bakterinin sularda canlılığını sürdürme periyodudur. Bazı patojenlerin sularda *E. coli*'den daha uzun süre canlılığını koruduğuna ilişkin raporlar bulunmasına karşılık, genellikle *E. coli*'nin suda canlılığını devam ettirme süresi, sularda çok yaygın olarak bulunan bazı enterik patojen bakterilerin suda canlı kalma süresiyle hemen hemen aynıdır. Nitekim bazı araştırmacılara göre; *E. coli* sıcak iklim bölgelerinde su kaynakları için güvenilir bir indikatördür[Ünlütürk ve Turantaş, 1998].

Gıdalarda yapılan bir araştırmaya göre; dondurarak veya soğukta muhafaza edilen yada radyasyon uygulanmış gıdalarda *E. coli*'nin yok olmasından sonra da bazı patojenlerin canlılığını sürdürebileceği bildirilmektedir. Ancak *E. coli*'nin işlem görmüş gıdalardaki canlılığını koruma süresinin suşa, gıdanın kimyasal kompozisyonuna, gördüğü işleme ve depolama koşullarına bağlı olarak değişecektir. Dondurulmuş halde muhafaza edilen gıdalarda, gıdanın çeşidi *E. coli*'nin ölüm oranını etkilemektedir. Örneğin; portakal konsantratlarında *E. coli* yalnızca bir gün yada en fazla bir hafta canlı kalabilmektedir. Dondurulmuş et suyu gibi bir üründe ise ölüm oranı düşüktür ve *E. coli* depolamanın ilk birkaç ayında canlılığını sürdürebilmektedir[Clark ve El-Shaarawi, 1992].

E. coli hücrelerinin sıcaklığa duyarlı olmaları nedeniyle pastörize sütler ve pişirilmiş ürünlerdeki *E. coli* varlığı ısıtma işleminin yetersizliğine yada işlem sonrası rekontaminasyona işaret eder. Bunların yanı sıra, *E. coli* düşük pH değerlerine

göreceli bir direnç göstermesinden kaynaklanan bir avantajla asit gıdalar için indikatör olarak özel bir öneme sahiptir[Hirovani ve ark., 1991].

Bütün bunlara karşın fekal koliformların tek başına gıda güvenliğini yansıtmayacağı konusundaki görüşlerin *E. coli* için de geçerli olacağı açıktır. Diğer taraftan *E. coli*'nin varlığı gıdada mutlaka enterik patojenlerin bulunacağı anlamına gelmemektedir.

Koliform, fekal koliform veya *E. coli*'nin HACCP gibi güvenlik sistemlerinin bir parçası olarak çok önemli ve geçerli işlevleri vardır. Gıda güvenliği ve sanitasyonun değerlendirilmesinde öncelikle koliform bakteriler aranmakta, koliform testinde pozitif sonuç alınması durumunda ise ileri testlerle *E. coli* varlığı veya sayısı saptanmaktadır[Ünlütürk ve Turantaş, 1998].

2.1.4. *Escherichia coli*'nin gıdalardaki önemi

E. coli, özellikle fekal kontaminasyon indikatörü olma ve genetik araştırmalarda kullanılma nedenleriyle halen yeryüzünde, üzerinde en çok çalışılan canlı olma niteliğini taşımaktadır[Şansever, 2001].

Doğrudan veya dolaylı olarak dışkıyla bulaşmış tüm gıdalar, *E. coli* enfeksiyonlarında aracı gıdalar olarak tanımlanabilirler. Bunların arasında özellikle çiğ yenen salatalar, pişirildikten sonra tekrar ısıtılmadan yenilen yemekler ve yeterince ısıtılma işlemi görmeden tüketilen gıdalar, diğer patojen türlerde olduğu gibi *E. coli* enfeksiyonlarında da önemlidir[Çakır, 1999].

Haşlanıp dondurulmuş gıda ürünlerinin koliformlar ve *E. coli* üzerinde yapılan bir araştırmada izolatların %40'nda fekal koliform testinin sonucu pozitif olarak saptanmış, fekal koliform testinde pozitif sonuç alınan örneklerin ise sadece %29'unda *E. coli* belirlenmiştir. *E. coli* dondurma işlemine karşı duyarlı olduğu için elde edilen düşük *E. coli* sayıları bu nedene bağlanmıştır[Splittstoesser, 1983].

Swartzentruber ve arkadaşları 1980 yılında İngiltere’de 148 Kabuğu çıkarılmış ve pişirilmiş karides üzerinde yaptıkları bir çalışmada örneklerin %25’nde koliform mikroorganizma sayısı 10^5 ’in üzerinde ve örneklerin %2’sinde *E.coli* izole edilmiş[Swartzentruber ve ark., 1980].

Lavoie ve arkadaşları 1983 yılında Batı Afrika’nen Ivory sahilinde koliform ve fekal koliform guruplarının daha iyi tanımlanması ve sıcak iklimlerde içme sularında fekal kontaminasyonun indikatörü olarak değerlendirilmesi için 216 içme suyu örneğinde yaptıkları çalışmada 58 toplam koliform, ki bunlardan 32si (%55’i) *E. coli* olarak tanımlanmış ve 196 fekal koliform ve bunlardan 130 (%66) isolat *E. coli* olarak tanımlanmış. İçme suyu örneklerindeki sonuçlara göre fekal koliform sayısı toplam koliform sayısına göre %24 daha fazlaydı. Bunun nedeni de koliform olmayan mikroorganizmaların toplam koliform mikroorganizmaların gelişimini engellemesi olarak yorumlanmış[Lavoie, 1983].

Nazem ve Saleh 1994 yılında inceledikleri 25 Ras peynirinde %40’nda koliform, %32’sinde *E. coli* tespit edilmiş[Nazem ve Saleh, 1994].

Kıvanç ve Arkadaşları 1994 yılında Eskişehirde satılan yerli ve ithal 23 dondurma örneğinde yaptıkları çalışmada %78’inde koliform mikroorganizma izole edilmiş[Kıvanç ve ark., 1994].

Araujo ve arkadaşları 2002 yılında Rio de Janeiro da fekal kontaminasyon oranının belirlenmesi için 45 peynir örneği üzerine yaptıkları çalışmada 44 örnekte (%97,7) *E. coli* izole edilmiş. Toplam 161 *E. coli* suşu izole edilmiş ve bunlardan 32 (%21,1)’si serolojik testlerden sonra Entero Patojenik *E. coli* (EPEC) olarak tanımlanmış[Araujo ve ark., 2002].

Abbar 1987 yılında Musul (Irak)’da 3 farklı peynir üreticisinden 20’şar olmak üzere toplam 60 peynir örneğinde fekal koliform ve enteropatojen varlığı konusunda yaptığı çalışmada toplam 43 örnekte *E. coli* pozitif sonuç elde edilmiştir[Abbar, 1988].

Capita ve arkadaşları 2002 yılında Leon (İspanya)'da 5 farklı perakendeciden alınmış dondurulmuş 40 ızgaralık piliç örneğinde kontaminasyon oranını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada toplam aerobik mikroorganizma, koliform ve *E. coli* sayımlarında. Toplam aerobik mikroorganizma sayısı \log_{10} cfu/g $5,19 \pm 0,43$, koliform sayısı \log_{10} $2,73 \pm 0,29$ ve *E. coli* sayısı \log_{10} $3,16 \pm 0,69$ olarak tespit edilmiş[Capita ve ark., 2002].

Hood ve arkadaşları 1982 yılında ABD'nin Florida eyaletinin 5 farklı koyundan toplayıp 2 ile 8°C arasında 7 ve 14 gün bekletilen 250 istiridye örneğinde fekal koliform ve *E. coli* arasındaki ilişkiyi araştırmak için yaptıkları çalışmada. 7'nci gün sonunda fekal koliform sayısı $2,1 \times 10^4$ ile $1,7 \times 10^5$ cfu/g. arasında, *E.coli* sayısı $6,8 \times 10^3$ ile $2,2 \times 10^4$ cfu/g. arasında, 14 gün sonra da fekal koliform sayısı $5,8 \times 10^4$ ile $2,5 \times 10^5$ cfu/g arasında, *E. coli* sayısı ise $1,2 \times 10^3$ ile $3,5 \times 10^3$ cfu/g. arasında tespit edilmiş[Hood ve ark., 1982].

Warke ve arkadaşları 2000 yılında Mumbai (Hindistan) da 15 açık ve 15 paketlenmiş olmak üzere toplam 30 dondurma örneğinde mikrobiyolojik kalitenin araştırılması için yaptıkları çalışmada; paketlenmiş dondurma örneklerinde toplam bakteri sayısı $2,3 \times 10^4$ ile $1,3 \times 10^4$ cfu/ml arasında, koliform sayısı $9,7 \times 10^1$ ile $6,0 \times 10^3$ cfu/ml arasında ve *Staphylococcus aureus* sayısı $9,0 \times 10^1$ ile $3,2 \times 10^3$ arasında tespit edilirken açık dondurmalarındaki toplam bakteri sayısı $1,3 \times 10^5$ ile $8,9 \times 10^6$ cfu/ml arasında, koliform sayısı $2,8 \times 10^3$ ile $5,8 \times 10^4$ cfu/ml arasında ve *Staphylococcus aureus* sayısı $5,0 \times 10^2$ ile $4,5 \times 10^3$ arasında tespit edilmiştir[Warke ve ark., 2000].

Schroeder ve arkadaşları 2003 yılında Washington'da hayvan kaynaklı sığır (50), tavuk (51), domuz (49) ve hindi (50) toplam 200 örnekte yaptıkları çalışmada sığır örneklerinden 21 (%42)'nde, tavuk örneklerinden 22 (%43)'nde, domuz örneklerinin 15 (%31)'nde ve hindi örneklerinin 15(%30)'nde olup, toplam 73 (%37) örnekte *E. coli* izole etmişler[Schroeder ve ark., 2003].

Flowers ve arkadaşları 1992 yılında Washington’da 45 peynir örneğinde yaptıkları çalışmada 44 (%97,7) örnekten 161 *E. coli* suşu izole edilmesi sonucu bu kadar yüksek fekal koliform sayısını gıda kaynaklı hastalıklara neden olabileceği şeklinde yorumlamışlardır[Flowers ve ark., 1992].

2.2. *Enterococcus*’lar

Enterococcus adı ilk kez Thiercelin tarafından 1899 yılında Fransa’da yayınlanan bir yazıda kullanılmıştır. Bu isim, bulunan yeni diplokokların intestinal orijinli olduklarını vurgulamak için önerilmiştir. Aynı yıllarda Mac Collum ve Hasting endokardit vakalarında ilk izole edilen bakteriler de *Micrococcus zymogenez* adlandırmışlardır[Murray, 1990].

Bu mikroorganizmaların tümü için 1906 yılından itibaren *Streptococcus faecalis* adı kullanılmaya başlanmıştır. *Streptococcus*’ların fenotipik ve biyokimyasal özelliklerine göre 4 ana guruba ayrıldığı 1930’lu yıllarda *Enterococcus*’lar fekal streptokoklar gurubunu oluşturmuşlardır. Uzun süre Lancefield’in gurup D *Streptococcus* generu içinde anılan *Enterococcus*, 1970 yılında ilk kez Kalina tarafından hücresel düzen ve fenotipik karakterlerine dayanarak yeni bir genus olarak önerilmiştir. Fakat bu öneri fazla kabul edilmemiştir ve *Enterococcus*’ların “grup D Streptokok” olarak tanımlanmaları DNA baz dizilerinin sınıflamada temel alınmaya başladığı 1980’li yıllara kadar sürmüştür. Bu yıllarda yapılan moleküler genetik çalışmaları, *Enterococcus*’ların *Streptococcus*’ların içine alınmayacak düzeyde genetik farklılık gösterdiğini ortaya çıkarmış ve *Enterococcus* cinsinin oluşumu genel kabul görmüştür[Çelik, 2001].

1984’te Schleifer ve Kipper Blaz’ın DNA-DNA ve DNA-RNA hibridizasyon deneyleri ile o zamana kadar *S. faecalis* ve *S. faecium* adları ile *Streptococcus* cinsinde kabul edilen bu bakterilerin, streptokoklardan ayrı olarak *Enterococcus* cinsine aktarılması önerilmiştir[Facklam ve Collins, 1989].

Son sınıflandırmaya göre *Enterococcus* cinsine dahil olan 19 tür alfabetik sırasıyla; *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. cacorum*, *E. columbae*, *E. dispar*, *E. durans*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. flavescens*, *E. gallinarum*, *E. hirae*, *E. maodoratus*, *E. mundtii*, *E. pseudoavium*, *E. raffinosus*, *E. sacchorylyticus*, *E. seriolicida*, *E. solitarius*, ve *E. sulfureus*'tur[Mundy, 2000]. Bu türlerin yanında *Enterococcus* cinsi içinde yer alması önerilen *E. azikevi*, *E. asini*, *E. haemopreoxidus*, *E. moraviesis*, *E. pheniculicola*, *E. ratus*, *E. rottae* ve *E. villorum* gibi yeni türler de mevcuttur[Çelik, 2001].

Enterococcus'lar geniş bir konakçı dağılımına sahiptirler. Çeşitli hayvanların ve insanların gastrointestinal kanalında, ağızda, genital ve üriner sisteminde ve derisi üzerinde bulunabilirler[Devriese ve ark., 1992]. *Enterococcus*'ların en yoğun olarak buldukları bağırsak içeriğinde 10^7 bakteri/gram sayısına kadar ulaşabilirler[Bensoussan ve ark., 1998]. Canlı organizmalar dışında, yüzey sularında, akarsulardan, lağım sularından, topraktan ve çeşitli besin maddelerinden *Enterococcus* izolasyonu yapılmıştır. *E. faecalis* ve *E. faecium*'un fekal kaynaklı enterokoklar olduğu bilinen bir gerçektir. Ancak bu bakterilere insan ve memeli hayvanların dışkı dışında toprak, su, bitki ve böcek gibi birçok çevrede de rastlanmaktadır[Pinto ve ark., 1999].

Enterococcus'lar normal bakteriyel floranın bir parçası olarak kabul edilmelerine ve düşük virulanslı mikroorganizmalar olarak değerlendirilmelerine karşın, özellikle insanların belirli enfeksiyonlarındaki rolü ve ölüm oranı ile dikkati çekmektedirler. Klinik enfeksiyonların büyük çoğunluğu *E. faecalis* ve *E. faecium* tarafından oluşturulmaktadır[Çetinkaya ve ark., 2000].

E. faecalis tüm enterokokal enfeksiyonların %80-90'ına, *E. faecium* ise %5-15'ine neden olur[Güvener, 1998]. *E. gallinarum*, *E. raffinosus*, *E. casseliflavus*, *E. avium*, *E. pseudoavium*, *E. malodoratus*, *E. mundtii*, *E. durans*, ve *E. hirae* gibi diğer *Enterococcus* türlerinin enfeksiyonlarındaki toplam payı ise %5 civarındadır[Çelik, 2001].

2.2.1. *Enterococcus*'ların morfolojisi

Enterococcus cinsine ait mikroorganizmalar gram pozitif ve fakultatif anaeropturlar. Mikroskopta oval şekilli, kısa zincirli, çift veya tek tek hücreli görünümde ve yaklaşık 1 µm çapındadırlar. Spor oluşturmazlar, sıvı kültürlerde sferik veya oval şekilde 0,6-2 x 2,5 µm. büyüklüğünde hücreler oluştururlar. Karbonhidratları fermente ettiklerinde esas olarak L (+) laktik asit üretirler. Bu mikroorganizmalar katı besiyerinde hazırlanan gram boyalarında, bazen kokobasil olarak görülürler. Thyoglycolat besiyerinde hazırlanan gram boyalarında ise daha çok ve zincir görünümündedirler. Omurgalıların dışkılarında yüksek miktarda bulunan enterokoklara doğada da sık rastlanır. Bazen piyogenik enfeksiyonlara neden olurlar. Diğer Gram pozitif bakteriler gibi beslenme gereksinimleri açısından Gram negatif bakterilere kıyasla daha seçicidirler. Ancak geliştirildikleri besi ortamlarında daha fazla üreme faktörüne gereksinim duymakta, bu nedenle de spesifik aminoasitlerin nicel olarak belirlenmesinde test mikroorganizması kullanılırlar. Geniş pH aralığında gelişirler, Tüm suşlar lösinaminopeptidaz (LAP) üretirler. *Streptococcus* gibi bu mikroorganizmalar da sitokrom osidaz enzimleri olmadığı için katalaz negatiftirler. Fakat bazen katalaz testinde zayıf bir köpürme ile gözlenen pseudokatalaz üretirler[Murray, 1995].

Suşların çoğu homofermentatif olup gaz üretmezler ve glukoz fermentasyonunun son ürünü laktik asittir. Oksidaz negatiftirler. Suşların çoğu *Streptococcus* grup D antijeni olarak tanınan hücre duvarı kökenli teikoik asit meydana getirirler. *Enterococcus* suşlarının bazıları grup Q bağışık serumu ile aglütinasyon verirler[Facklam ve Sahm, 1995].

Enterococcus ve D grubu *Streptococcus* eskulini fermente etmeleri ve %40 safralı besiyerinde üremeleri ile diğer streptokoklardan ayrılırlar. *Enterococcus*'ların %6,5 NaCl'li jelöz besiyerinde üreyebilmesi, pH 9,6'da, 10°C ve 45°C' de üremesi (*E. avium* 10°C de zorlukla üreyebilir), 60°C'de 30 dakika yaşayabilmesi ve Pyrolidonyl arylamidase (PYR)'nin hidrolizi D grubu *Streptococcus*'dan ayrımını sağlar[Holt ve

ark., 1995]. PYR'nin hidrolizi *Enterococcus*'lardan başka A grubu *Streptococcus*'larda görülebilen, ancak diğer *Streptococcus*'larda olmayan bir özelliktir[Koneman ve ark., 1992]. PYR'nin hidrolizi atipik *Enterococcus* olan *E. cecorum*, *E. columbae* ve *E. saccharolyticus*'ta da görülmez[Neaves ve ark. 1988].

Enterococcus, %5 koyun kanlı agarda 35°C'de 24-48 saatte üreyerek büyük, beyaz, hafif kabarık S tipi koloniler oluştururlar. Hemoliz karakterlerinin görülebilmesi için kan miktarının %5'ten az olmaması gerekmektedir(Murray ve ark., 1994).

Enterococcus alfa, beta hemolitik veya nonhemolitik olabilirler[Mims ve ark., 1993., Bilgehan, 1996]. Agar plağında kullanılan kanın türüne göre hemolitik aktivite değişebilir. Bazı suşlar at, tavşan ve insan kanlı agarda beta hemoliz yapabilmelerine rağmen, koyun kanlı agarda alfa veya nonhemolitikler[Facklam ve ark., 1995, Koneman ve ark., 1992, Durmaz ve ark., 1995, Ryan, 1994]. *E. faecalis* ve *E. durans* koyun kanlı agarda nadiren beta hemoliz gösterebilir. Oysa at kanlı agar kullanıldığında beta hemoliz sık görülen özelliktir[Facklam ve ark., 1995, Kaufhold ve Ferrieri 1993]. 24 saatlik kültürde nonhemolitik olan koloniler 48-72 saat sonra alfa hemolitik olabilmektedirler[Hardie, 1998].

Çizelge 2.3. *Enterococcus* türlerinin ayırıcı özellikleri

TÜRLER	MAN	SBL	SOR	ARJ	ARA	RAF	TEL	MOT	PİG	SUC	PYU	RİB
GRUP 1:												
<i>E. avium</i>	+	+	+	—	+	—	—	—	—	+	+	+
<i>E. malodoratus</i>	+	+	+	—	—	+	—	—	—	+	+	+
<i>E. raffinosus</i>	+	+	+	—	+	+	—	—	—	+	+	+
<i>E. pseudoavium</i>	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+
GRUP 2:												
<i>E. faecalis</i>	+	+	—	+	—	—	+	—	—	+b	+	+
<i>E. solitarius</i>	+	+	—	+	+	—	—	—	—	+b	—	+
<i>E. faecium</i>	+	-b	—	+	+	-b	—	—	—	+b	—	+
<i>E. casseliflavus</i>	+	-b	—	+	+	+	-b	+	+	+	-b	+
<i>E. mundtii</i>	+	-b	—	+	+	+	—	—	+	+	—	—
<i>E. flavescens</i>	+	-b	—	+	+	+	—	+	+	+	—	+
<i>E. gallinarum</i>	+	—	—	+	+	+	—	+	—	+	—	+
GRUP 3:												
<i>E. durans</i>	-b	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	?
<i>E. hirae</i>	—	—	—	+	—	+	—	—	—	+	—	?
<i>E. dispar</i>	—	—	—	+	—	+	—	—	—	+	+	?
<i>E. faecalis var.</i>	—	—	—	+	—	—	+	—	—	—	+	?
GRUP 4:												
<i>E. sulfureus</i>	—	—	—	—	—	+	—	—	+	+	—	+

MAN, mannitol; SBL, sorbitol; SOR, sorboz; ARJ, arjinin; ARA,arabinoz; RAF, rafinoz; TEL, % 0,04 tellürit; MOT, hareket; PİG, pigmentasyon; SUC, sukroz; PYU, piruvat; RİB, riboz; b, ara istisna (% reaksiyonlarda sapma gösterir).

2.2.2. *Enterococcus*'ların izolasyonu

Enterococcus'ların kompleks üreme gereksinimleri yoktur ve genel besi yerlerinde aerobik koşullarda ve geniş bir ısı aralığında üreyebilirler. *Enterococcus*'ların kontamine veya karışık floraya sahip materyallerden izolasyonları için, sahip oldukları fenotipik özelliklere dayanan selektif ve/veya diferansiyel besiyerleri kullanılır. Besiyerlerinde, *Enterococcus*'ların seleksiyonu amacıyla %6,5 NaCl, sodyum azid ve ayrımı için ise eskulin ve trifenil-tetrazolyum klorit'ten (TTC) yararlanılmaktadır. *Enterococcus*'ların izolasyonunda öncelikle selektif sıvı besiyerine ekim yapılmakta, bunu takiben diferansiyel agara pasaj yapılmaktadır[Çelik, 2001].

Enterococcus'lar genelde kullanılan besiyerlerinde kolaylıkla optimal üreme sıcaklığı olan 35°C ve 37°C'lerde, 24-48 saat inkübasyonda ve hafif alkali

ortamlarda ürerler. Laktobasil ve Laktokokların gelişimini engellemek için gerekirse 45°C'lik inkübasyon'da da üreyebilirler[Facklam ve Washington, 1991., Hartman ve ark., 1992].

Belirtilen sıcaklık derecelerinde gelişme kadar karbonhidrat fermantasyonları önemli fenotipik ve fizyolojik kriterlerdir. *E. faecium* ve *E. faecalis* için elektif veya selektif besiyerlerindeki özellikleri önemlidir. *E. faecalis* TTC'i kuvvetli indirgerken; *E. faecium* indirgeyemez yada çok zayıf indirger. TTC içeren özel besiyerinde *E. faecalis* kesin kırmızı koloniler verirken *E. faecium* mat pembe koloniler verir[Klein, 2003].

Enterococcus'lar çeşitli vitamin ve aminoasitlere gereksinim duydukları için sentetik besiyerlerinde kolaylıkla gelişmezler. Ancak; Brain Heart İnfusion Broth (BHI) veya Trypticase Soy (TS) Broth gibi zenginleştirme besiyerlerinde kolayca ve bol gelişebilirler. LAB'nın diğer üyeleri gibi *Enterococcus*'lar çeşitlilik gösteren mikroflorada bulunur. Bundan dolayı selektif ve sayıma yönelik besiyerleri hatta bazı durumlarda elektif besiyerlerine ihtiyaç duyulur[Klein, 2003].

Enterococcus'ların farklı gıda, yem, klinik ve çevresel ortamlarında bulunmasının önemi ile çeşitli besiyerleri önerilmektedir. Genellikle iki kompleks besiyeri ortamı; *Enterococcus* Selective Agar (SB) ve Kanamycine Aesculine Azide Agar (KAA) kullanılmaktadır[Facklam ve Elliott, 1995]. Bunlardan başka *Enterococcus* izolasyonu için Enterococcosal Agar ve M-*enterococcus* buyyon kullanılmaktadır[Çelik, 2001].

2.2.3. *Enterococcus*'ların identifikasyonu

Enterococcus'lar gıda fermentasyon proseslerinde yada gıda kalite belirlenmesinde ve gıda ve yemlerde probiyotik olarak kullanılmaktadır. Bu uygulamalar için izolatların karakteristiği kadar identifikasyonu da son derece önemlidir[Murray, 1990].

Enterococcus'lar arasında tam bir tür ayrımı ve diğer katalaz negatif Gram pozitif bakterilerden ayırt edilmesi zor olabilir. Bazı araştırmacıları göre yalnızca biyokimyasal testleri kullanarak başarılı olunabilmektedir[Facklam ve Sahm, 1995, Kaufhold ve Ferrieri, 1993, Acar ve ark., 1996].

Enterococcus cinsi içinde bugüne kadar 20 tür tanımlanmıştır. Bu türler mannitol'den ve sorboz'dan asit oluşturmalarına ve arjinin'i hidroliz etmelerine göre 5 gruba ayrılır.

1. *Grup*: Bu grupta bulunan beş türün hepsi mannitol ve sorbozdan asit oluşturur, ancak arjinini hidroliz etmezler.
2. *Grup*: Bu grupta bulunan türler mannitolden asit oluşturur, sorboza etki etmez ve arjinini hidroliz ederler. Bu grupta arjinini hidroliz eden veya mannitolden asit oluşturan atipik suşlar da vardır.
3. *Grup*: *E. durans*, *E. hirae* ve *E. dispar*'ı içerir. Bu türler mannitol ve sorbozdan asit oluşturmaz, arjinini hidroliz eder.
4. *Grup*: Mannitol ve sorboza etki etmez, aynı zamanda da arjinin hidrolizi de negatiftir.
5. *Grup*: Bu grupta *E. columbae* bulunur.

Her grupta bulunan türler daha sonra spesifik reaksiyonlarla birbirlerinden ayırt edilirler[Kdoming ve ark., 2003].

2.2.4. Tiplendirme yöntemleri

Enfeksiyon kontrolü ve epidemiyolojik çalışmalara yardımcı olmak için *Enterococcus* izolatlarının tip tayini önemlidir. *Enterococcus*'ların tür identifikasyonları nozokomiyal enfeksiyonların salgılarındaki epidemiyolojik

araştırmalarında yararlı olabilmesi, hem de türlere göre değişebilen antimikrobiyal duyarlılık ve tedavideki klinik kararlar nedeniyle oldukça önemlidir[Gordon ve ark., 1992]. *E. faecium* suşları, *E. faecalis* suşlarına göre antimikrobiklere karşı, belirgin bir biçimde daha dirençlidir[Töreci, 1993, Lorn ve ark., 1995].

Enterococcus'ları tiplendirmede kullanılan yöntemler şöyle özetlenebilir.

Klasik Tiplendirme Yöntemleri

Enterococcus'ların klasik tiplendirme yöntemleri içinde;

- a. Bakteriosin tiplendirmesi,
- b. Faj tiplendirmesi,
- c. Biyokimyasal reaksiyon profilleri
- d. Antimikrobiyal direnç paternleri,
- e. Serolojik yöntemler yer almaktadır.

Bazı kaynaklara göre bu metodlar yararlı bilgiler vermesine rağmen, zaman alıcı ve pahalı ve bazen subjektiftir ve suşlar arasındaki ayrımı yapmada yeterli değildirler[Kaufhold ve Ferrieri, 1993]. Bunun yanında ve klasik kitapta klasik yöntemlerin hala değerini koruduğu yönde bilgiler vardır[Facklam ve Sahn, 1995., Kaufhold ve Ferrieri, 1993, Acar ve ark., 1996].

Klasik yöntemlerden olan biyokimyasal testlerle, *Enterococcus*'lar önce dört guruba, sonra da türlere ayrılmışlardır.

Moleküler Teknikler

Son yıllarda moleküler tekniklerin kullanılmaya başlaması, *Enterococcus*'ların tiplendirilmesini geliştirmiştir. Plazmid profili bazı durumlarda yararlı olabilmektedir, fakat sık olarak uyumsuz sonuçlar vermektedir. Elektroforetik paternlerinin de doğru yorumlanması genellikle zordur. Endonükleaz digestid

genomik DNA'nın konvensiyonel elektroforezin kullanılması ile de benzer problemlerle karşılaşmaktadır. Son zamanlarda en yararlı metodlar contour-clamped homojenik elektrik alan elektroforezi (CHEF:53) alan inversiyon jel elektroforezi ve ribotiplendirmeyi içermektedir. Bu tekniklerin arasında CHEF'e daha çok başvurulmaktadır ve anti mikrobiyal direnç paternlerinin değişkenliğini ortaya koymada ve tür ayırımında daha yararlı olduğu gösterilmiştir[Facklam ve Sahm, 1995].

Hızlı Tanı Yöntemleri

Üçüncü bir yöntem olan API; *Enterococcus* türlerinin API Rapid STREP,RapID STR, Vitek Gram-Positive identifikasyon kartı, API 20S,Minitek Gram-Positive kit,, Microscan positive panel, Gram Positive Combo Panel gibi otomatize identifikasyon sistemleri kullanılabilir[Klein, 2003].

Bazı yazarlara göre, ticari testler akaların çoğunda değersizdir. Çünkü verilen değerler içinde her türün ayrımı için uygun çeşitliliği genelde göstermezler ve standardizasyonları yoktur. Bu nedenle son yıllarda moleküler tiplendirme teknikleri geliştirilmiştir. Total plazmid içeriğinin analizi ve plazmid DNA'sından enzim analizi başarıyla kullanılmaktadır[Facklam ve Collins, 1989].

2.2.5. *Enterococcus*'ların neden olduğu enfeksiyonlar

Enterococcus'lar uygun olmayan dezenfeksiyon ve dekontaminasyon işlemlerinde canlılıklarını sürdürebilirler, bu da özellikle hastane ortamında insandan insana sağlık çalışanlarının elleri aracılığı ile veya kontamine araç gereç ile yayıldığını göstermiştir[Murray, 1990]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda özellikle dirençli *Enterococcus* türlerinin hastadan hastaya veya kolonize hastane personeli tarafından hastalara bulaştırılabileceğini göstermiştir[Wegener ve ark., 1997].

Son yıllarda *Enterococcus*'lar hastane kaynaklı enfeksiyon etkenleri arasında önemli bir yer almıştır. ABD'de hastane enfeksiyonu olan bakteriyemi etkenleri arasında

üçüncü sırada, cerrahi yara ve üriner sistem enfeksiyonlarında ise ikinci sırada sayılmaktadır. 1990-1992 yılları arasında *Enterococcus*'ların üriner enfeksiyonların %16'sında, cerrahi yara enfeksiyonlarının %12'sinde ve hematojen enfeksiyonların %69'unda olmak üzere hastane kaynaklı enfeksiyonların %10'unda etken olduğu tespit edilmiştir[Güvener, 1998].

Enterococcus'lar birçok antimikrobiyal ajana dirençli olmaları nedeniyle hastane ortamında kolaylıkla üreyebilmektedir. Dirençli suşlara bağlı kolonizasyon ve enfeksiyon görülme olasılığı giderek artmaktadır. Doğal direncin yanı sıra çeşitli antibiyotiklere karşı kazanılmış direncin ortaya çıkması, önemli bir problem oluşturmaktadır[Edlund ve ark., 1997].

2.2.6. *Enterococcus*'ların indikatör mikroorganizma olarak önemi

Gıdalarda mikrobiyel kirlilik; indikatör mikroorganizmalar aranarak belirlenir. “Klasik enterokokların” (*E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans*) dışkı kaynaklı olması ve sulardaki varlıklarının ortaya konması bu bakterilerin 1900'lü yılların başında sularda fekal kontaminasyonun göstergesi olarak önerilmesine yol açmıştır. Daha sonraki yıllarda ise enterokokların indikatör olarak değeri koliformlarla karşılaştırılmaya başlanmıştır. İnsan dışkısında *Escherichia coli*'den daha az sayıda bulunur ve suda iyi üreyemezler. Bu nedenle de sulardaki enterik patojen varlığını fekal koliform bakterilere kıyasla daha iyi yansıttığı konusunda görüşler mevcuttur. Diğer taraftan enterokoklar suda koliformlardan daha uzun süre canlılıklarını korumaktadırlar[Hirovani ve ark., 2002].

Kurutma ve dondurma gibi olumsuz ortam şartlarında klasik indikatör koliform bakterilere nazaran streptokokların yüksek dirençliliği, su, dondurulmuş sebze ve dondurma dahil değişik gıda ürünlerinde doğrudan fekal kontaminasyonun indikatörü gibi mikrobiyolojik kriterler arasına girme eğilimini artırmıştır[Turantaş, 1993].

Fekal streptokokların geniş anlamda fekal indikatör olarak kullanılmasına rağmen yine de fekal kirlenmenin evrensel indikatörü olarak kabul edilmesi konusunda standartlaşmış metodoloji ve taksonomik ve ekolojik heterojenlik eksikliği gibi bazı sınırlandırmalar mevcuttur[Hirovani ve ark., 2002].

Günümüzde klasik *enterococcus*'ların tek başlarına sanitasyon konusunda yetersiz bilgi vereceği ve bu nedenle de sanitasyon yeterliliği konusunda karar vermede klasik enterokokların koliform bakteri veya toplam bakteri sayısı ile birlikte kullanılmasının daha doğru olacağına ilişkin öneriler yapılmaktadır[Birollo, G.A. ve ark., 2001].

E. faecalis'in asit gıdalarda *E.coli*'ye oranla daha uzun süre yaşadığı, spray-drying ile kurutulmuş yumurta tozlarının depolanma süresinde enterokokların, *E. coli* ve koliform grubuna göre daha yüksek performans gösterdiği belirlenmiştir. Soğuk ve rutubetli topraklarda *E. faecalis*'in canlı kalma süresi uzadığı gibi özellikle donmuş gıdalarda enterokokların koliform gruba oranla daha etkili indikatörler olduğu tespit edilmiştir. Örneğin: *enterococcus*'lar – 20°C' de dondurulan gıda örneklerinde gerek kısa sürede, gerekse uzun sürede koliform gruba göre daha yüksek bir oranla canlılıklarını korurlar. Dondurulmuş sebzelerde olduğu gibi dondurulmuş balık ürünlerinde de koliform grup ve enterokoklar kıyaslandığında; belirgin şekilde, enterokokların sayısal üstünlüğü görülür[Jiang ve Chai, 1996].

“Klasik enterokoklar” gıda endüstrisinde kullanılan ısıtma, kurutma, dondurma gibi işlemler ile temizlik ve dezenfeksiyon maddelerine karşı nispeten dirençlidirler. Bu nedenlerle de “klasik enterokoklar” işlem görmüş gıdalar, özellikle de dondurulmuş gıdalar için koliform bakterilere kıyasla daha iyi bir sanitasyon veya fekal kontaminasyon indikatörü olma özelliğine sahiptir. *Enterococcus*'ların dondurulmuş gıdalarda koliformlardan daha yüksek sayılarda bulunduğu ve canlılıklarını daha uzun süre sürdürdükleri konusunda birçok araştırma bulunmaktadır[Temiz ve ark., 1998].

Sonuç olarak; *enterococcus*'ların dondurulmuş gıdalarda yüksek sayıda bulunmasının işletmedeki sanitasyon işlemlerinin yetersizliğine veya ürünün istenmeyen mikroorganizmaların gelişmesine olanak sağlayacak koşullara maruz kaldığına işaret ettiği kabul edilmekte ve bu nedenle de “klasik enterokoklar” dondurulmuş gıdalarda sanitasyon indikatörü olarak koliformlara tercih edilmektedir. Bu durum, virüslerin de canlı kalabileceği normlarda ısıtma işlemi uygulanmış bazı pastörize ürünler ve kurutulmuş gıdalar için de geçerlidir. İşlem görmüş bir gıdada yüksek sayıda *enterococcus* varlığı belirlenmesine karşın koliform, *E. coli* veya *Enterobacteriaceae* üyelerine rastlanmayabilir. İşlem görmemiş gıdalarda ise *enterococcus*'lar ile birlikte koliform, *E. coli* veya *Enterobacteriaceae* üyeleri bulunabilir. Bir gıdada bulunan *enterococcus* sayısının yorumlanması, bulunduğu gıdaya göre değişir. Düşük *enterococcus* sayım sonuçları, işlem görmemiş gıdalar için önemsiz kabul edilirken dondurulmuş, pişirilmiş veya işlem görmüş diğer bazı gıdalarda önemli olabilir[Temiz ve ark., 1998].

Diğer taraftan *enterococcus*'lar yetersiz sanitasyon uygulamaları nedeniyle işletmelerde alet ve ekipmanların yüzeyinde yerleşik flora haline gelebilir ve bu noktalardan sürekli olarak gıdalara bulaşabilirler. Bu durumda da gıdalardaki enterokok varlığı her zaman orijinal kontaminasyona işaret etmeyebilir. Bu sonuç özellikle yetersiz sanitasyon uygulamalarının söz konusu olduğu süt endüstrisinde sıklıkla görülebilir. Bilindiği gibi enterokoklardan süt endüstrisinde laktik starter olarak yararlanılması da söz konusudur. Bunun sonucu olarak *enterococcus*'ların süt ürünlerinde sanitasyon indikatörü olarak kullanılmayacağı açıktır. Yine de “klasik enterokoklar” en azından dondurulmuş gıdalar için sanitasyon indikatörü olarak belirli bir değere sahiptir[Temiz ve ark., 1998].

2.2.7. *Enterococcus*'ların gıdalardaki önemi

Gıdalarda mikrobiyal kirlilik, indikatör mikroorganizmalar aranarak belirlenmektedir. “Klasik Enterokok'ların” dışkı kaynaklı olması ve sulardaki varlıklarının ortaya konması bu bakterilerin 1990'lı yılların başında fekal kontaminasyonun göstergesi olarak önerilmesine yol açmıştır. Daha sonraki yıllarda

ise *Enterococcus*'ların indikatör olarak diğer koliformlarla karşılaştırılmaya başlanmıştır. Dondurulmuş gıdalarda *Enterococcus*'lar koliformlardan daha uzun süre canlılıklarını korumaktadırlar. Bunun nedeni kötü çevre koşullarına karşı dirençli olmalarıdır. Geniş pH sınırları içerisinde üreyebilir, asit gıdalarda, tuzlu ve soğuk ortamlarda canlılıklarını daha uzun süre koruyabilir ve termodurik karakteri nedeni ile ısı işlemden kurtulabilirler ancak bütün bunlara karşılık "Klasik Enterokok'lar" su ve diğer gıdalarda sanitasyon indikatörü olarak koliformların yerini hiçbir zaman alamamıştır. Bu arada 1950'li yıllarda "Klasik Enterokok'lar" ve koliform bakterilerin fekal kontaminasyon indikatörü olarak birlikte kullanılması önerilmiştir. Günümüzde de "Klasik Enterokok'ların" tek başlarına sanitasyon konusunda yetersiz bilgi vereceği ve bu nedenle de sanitasyonun yeterliliği konusunda karar vermede "Klasik Enterokok'ların" koliform bakteri veya toplam bakteri sayısı ile birlikte kullanılmasının daha doğru olacağına ilişkin öneriler yapılmaktadır[Qoednau ve ark., 1998].

Enterococcus faecalis'in asit gıdalarda *E. coli*'ye oranla daha uzun süre yaşadığı spray-drying ile kurutulmuş yumurta tozlarının depolama süresinde *Enterococcus*'ların, *E. coli* ve koliform guruba göre daha yüksek performans gösterdiği belirlenmiştir. Soğuk ve rutubetli topraklarda *E. faecalis*'in canlı kalma süresi uzadığı gibi özellikle donmuş gıdalarda *Enterococcus*'ların koliform guruba oranla daha etkili indikatörler olduğu tespit edilmiştir. Örneğin; *Enterococcus*'lar -20°C'de dondurulan gıda örneklerinde gerek kısa sürede gerekse uzun sürede koliform guruba göre daha yüksek oranda canlılıklarını korurlar. Dondurulmuş sebzelerde olduğu gibi dondurulmuş balık ürünlerinde de koliform grup ve *Enterococcus*'lar kıyaslandığında belirgin şekilde *Enterococcus*'ların sayısal üstünlüğü görülmektedir. Tüm olumlu bulgular *Enterococcus*'ların indikatör olarak kullanılmaları konusundaki tartışmaları sonlandırmamıştır[Tunail, 1999, Temiz, 1998, Jiang ve Chai 1996, Chen ve ark., 1994].

Enterococcus gurubu mikroorganizmalarla yapılan çalışmalarda gıda ürünlerinde *Enterococcus*'ların varlığı üretim ve yapım sırasındaki yetersiz sanitasyon koşullarının bir göstergesi olduğu tespit edilmiştir[Giraffa ve ark., 1997].

Fekal streptokok'ların kurutma ve dondurma gibi olumsuz şartlara koliform mikroorganizmalardan çok daha dayanıklı olması fekal streptokokları bitki, su ve dondurma gibi gıdalardaki direkt fekal kontaminasyonun indikatör olma özelliğini artırmaktadır[E-Zanfaly, 1991].

Hayvanların gastrointestinal sisteminde *Enterococcus*'ların bulunması kesimhanelerde et'e bulaşma potansiyelini artırmaktadır[Franz ve ark., 1999].

Enterococcus'lar spor oluşturmeyen bakteriler arasında ısıya toleransı en fazla olan bakterilerdendir. Bundan dolayı pişmiş ve işlenmiş etlerde bozulmaya neden olabilirler[Franz ve ark., 1999].

Yapılan birçok araştırmada gıdalarda en fazla sıklıkla izole edilen *Enterococcus* cinsine ait olan türler *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* türleridir. *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. mundtii*, *E. raffinosus* daha az sıklıkla bulunmaktadır[Giraffa, 2002].

Enterococcus'lar yalnız sıcakkanlı hayvanlarda değil aynı zamanda toprakta, yüzey sularında, bitki ve sebzelerde bulunmaktadır[Franz ve ark., 1999].

Enterococcus'ların genel anlamda tamamen güvenli oldukları konusunda fikirbirliği olmadığı için gıda hijyencilerinin çoğu *enterococcus*'ların gıdalardaki varlığını kabullenmede isteksizler. *Enterococcus*'ların gıdalarda sağlık sorunları yaratmamış olmalarına rağmen, bu bakterilerin olası fırsatçılıkları son zamanlarda tartışmaya sebep olmuştur[Adams, 1999].

Enterococcus'lar normalde düşük virulanslıdır ama *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* türlerinin bazı suşlarının, varolan bütün antibiyotiklere karşı dirençli olmaları klinik terapide ciddi sorunlara neden olmaktadır[Franz ve ark., 1999].

Karaboz ve arkadaşları 2002 yılında İzmir’de marketlerde satılan 35 dondurulmuş et örneğinin mikrobiyolojik kalitesinin ölçülmesi konusunda yaptıkları araştırmada dondurulmuş et örneklerinde mesofilik aerobik bakteri, koliform ve fekal streptokok bakterileri gözlemlenmişler. Örneklerden izole edilen mesofilik aerobik bakteri sayısı $4,4 \times 10^4 - 3,6 \times 10^6$ cfu/g, koliform sayısı $4,0 \times 10^4 - 1,1 \times 10^5$ cfu/g ve fekal streptokok sayısı $2,9 \times 10^3 - 1,1 \times 10^5$ cfu/g değerleri arasında olduğu belirlenmiştir[Karaboz ve Dinçer, 2002].

2004 yılında Johnston ve arkadaşları yeşil hardal, maydanoz ve kavun üzerinde yaptıkları bir çalışmada 185 *Enterococcus* izolatından 97’si (%52) *E. faecalis*, ve 50’si (%27) diğer *Enterococcus* türü elde etmişlerdir[Johnston ve Jaykus, 2004].

Pavia ve arkadaşlarının 1999 yılında İtalya’da çiğ etlerden yapmış oldukları çalışmada tavuk, kuzu, domuz, hindi ve dana eti olmak üzere toplam 100 tane et örneğinde (% 65,3 tavuk eti, %7 kuzu eti, %31,3 hindi eti, %40 dana eti) *Enterococcus* izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu et örneklerinde izole edilen toplam 45 *Enterococcus* izolatının 10’u (%24,4) *E. faecium*, 15’i (33,3) *E. faecalis*, 3’ü (%6,7) *E. durans*, 3’ü (%6,7) *E. gallinarum*, 2’si (%4,4) *E. casseliflavus* olarak tanımlanmıştır[Pavia ve ark., 2000].

2003 yılında Malezya’da yapılan çalışmada 150 dondurulmuş et ve et ürünlerinin 39’unda (%26) *E. faecalis* SBV’den ön zenginleştirme yöntemiyle izole edilmiştir[Fifadara ve ark., 2003].

Hayes ve arkadaşları 2001-2002 yılları arasında toplam 981 tavuk, hindi, domuz ve sığır et örneklerinden 1357 *Enterococcus* izolatı elde etmişler ve baskın tür olarak %61 oranında *E. faecium* izole etmişlerdir. Bunu %29 oranında *E. faecalis*, %5,7 oranında *E. hirae* izlemektedir[Hayes ve ark., 2003].

İnsalata ve arkadaşları 1969 yılında dondurulmuş gıda ve sebze örneklerinde yüksek oranda fekal streptokok ve koliform bakterileri izole etmişlerdir[İnsalata ve ark. 1969].

İsrail’de fekal streptokoklar dondurulmuş meyve ve sebzeler için mikrobiyolojik kriterler arasına alınmıştır. Öyle ki fekal streptokok sayısı 10^3 g^{-1} ’i geçmemelidir[Shapton, 1991].

Avustralya ve İsveç’te satışa sunulan dondurmalarındaki fekal streptokok sayısı 10^2 ve 10^3 g^{-1} ’i aşmamalıdır[Shapton & Shapton, 1991].

Devriese ve arkadaşları 1995 yılında hayvan kaynaklı (et ve peynir) taze ve hazır gıda örneklerinde yaptıkları çalışmada izole ettikleri 161 türün hepsi *Enterococcus* cinsine ait olduğunu ve bunlardan 94 (%58,3)’ü *Enterococcus faecalis*, 71 (%44,1)’i *Enterococcus faecium* ve 15 (%9,3)’i de *Enterococcus hirae* veya *Enterococcus durans* olarak tanımlanmıştır[Devriese ve ark., 1995].

Robredo ve arkadaşları 1999 yılında İspanya’da 18 farklı süpermarket’ten toplanan 101 tavuk, kaynatılmış jambon ve hindi örneğinden izolasyonun görüldüğü 92 örnekten 25’inde (%27,2) *Enterococcus* varlığı tespit edilmiş[Robredo ve ark., 2000].

Tartura ve Lorenzelli 1994 yılında kümes hayvan et örnekleri üzerinde yaptıkları çalışmada sayıları 8×10^5 ile $9 \times 10^5 \text{ cfu/ml}$ arasında olan örneklerin %75’inde enterokok izole etmiş ve izole edilen 93 enterokok izolatından 64’ü (%69) *E. faecalis* ve *E. faecium* olarak tanımlanmıştır[Tartura ve Lorenzelli, 1994].

Mathara ve arkadaşları 2004 yılında Kenya’da ulusal bir süt ürünü olan Kule naoto 22 örneğinden izole edilen *Enterococcus* sayısı $5,5 \log_{10} \text{ cfu/ml}^{-1}$ olarak belirlenirken toplam 300 izolat arasında 100 *Enterococcus* izolatından en baskın olarak tespit edilen tür 60 (%60) *E. faecium* olarak tespit edilmiştir[Mathara ve ark., 2004].

2.2.8. Dondurulmuş gıdalarda *enterococcus* ve *E. coli*'nin önemi

İndikatör mikroorganizmalar üretim sürecindeki hijyen durumunun belirlenmesi için kullanılmalıdır. Koliform mikroorganizmalar pastörizasyon sonucu öldükleri için süt ürünlerinin işlem ve paketlenme sırasındaki hijyen durumlarının belirlenmesi için kullanılmaktadır[White, 1998].

Yoğurt gibi asitli ürünlerde sınırlı yaşama şansları olduğu için koliform mikroorganizmaları indikatör mikroorganizmalar olarak kullanmak sağlıklı değildir. Bu yüzden de üretim sonrası kontaminantlar hakkında doğru bilgileri edinebilmek zorlaşır. Bu yüzden fermente ürünler için üretim aşamasındaki hijyenik durumun kontrolü için *Enterococcus* önerilmiştir[Vanos, 1991].

Sanitasyon koşulları için en uygun olarak kullanılan indikatör sistemi koliform sayımıdır. Koliform mikroorganizmaların varlığı zayıf sanitasyon göstergesi ve olası patojenitenin varlığı olabileceği genel olarak kabul edilmektedir. Koliform mikroorganizmaların yanı sıra fekal streptokoklar da insan ve hayvanların bağırsak sistemlerinde bulunmaktadır ve bu yüzden de fekal kontaminasyonun göstergesi olarak kullanılabilirler[Torazos ve McFeters, 1993].

Chemuliti ve arkadaşları 2002 yılında Nairobi, Kenya'da 60 su depo konteynerinden ve 20 su borusundan olmak üzere 80 su örneğinde yaptıkları çalışmada, su borularının 2 (%10)'nde ve su depo konteynerlerinin 37 (%61,7)'nde fekal streptokok izole edilirken, su borularının 2 (%10)'nde ve su depo konteynerlerinin 30 (%50)'nde *E. coli* izole edilmiştir[Chemuliti ve ark., 2002].

Paille ve arkadaşları 1987 yılında Louisiana'da İstiridyelerdeki *E. coli* ve *Enterococcus* mikroorganizmalarının mevsimsel varyasyonunu gözlemek için yaptıkları çalışmada *E.coli* ve *Enterococcus*'un sayılarının en düşük olduğu Mart ayında *E. coli* 0/100 g., *Enterococcus* 0/100g. Olarak tespit edilirken. Sayılarının en

yüksek oldukları Nisan ayında ise *E. coli* 2200/100g. ve *Enterococcus* 1300/100g. olarak tespit edilmiş[Paille ve ark., 1987].

Hirovani ve arkadaşları 2001 yılında ABD ve Meksika’da Pazar yerlerinde satılan domates, yeşil salata, lahana, pırasa, biber, havuç, kırmızı turp, semizotu, kereviz, ıspanak, Çin lahanası ve maydanoz olmak üzere 12 farklı sebzenin yüzeyinden aldıkları örneklerden yaptıkları çalışmada örneklerin hepsinde fekal streptokok, koliform ve fekal koliform bakterileri izole etmişlerdir. Yapılan araştırmada fekal streptokok sayıları diğer indikatörler ile önemli bir benzerlik göstermektedir[Hirovani ve ark., 2001].

Turantaş ve arkadaşları 2001 yılında 53 dondurma ve 55 dondurulmuş sebze (kırmızı biber, yeşil biber, bezelye, patates, brokoli, karnabahar, domate, havuç ve yeşil fasulye) örneklerinde yapmış oldukları çalışmada 108 dondurulmuş sebze ve dondurma örneklerinin 58 (%53)’i, koliform, 12 (%11)’si fekal koliform ve 84 (%78)’ü fekal streptokok sonuç verdiği gözlenmiştir. Koliform ve fekal streptokokların bu kadar yüksek oranda izole edilmesi, koliform ve fekal streptokokların dondurulmuş sebzelerde sanitasyon göstergesi olarak kullanılmasını olası kılmaktadır[Turantaş, 2001].

Lang ve arkadaşları 1999 yılında Atlanta’da meyve sularının 6 gün buzdolabında bekletilmeleri sonucunda fekal koliform ve *Enterococcus* varlıkları konusunda yaptıkları çalışmada, meyve sularından izole edilen 10 *E.coli* izolatından 8’i 6 günlük 4°C de buzdolabındaki bekleme süresi sonunda sayılarında $< 3,0$ log. cfu azalma görüldüğü, 21 *Enterococcus* izolatından sadece 5’nin canlılığını devam ettirebilirken 6 günlük 4°C de buzdolabındaki bekleme süresi sonunda $\geq 3,0$ log. cfu azalma tespit edilmiş[Lang ve ark., 1999].

Kumar ve arkadaşları 1986 yılında buzdolabında depolanmış kümes hayvanı etlerinin kemiklerinden arındırılmasının 4 aşamasında koliform ve fekal streptokok sayılarını gözleme çalışmalarında koliform mikroorganizma sayısı 1’nci aşamada 4,30, 2’nci

aşamada 4,40, 3'ncü aşamada 4,27 ve 4'ncü aşamada 4,45 x log₁₀/g. olarak tespit edilirken fekal streptokok mikroorganizma sayısı 1'nci aşamada 3,90, 2'nci aşamada 3,78, 3'ncü aşamada 4,52 ve 4'ncü aşamada 4,78 x log₁₀/g. olarak tespit edilmiştir[Kumar ve ark., 1986].

Kakar ve Udipi 2002 yılında Mumbai/Hindistan'da, tren garında, küçük dükkanlardan ve yolda satılan olmak üzere üç farklı noktada satılan hazır yiyeceklerden olan tavuk burger, tavuk pizza, tavuk şiş, tavuk kanadı, tavuk köfte, kuzu burger, kuzu kebabı olmak üzere toplam 139 örnekte yaptıkları mikrobiyolojik kalite araştırmasında gıdalarda fekal koliform mikroorganizma sayısı en düşük 2,20±2,01 log cfu/g. ve en yüksek 7,49±2,11 log cfu/g. olarak tespit edilirken Fekal streptokok sayısı en düşük 0,96±1,34 log cfu/g. ve en yüksek 5,78±1,13 log cfu/g. olarak tespit edilmiş [Kakar ve Udipi, 2002].

3. MATERYAL VE METOD

Araştırmamızda 1.10.2004 – 31.10.2005 tarihleri arasında Ankara'nın çeşitli market ve süpermarketlerinden toplanan 20 köfte, 20 kıyma, 20 kuşbaşı, 20 brokoli, 20 bezelye ve 20 karnabahar olmak üzere toplam 120 dondurulmuş et ve sebze örneği materyal olarak kullanılmıştır. Çalışılan dondurulmuş et ve sebze örneklerinden *Enterococcus* ve fekal koliform türlerinin izolasyonu, identifikasyonu ve sayımı yapılmıştır. Ayrıca çalışmamızda, örneklerdeki toplam aerob ve *Staphylococcus aureus* sayıları değerlendirilmiştir.

3.1. Dondurulmuş Et ve Sebze Örneklerinden *Enterococcus*'ların İzolasyonunda Kullanılan Yöntemler

3.1.1. Örnek alma ve örneklerin analize hazırlanması

Araştırmamızda market ve süpermarketlerden toplanan dondurulmuş et ve sebze steril kaplarda en kısa sürede laboratuara getirilerek analize hazırlanmıştır.

3.1.2. *Enterococcus*'ların izolasyonunda kullanılan yöntemler

10 gr dondurulmuş et veya sebze örneğini 90 ml steril Azide Dextrose Broth (Oxoid CM:868) besiyerine ilave edilerek blanderda 2 dakika parçalanarak hazırlanmıştır. Ön zenginleştirme amacı ile 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Ön zenginleştirme sonunda 10⁻¹ dilüsyondan 100 µl Slanetz-Bartley (Oxoid CM:337) (SB) besiyerine ekim yapılarak 48-72 saat inkübe edilmiştir. Slanetz-Bartley besiyerlerinde üreyen tipik pembe ve kırmızı renkteki koloniler şüpheli *Enterococcus* olarak değerlendirilmiştir. Bu koloniler Colombia Blood Agar Base (Oxoid CA:331)'e pasajlanarak 24-48 saat 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Colombia Blood Agar Base besiyerinden alınan bu kolonilere *Enterococcus* izolasyonu için çeşitli biyokimyasal testler uygulanmıştır.

Yapılan Gram boyama ve Katalaz testleri sonucunda Gram pozitif, Katalaz negatif özellik gösteren kolonilere 10°C ve 45°C'de üreme; %6,5'luk NaCl'de üreme; Eskulin hidrolizi ve PYR testi uygulanmıştır. 10°C ve 45°C'de üreyen, %6,5'luk NaCl'de üremesi pozitif, Eskulini hidrolize eden ve PYR (+) kolonilere *Enterococcus* ön tanısı konulmuştur.

3.1.3. *Enterococcus*'ların İdentifikasyonunda Kullanılan Yöntemler

Ön tanısı yapılan *Enterococcus* izolatlarının tür seviyesinde adlandırılması için %10'luk karbohidrat fermentasyon testi (mannitol, sorbitol, sorboz, L-Arabinoz, sukroz, D-Raffinoz, laktoz), Arjinin hidrolizi (Thornley) ve Motility (hareket) testleri uygulanmıştır. *Enterococcus* türlerinin tanımlanmasında Bergey's of Manual Systematic Bacteriology[Hartman ve ark., 1992], Manual of Clinical Microbiology[Facklam ve Sahm, 1995] ve Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria[Barrow ve Fetham, 1995]'da belirtilen biyokimyasal testler esas alınmıştır.

3.1.4. *Enterococcus*'ların izolasyon ve identifikasyonunda kullanılan besiyerleri ve testler

Azide Dextrose Broth (Oxoid CM:868)

Peptone	: 40,0 gr
Glucose	: 10,0 gr
Sodium chloride	: 10,0 gr
Dipotassium hydrogen phosphate	: 5,4 gr
Potassium dihydrogen phosphate	: 5,4 gr
Sodium azide	: 0,4 gr
Distile su	: 1000 ml

pH = $6,8 \pm 0,2$ 'e ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak 1000 ml distile suda eritilip tüplere 9 ml pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda 121°C 'de 15-20 dakika steril edilmiştir.

Slanetz-Bartley Medium (Oxoid CM:377)

Tryptone	: 20,0 gr
Yeast extract	: 5,0 gr
Glucose	: 2,0 gr
Disodium phosphate $2\text{H}_2\text{O}$: 4,0 gr
Sodium azide	: 0,4 gr
Terazolium chloride	: 0,1 gr
Agar	: 10,0 gr
Distile su	: 1000 ml

pH = $7,2 \pm 0,2$ 'e ayarlanıp besiyerindeki maddeler otoklavlanmadan bek alevinde iyice eritildikten sonra steril plaklara 10 ml dağıtılmıştır.

Colombia Blood Agar Base (Oxoid: CM331)

Special peptone	: 23,0 gr
Starch	: 1,0 gr
Sodium chloride	: 5,0 gr
Agar	: 10,0 gr
Distile su	: 1000 ml

pH = $7,3 \pm 0,2$ 'e ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak distile suda eritildikten sonra otoklavda 121°C 'de 15-20 dakika steril edilmiştir. Daha sonra 50°C 'ye kadar soğutulup %5'lik koyun kanı ilave edilerek homojenize olması sağlanarak steril plaklara 10'ar ml dağıtılmıştır.

Gram Boyama

Klasik gram boyama yöntemi ile boyanarak gram (+), kok ve diplokok tarzında üreme gösteren koloniler çalışılmıştır.

Katalaz Testi

Colombia Blood Agar Base üzerinde üreyen koloniler temiz bir lam üzerinde fizyolojik serum içinde süspanse edilerek üzerine %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) damlatılmıştır. Kabarcıkların görülmesi halinde test pozitif olarak kabul edilmiştir. Katalaz negatif olan gram pozitif koklar çalışmaya esas teşkil edecek izolatlar olarak seçilmiştir.

%6,5'lük NaCl'de Üreme

%6,5 NaCl'lü buyyon;

Brain heart infusion : 37,0 gr

NaCl : 60,0 gr

Distile su : 1000 ml

Besiyerindeki maddeler tartılarak distile suda eritilip tüplere 5 ml pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda 121°C'de 15-20 dakika steril edilmiştir.

%6,5'lük NaCl'lü buyyon içeren tüplere 3-4 koloni inoküle edilerek 37°C'de 24-48 saat ve 72 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda buyyonlarda bulanıklığın görülmesi testin pozitifliğini göstermiştir.

10°C ve 45°C'de Üreme

Todd Hewit Broth (Oxoid CM:189);

Infusion from 450 gr fat-free minced meat :10,0 gr

Tryptone	: 20,0 gr
Sodium bicarbonate	: 2,0 gr
Sodium chloride	: 2,0 gr
Dipotassium phosphate	: 0,4 gr
Distile su	: 1000 ml

pH = $7,8 \pm 0,2$ 'ye ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak distile suda eritilip tüplere 5 ml pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda 121°C'de 15-20 dakika steril edilmiştir.

Todd Hewitt Broth'a koloninin 2 ayrı ekim yapılarak 10°C'de 7 gün, 45°C'de 1 gün inkübe edilmiştir. Bulanıklığın görülmesi durumunda test pozitif olarak kabul edilmiştir.

Eskulin Hidrolizi

Heart infusion agar	: 40,0 gr
Esqulin	: 0,5 gr
Ferric chloride	: 0,5 gr
Distile su	: 1000 ml

Besiyerindeki maddeler tartılarak 1000 ml distile suda eritilip tüplere 5 ml pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda 121°C'de 15-20 dakika steril edilmiştir.

Colombia Blood Agar Base üzerinden alınan koloniler inoküle edilerek 24-48 saat 37°C'de inkübe edilmiştir. Besiyerinde siyah pigment oluşumu eskulin hidrolizi testinin pozitif olduğunu göstermiştir.

Hareket Testi

SIM besiyeri (Oxoid CM:435);

Tryptone	: 20,0 gr
Peptone	: 60,1 gr
Ferrous ammonium sulphate	: 0,2 gr
Sodium thiosulphate	: 0,2 gr
Agar	: 3,5 gr

pH = $7,3 \pm 0,2$ 'e ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak 1000 ml distile suda eritilip tüplere 5 ml pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda 121°C'de 15-20 dakika steril edilmiştir.

Enterococcus kültürlerinden alınan koloniler iğne öze ile besiyerinin dip kısmına kadar dik şekilde batırılarak ekilmiştir. 37°C'de 48 saatlik inkübasyon sonucunda ekim çizgisi boyunca ters çam ağacı biçiminde üreme gösteren koloniler hareket pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Arjinin Hidrolizi

Arginine Dihydrolase (Thornley) besiyeri;

Peptone	: 1,0 gr
NaCl	: 5,0 gr
K ₂ HPO ₄	: 0,3 gr
Fenol red	: 0,01 gr
L-Arginine monohydrochlorid	: 10,0 gr
Agar	: 3,0 gr
Distile su	: 1000 ml

pH $7,2 \pm 0,2$ 'ye ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak 1000 ml distile suda eritilip tüplere 4 ml pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda 121°C 'de 15-20 dakika steril edilmiştir.

Colombia Blood Agar Base'den alınan koloniler besiyerine ekim yapılarak 27°C 'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda besiyerinin rengi portakal kırmızısından mor renge dönüşmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir.

PYR (pyrolidonyl arylamidase) Testi

PYR agar;

Todd-Hewit Broth	: 22,0 gr
L-pyroglutamis asit beta-naphtylamide	: 0,1 gr
Agar	: 7,0 gr
Distile su	: 1000 ml

Isıtılarak eritilen kimyasal maddeler 121°C 'de 15-20 dakika steril edilerek 10 ml steril petrilere dağıtılmıştır.

PYR ayıracı;

P-dimethyl aminocinnamaldehyt	: 0,2 gr
Sodium dodesil sülfat	: 2,5 gr
Glasiyal asetik asit	: 2,5 gr
2-metoksi etanol	: 5 ml
Distile su	: 1000 ml

p-dimethyle aminocinnamaldehyt diğer maddeler içinde eritilerek $+4^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

Bütün izolatlar PYR agara ekimleri yapılarak 35°C 'de inkübe edilmiştir. Üreyen kolonilerin üzerine %2'lik PYR ayıracı damlatılmıştır. Kırmızı ve pembe renk

oluşumu test pozitif, sarı ve turuncu renk oluşumu test negatif olarak değerlendirilmiştir.

Karbonhidrat Fermentasyon Testi

Purple Broth Base (Difco);

Protease peptone No:3	: 10,0 gr
Beef extract	: 1,0 gr
Sodium chloride	: 5,0 gr
Brom cresol purple	: 0,02 gr
Distile su	: 1000 ml

Besiyeri pH = $6,8 \pm 0,2$ ayarlanıp indikatör madde ilave edildikten sonra tüplere 9ml pipetlenerek 121°C 'de 15-20 dakika steril edilmiştir.

Karbonhidrat solüsyonu;

Karbonhidrat (mannitol, sorbitol, sorboz, arabinoz, raffinöz, sukroz)	: 10,0 gr
Distile su	: 100 ml

Solüsyon hazırlandıktan sonra membran filtreden geçirilerek steril edilmiştir.

Karbonhidrat temel besiyeri	: 9 ml
Karbonhidrat solüsyonu	: 1 ml

İzolatların %10'lukmannitol, sorbitol, sorboz, L-Arabinoz, D-Raffinoz, sukroz içeren karbonhidrat fermentasyon besiyerine ekimliyapılarak 37°C 'de 7 gün inkübe edilmiştir. Besiyerindeki bromkrezol moru indikatörünün besiyeri rengini sarıya dönüştürmesi testin pozitif olduğunu göstermiştir.

3.2. Dondurulmuş Et ve Sebze Örneklerinden Fekal Koliformların İzolasyonunda Kullanılan Yöntemler

Araştırmamızda Food and Drug Administration (FDA) = Gıda ve Müstahzar İdaresi'nde belirtilen esaslara göre dondurulmuş et ve sebze örnekleri 25 gr örnek 225 ml Buffered Pepton Water'da gıda mikrobiyolojisi kurallarına uygun olarak homojenize edilip 10^{-1} 'lik dilüsyon hazırlanmıştır. 10^{-1} 'lik dilüsyondan 1 ml steril boş petriye inoküle edilip üzerine 45°C 'ye kadar soğutulan Violet Red Bile Agar (VRBA) besiyerinden 10 ml dökülerek karıştırılıp katılaşması beklenmiştir. Besiyeri katılaştıktan sonra ikinci bir kat daha 5 ml VRBA besiyeri dökülmüştür. Katılaştıktan sonra 37°C 'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra etrafında zonlu çökelti oluşan 0,5 mm yada daha büyük çaptaki parlak pembe-kırmızı koloniler şüpheli koliform olarak kabul edilmiştir.

Bu şüpheli kolonilerden petriyi temsil etmesi için ortalama 10 koloni, içinde durham tüpü bulunan Brilliant Green Lactoz Broth (BGLB) besiyeri içeren tüplere inoküle edilip 24-48 saat 37°C 'de inkübe edilmiştir. Gaz oluşumu gözlenen tüpler koliform bakteriler için pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. BGLB'de gaz oluşumu gözlenen tüplerden, içerisinde durham tüpü bulunan EC Broth besiyeri bulunan tüplere inoküle edip 48-72 saat $45,5^{\circ}\text{C}$ 'de su banyosunda inkübasyonu sonucunda gaz oluşumu görülen tüpler fekal koliform olarak değerlendirilmiştir. Fekal koliform analizinde gaz oluşumu görülen E Coli (EC) broth'lu tüplerden Eosine Methylene Blue (EMB) Agar petrilerine öze ile inoküle edip 35°C 'de 24-48 saat inkübasyon sonucunda 2-3 mm çapında küçük siyah merkezli, metalik yeşil, parlak renkli koloniler *E. coli* olarak değerlendirilmiştir. Bu kolonilerden saflaştırma amacı ile Plate Count Agar'a (PCA) (Oxoid CM:463) ekilerek 35°C 'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. PCA besiyerinde üreyen kolonilere Indol, Metil Red, Voges Proskauer ve Sitrat testleri uygulanarak *E. coli*'nin varlığı test sonuçlarına göre değerlendirilmiştir.

3.2.1. Fekal koliformların izolasyonu ve identifikasyonunda kullanılan besiyerleri ve testler

Buffered Peptone Water (Merck 1.07228)

Peptone	:10,0 gr
Sodium chloride	: 5,0 gr
Disodiumhydrogen phosphate dodecahydrate	: 9,0 gr
Potassium dihydrogen phosphate	: 1,5 gr
Distile su	: 1000 ml

Brilliant Gren Bile (%2) Broth (Oxoid CM:31)

Peptone	: 10,0 gr
Lactose	: 10,0 gr
Ox bile (purified)	: 20,0 gr
Brilliant gren	: 0,0133 gr
Distile su	: 1000 ml

pH = $7,4 \pm 0,2$ 'e ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak 1000 ml distile suda eritilip içinde durham tüpü bulunan tüplere pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda 121°C 'de 15-20 dakika steril edilmiştir.

Violet Red Bile Agar (Himedia M049)

Yeast extract	: 3,0 gr
Peptone	: 7,0 gr
Bile salts No: 3	: 1,5 gr
Lactose	: 10,0 gr
Sodium chloride	: 5,0 gr
Agar	: 15,0 gr
Neutral red	: 0,03 gr

Crystal violet	: 0,002 gr
Distile su	: 1000 ml

pH = $7,4 \pm 0,2$ 'e ayarlanıp besiyerindeki maddeler otoklavlanmadan bek alevinde iyice eritilip 45°C 'ye kadar soğutulduktan sonra steril plaklara 10 ml dağıtılmıştır.

EC Broth (Merck 1.10765)

Petone from caseine	: 20,0 gr
Lactose	: 5,0 gr
Bile salt mixture	: 1,5 gr
Sodium chloride	: 5,0 gr
Dipotassium hydrogen phosphate	: 4,0 gr
Potassium dihydrogen phosphate	: 1,5 gr
Distile su	: 1000 ml

pH = $6,9 \pm 0,2$ 'e ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak 1000 ml distile suda eritilip tüplere pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda 121°C 'de 15-20 dakika steril edilmiştir.

Eosine Methylene Blue Agar (Oxod CM:69)

Peptone	: 10,0 gr
Lactose	: 10,0 gr
Dipotassium hydrogen phosphate	: 2,0 gr
Eosin	: 0,4 gr
Methylene blue	: 0,065 gr
Agar	: 15,0 gr
Distile su	: 1000 ml

pH = $6,8 \pm 0,2$ 'e ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak 1000 ml distile suda eritilip otoklavda 121°C 'de 15-20 dakika steril edilip plaklara dağıtılmıştır.

Plate Count Agar (Oxoid CM:463)

Yeast extract	: 2,5 gr
Pancreatic digest of casein	: 5,0gr
Glucose	: 1,0 gr
Agar	: 15,0 gr
Distile su	: 1000 ml

pH = $7,0 \pm 0,2$ 'e ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak 1000 ml distile suda eritilip otoklavda 121°C 'de 15-20 dakika steril edilip plaklara dağıtılmıştır.

İndol Testi

İndol besiyeri (Oxoid CM:87);

Tryptone	: 10,0 gr
Sodium chloride	: 5,0 gr
Distile su	: 1000 ml

pH= $4,7 \pm 0,2$ 'ye ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak 1000 ml distile suda eritilip tüplere 5 ml pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda 121°C 'de 15-20 dakika steril edilmiştir.

Kovak's Ayıracı;

p-dimetilaminobenzaldehyt	: 5,0 gr
İzo amil alkol	: 75 ml
HCl	: 25 ml

PCA besiyerinden öze ile alınan *E. coli* kolonileri indol besiyerine ekilmiş, 35°C 'de 72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonunda indol besiyerine kovak's ayıracından 0,2-0,3 ml ilave edilmiştir. Besiyerinin üst kısmında oluşan kırmızı halka pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Voges Proskauer Testi

Peptone from meat	: 7,0 gr
D(+) glucose	: 5,0 gr
Phosphate buffer	: 5,0 gr
Distile su	: 1000 ml

pH= 6,9 \pm 0,2'ye ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak 1000 ml distile suda eritilip tüplere 5 ml pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda 121°C'de 15-20 dakika steril edilmiştir.

VP test ayıraçları;

A ÇÖZELTİSİ

Alpha naphtol	: 5,0 gr
Ethyle alchole (% 95)	: 100ml

B ÇÖZELTİSİ

Potassium hydroxide	: 40,0 gr
Distile su	: 100 ml

Voges Proskauer (MR- VP) sıvı besiyerine, PCA besiyerinden öze ile alınan *E. coli* kolonileri eklenerek 35°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda besiyerine A çözeltisinden 0,6ml, B çözeltisinden 0,2 ml ilave edilmiştir. 1 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Test sonucunda pembe renk oluşumu pozitif, sarı renk oluşumu ise negatif olarak değerlendirilmiştir.

Meti Red Testi

Peptone from meat	: 7,0 gr
D(+) glucose	: 5,0 gr
Phosphate buffer	: 5,0 gr
Distile su	: 1000 ml

pH= 6,9 \pm 0,2'ye ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak 1000 ml distile suda eritilip tüplere 5 ml pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda 121°C'de 15-20 dakika steril edilmiştir.

Metil Red;

Metil Red	: 0,1 gr
%96'lık etil alkol	: 300 ml
Distile su	: 200 ml

Metil red, etil alkol içerisinde çözündürülmüş, daha sonra distile su ilave edilmiştir.

Sıvı besiyerine, PCA besiyerinden öze ile alınan *E. coli* kolonileri eklenerek 35°C'de 4 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda besiyerine metil red ilave edilmiş ve kırmızı renk oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Sitrat Testi

Simmons Citrate Agar (Oxoid CM:15S);

Magnesium sulphate	: 0,2 gr
Ammonium dihydrogen phosphate	: 0,2 gr
Sodium ammonium phosphate	: 0,8 gr
Sodium citrate, tribasic	: 2,0 gr
Sodium chloride	: 5,0 gr
Bromothymol blue	: 0,08 gr

Agar	: 15,0 gr
Distile su	: 1000 ml

pH= 7,0 \pm 0,2'ye ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak 1000 ml distile suda eritilip tüplere 9 ml pipetlendikten sonra pamuklanarak otoklavda 121°C'de 15-20 dakika steril edilmiştir. Otoklav sonrası yatık agar olarak dondurulmuştur.

Simmons Citrate Agar'a, PCA besiyerinden iğne uçlu öze ile alınan *E. coli* kolonileri eklenerek 37°C'de 2-7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında yeşil rengin meviye dönüşmesi pozitif sonuç olarak; renk değişikliği göstermeden yeşil renkte kalanlar negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. VRBA ve BGLB Besiyerlerinden İzole Edilen Koliform, Fekal Koliform ve SB Besiyerinden İzole Edilen *Enterococcus* Türlerinin Dağılımı

Araştırmamızda 1.10.2004 – 30.10.2005 tarihleri arasında Ankara’nen çeşitli market ve süpermarketlerinden toplanan dondurulmuş 20 köfte, 20 kıyma, 20 kuşbaşı, 20 brokoli, 20 bezelye ve 20 karnabahar örneği materyal olarak kullanılmıştır. Dondurulmuş et ve sebze örneklerinde koliform mikroorganizma, *E. coli* ve *Enterococcus* türlerinin sayıları saptanmış ve ayrıca toplam aerob ve *Staphylococcus aureus* sonuçları değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.1. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş et ve sebze ve sayısı

Örnek çeşidi	Örnek sayısı
Köfte	20
Kıyma	20
Kuşbaşı	20
Brokoli	20
Bezelye	20
Karnabahar	20

Çizelge 4.2. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş et ve sebze örneklerinden izole edilen toplam koliform mikroorganizma dağılımı

Örnek çeşidi	Örnek sayısı	İzolasyon	
		Sayı	%
Köfte	20	14	70
Kıyma	20	18	90
Kuşbaşı	20	14	70
Brokoli	20	14	70
Bezelye	20	17	85
Karnabahar	20	18	90
<i>Genel Toplam</i>	<i>120</i>	<i>95</i>	<i>79,2</i>

Dondurulmuş 120 et ve sebze örneğinden toplam 95 (%79,2) koliform mikroorganizma izole edilmiştir.

Çizelge 4.3. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş et ve sebze örneklerinden izole edilen *E. coli* dağılımı

Örnek çeşidi	Örnek sayısı	İzolasyon	
		Sayı	%
Köfte	20	1	5
Kıyma	20	9	45
Kuşbaşı	20	7	35
Brokoli	20	8	40
Bezelye	20	9	45
Karnabahar	20	5	25
<i>Genel Toplam</i>	<i>120</i>	<i>39</i>	<i>32,5</i>

Dondurulmuş 120 et ve sebze örneğinden toplam 39 (%32,5) *E. coli* izole edilmiştir.

Çizelge 4.4. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş et ve sebze örneklerinden izole edilen *Enterococcus* dağılımı

Örnek çeşidi	Örnek sayısı	İzolasyon	
		Sayı	%
Köfte	20	7	35
Kıyma	20	11	55
Kuşbaşı	20	8	40
Brokoli	20	10	50
Bezelye	20	8	40
Karnabahar	20	4	20
<i>Genel Toplam</i>	<i>120</i>	<i>48</i>	<i>40</i>

Dondurulmuş 120 et ve sebze örneğinden toplam 48 (%40) örneğinde *Enterococcus* izole edilmiştir.

Çizelge 4.5. SB besiyerinden izole edilen *Enterococcus* türlerinin tanımlanmasında kullanılan biyokimyasal testler

Türler	Büyüme		%6,5 NaCl	MAN	SBL	SOR	ARG	ARA	RAF	MOT	SUC	LAK
	10°C	45°C										
<i>E. avium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	?
<i>E. malodoratus</i>	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—	+	?
<i>E. raffinosus</i>	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	+	?
<i>E. pseudoavium</i>	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+	?
<i>E. faecalis</i>	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	+	?
<i>E. faecium</i>	+	+	+	+	+/-	—	+	+	—	—	+	?
<i>E. casseliflavus</i>	+	+	+	+	+/-	—	+	+	+	+	+	?
<i>E. mundtii</i>	+	+	+	+	+/-	—	+	+	+	—	+	?
<i>E. flavescens</i>	+	+	+	+	+/-	—	—	+	+	+	+	?
<i>E. gallinarum.</i>	+	+	+	+	+/-	—	+	+	+	+	+	?
<i>E. durans</i>	+	+	+	—	—	—	+	—	—	—	—	?
<i>E. hirae</i>	+	+	+	—	—	—	+	—	+	—	+	?
<i>E. dispar</i>	+	+	+	—	—	—	+	—	+	—	—	?
<i>E. solitarius</i>	+	+	+	+	+/-	—	+	—	?	—	?	?
<i>E. sulfureus</i>	+	+	+	—	—	—	—	—	+	—	+	?
<i>E. faecalis (var)</i>	+	+	+	—	—	—	+	—	+	—	+	?

Kısaltmalar: ? = Kesinlik kazanmadı; + = %90 pozitif; — = %90 negatif; +/- = daha çok pozitif; MAN = mannitol; SBL = sorbitol; SOR = sorboz; ARG = arjinin; ARA = arabinoz; RAF = rafinoz; MOT = hareket; SUC = sukroz; LAK = laktoz

Çizelge 4.6. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş et ve sebze örneklerinden izole edilen *Enterococcus* tür dağılımı

Enterococcus	İzolasyon	
	Sayı	%
<i>Enterococcus faecalis</i>	28	44,4
<i>Enterococcus faecium</i>	12	19
<i>Enterococcus hirae</i>	7	11,1
<i>Enterococcus durans</i>	6	9,5
<i>Enterococcus gallinarum</i>	4	6,4
<i>Enterococcus mundtii</i>	4	6,4
<i>Enterococcus raffinosus</i>	2	3,2
TOPLAM	63	52,5

Dondurulmuş 120 et ve sebze örneğinden toplam 63 (%52,5) *Enterococcus* türü izole edilmiştir.

Çizelge 4.7. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 köfte örneğinde toplam aerob, koliform, *Enterococcus* ve *Staphylococcus aureus* sayımlarının dağılımı

Ürünün adı	Mikrobiyolojik değerler							
	Toplam aerob		Koliform		<i>Enterococcus</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
Köfte No.	cfu/g.	Log ₁₀ cfu	cfu/g.	Log ₁₀ cfu	cfu/g.	Log ₁₀ cfu	cfu/g.	Log ₁₀ cfu
1	5,2x10 ⁵	5,72	2,2x10 ⁵	5,34	0	0	7,6x10 ⁵	5,88
2	9,3x10 ⁵	5,97	2,5x10 ⁵	5,40	0	0	7,6x10 ⁵	5,88
3	5,3x10 ⁵	5,72	1,7x10 ³	3,23	0	0	7,6x10 ⁵	5,88
4	5,8x10 ⁵	5,76	3,0x10 ⁴	4,47	3,6x10 ³	3,55	7,6x10 ⁵	5,88
5	3,1x10 ⁵	5,50	3,0x10 ⁴	4,47	3,7x10 ³	3,56	7,6x10 ⁵	5,88
6	2,3x10 ⁵	5,36	0	0	0	0	1,5x10 ⁴	4,17
7	4,2x10 ⁵	5,62	0	0	4,1x10 ³	3,61	4,5x10 ⁵	5,65
8	7,6x10 ⁵	5,88	8,6x10 ⁴	4,93	0	0	7,4x10 ⁵	5,87
9	7,6x10 ⁵	5,88	7,6x10 ⁵	5,88	0	0	7,4x10 ⁵	5,87
10	7,6x10 ⁵	5,88	4,4x10 ⁵	5,64	3,8x10 ⁵	5,58	7,4x10 ⁵	5,87
11	7,6x10 ⁵	5,88	7,4x10 ⁵	5,86	3,8x10 ⁵	5,58	4,1x10 ⁵	5,61
12	7,6x10 ⁵	5,88	5,0x10 ⁵	5,70	3,5x10 ⁵	5,54	2,1x10 ⁵	5,32
13	1,6x10 ⁵	5,20	1,9x10 ⁵	5,28	0	0	4,1x10 ⁵	5,61
14	1,7x10 ⁵	5,73	0	0	0	0	3,9x10 ⁵	5,59
15	1,7x10 ⁵	5,23	1,9x10 ⁵	5,28	4,0x10 ⁵	5,60	4,1x10 ⁵	5,61
16	4,1x10 ⁵	5,61	0	0	0	0	2,4x10 ⁵	5,38
17	3,7x10 ⁵	5,57	1,9x10 ⁵	5,28	0	0	3,9x10 ⁵	5,59
18	7,6x10 ⁵	5,88	0	0	0	0	4,2x10 ⁵	5,62
19	7,6x10 ⁵	5,88	1,8x10 ⁵	5,25	0	0	4,3x10 ⁵	5,63
20	7,6x10 ⁵	5,88	4,4x10 ⁵	5,64	0	0	5,8x10 ⁵	5,76
<i>Toplamın ortalaması</i>	<i>5,40x10⁵</i>	<i>5,73</i>	<i>2,12x10⁵</i>	<i>5,32</i>	<i>7,60x10⁴</i>	<i>4,88</i>	<i>5,18x10⁵</i>	<i>5,71</i>

Çizelge 4.7'deki sonuçlara göre 20 köfte örneğinde; toplam aerob mikroorganizma en düşük 1,7x10⁵ cfu/g en yüksek 9,3x10⁵ cfu/g, (en düşük 5,23 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,97 log₁₀ cfu/g.) değerleri arasındadır. Bu köfte örneklerinden 15'inde tespit edilen koliform mikroorganizma sayısı en düşük 1,7x10³ cfu/g en yüksek 7,6x10⁵ cfu/g (en düşük 3,23 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,88 log₁₀ cfu/g.) değerleri olarak tespit edilmiştir. *Enterococcus* cinsi bakteriler 6 köfte örneğinde saptanmış olup en düşük 3,6x10³ cfu/g en yüksek 4,0x10⁵ cfu/g (en düşük 3,55 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,60 log₁₀ cfu/g.) değerleri arasındadır. *Staphylococcus aureus* 20 köfte örneğinde belirlenmiş olup en düşük 1,5x10⁴ cfu/g en yüksek 7,6x10⁵ cfu/g (en düşük 4,17 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,88 log₁₀ cfu/g.) değerleri arasındadır.

Çizelge. 4.8. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 kıyma örneğinde toplam aerob, koliform, *Enterococcus* ve *Staphylococcus aureus* sayımlarının dağılımı

Ürünün adı	Mikrobiyolojik değerler							
	Toplam aerob		Koliform		<i>Enterococcus</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	cfu/g.	Log ₁₀ cfu	cfu/g.	Log ₁₀ cfu	cfu/g.	Log ₁₀ cfu	Cfu/g.	Log ₁₀ cfu
1	4,8x10 ⁵	5,68	6,1x10 ⁴	4,78	0	0	4,2x10 ⁵	5,62
2	7,6x10 ⁵	5,88	0	0	0	0	3,9x10 ⁵	5,59
3	7,6x10 ⁵	5,88	2,0x10 ⁵	5,30	3,6 x10 ⁵	5,55	5,8x10 ⁵	5,76
4	7,6x10 ⁵	5,88	4,1x10 ⁵	5,61	4,5 x10 ⁴	4,65	3,9x10 ⁵	5,59
5	3,7x10 ⁵	5,56	1,5x10 ⁵	5,17	4,3 x10 ⁴	4,63	3,9x10 ⁵	5,59
6	3,9x10 ⁵	5,59	3,8x10 ⁵	5,57	0	0	7,6x10 ⁵	5,88
7	7,6x10 ⁵	5,88	5,7x10 ⁵	5,75	0	0	3,9x10 ⁵	5,59
8	7,6x10 ⁵	5,88	7,6x10 ⁵	5,88	0	0	7,6x10 ⁵	5,88
9	4,1x10 ⁵	5,61	1,9x10 ⁵	5,27	4,5 x10 ³	3,65	4,5x10 ⁵	5,65
10	6,1x10 ⁵	5,78	0	0	4,0 x10 ³	3,60	4,2x10 ⁵	5,62
11	5,4x10 ⁵	5,73	4,7x10 ³	3,67	4,2 x10 ³	3,62	3,0x10 ⁵	5,47
12	4,5x10 ⁵	5,65	1,6x10 ⁵	5,20	0	0	2,6x10 ⁵	5,41
13	4,1x10 ⁵	5,61	3,9x10 ⁵	5,59	4,7 x10 ³	3,67	3,9x10 ⁵	5,59
14	2,9x10 ⁵	5,46	2,7x10 ⁵	5,43	2,4 x10 ⁴	4,38	4,4x10 ⁵	5,64
15	3,9x10 ⁵	5,59	2,1x10 ⁵	5,32	4,1 x10 ³	3,61	5,3x10 ⁵	5,72
16	2,1x10 ⁵	5,32	3,6x10 ⁵	5,55	4,2 x10 ³	3,62	5,4x10 ⁵	5,73
17	4,5x10 ⁵	5,65	3,5x10 ⁵	5,54	0	0	3,9x10 ⁵	5,59
18	4,2x10 ⁵	5,62	5,4x10 ⁵	5,73	0	0	4,5x10 ⁵	5,65
19	2,1x10 ⁵	5,32	2,8x10 ⁵	5,44	2,1 x10 ⁵	5,32	3,9x10 ⁵	5,59
20	3,9x10 ⁵	5,59	4,2x10 ⁵	5,62	0	0	3,7x10 ⁵	5,56
<i>Toplamın ortalaması</i>	4,91x10 ⁵	5,69	2,85x10 ⁵	5,45	3,53x10 ⁴	4,54	4,50x10 ⁵	5,65

Çizelge 4.8'deki sonuçlara göre 20 kıyma örneğinde; toplam aerob mikroorganizma en düşük 2,1x10⁵ cfu/g en yüksek 7,6x10⁵ cfu/g (en düşük 5,32 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,88 log₁₀ cfu/g.) değerleri arasındadır. Bu kıyma örneklerinden 18'inde tespit edilen koliform mikroorganizma sayısı en düşük 4,7x10³ cfu/g en yüksek 7,6x10⁵ cfu/g (en düşük 3,67 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,88 log₁₀ cfu/g.) değerleri olarak tespit edilmiştir. *Enterococcus* cinsi bakteriler 11 kıyma örneğinde saptanmış olup en düşük 4,0x10³ cfu/g en yüksek 3,6x10⁵ cfu/g (en düşük 3,62 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,55 log₁₀ cfu/g.) değerleri arasındadır. *Staphylococcus aureus* 20 kıyma örneğinde belirlenmiş olup en düşük 2,6x10⁵ cfu/g en yüksek 7,6x10⁵ cfu/g (en düşük 5,41 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,88 log₁₀ cfu/g.) değerleri arasındadır.

Çizelge 4.9. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 kuşbaşı örneğinde toplam aerob, koliform, *Enterococcus* ve *Staphylococcus aureus* sayımlarının dağılımı

Ürünün adı	Mikrobiyolojik değerler							
	Toplam aerob		Koliform		<i>Enterococcus</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	cfu/g.	Log ₁₀ cfu	cfu/g.	Log ₁₀ cfu	cfu/g.	Log ₁₀ cfu	Cfu/g.	Log ₁₀ cfu
1	2,3x10 ⁵	5,36	3,5 x10 ⁵	5,54	0	0	4,8x10 ⁵	5,68
2	7,6x10 ⁵	5,88	4,6 x10 ⁵	5,66	2,8x10 ⁵	5,44	3,9x10 ⁵	5,59
3	3,7x10 ⁵	5,56	4,8 x10 ⁵	5,68	5,0x10 ⁵	5,70	5,7x10 ⁵	5,75
4	3,9x10 ⁵	5,59	0	0	0	0	1,6x10 ⁵	5,20
5	7,6x10 ⁵	5,88	6,9 x10 ⁵	5,83	4,0x10 ⁴	4,60	7,4x10 ⁵	5,87
6	3,7x10 ⁵	5,56	0	0	0	0	4,2x10 ⁵	5,62
7	4,2x10 ⁵	5,62	4,4 x10 ⁵	5,64	0	0	4,4x10 ⁵	5,64
8	3,7x10 ⁵	5,56	5,0 x10 ⁵	5,70	0	0	4,3x10 ⁵	5,63
9	8,9x10 ⁵	5,94	4,5 x10 ⁵	5,65	4,5x10 ⁴	4,65	3,9x10 ⁵	5,59
10	4,1x10 ⁵	5,61	4,4 x10 ⁵	5,64	0	0	5,7x10 ⁵	5,75
11	3,9x10 ⁵	5,59	3,8 x10 ⁵	5,58	3,8x10 ³	3,58	1,9x10 ⁵	5,27
12	3,7x10 ⁵	5,56	3,8 x10 ⁵	5,58	0	0	4,2x10 ⁵	5,62
13	3,9x10 ⁵	5,59	9,1 x10 ⁵	5,96	0	0	3,9x10 ⁵	5,59
14	7,6x10 ⁵	5,88	0	0	3,5x10 ⁴	4,54	3,9x10 ⁵	5,59
15	2,1x10 ⁵	5,32	0	0	0	0	4,0x10 ⁵	5,60
16	2,0x10 ⁵	5,30	5,0 x10 ⁵	5,70	6,2x10 ⁵	5,79	5,4x10 ⁵	5,73
17	3,7x10 ⁵	5,56	0	0	0	0	4,2x10 ⁵	5,62
18	3,7x10 ⁵	5,56	7,6 x10 ⁵	5,88	0	0	3,9x10 ⁵	5,59
19	3,9x10 ⁵	5,59	0	0	4,2x10 ⁴	4,62	3,7x10 ⁵	5,57
20	5,6x10	5,74	4,1 x10 ⁵	5,61	0	0	5,7x10 ⁵	5,75
<i>Toplamın ortalaması</i>	4,49x10 ⁵	5,65	3,57x10 ⁵	5,55	7,83x10 ⁴	4,89	4,33x10 ⁵	5,63

Çizelge 4.9'daki sonuçlara göre 20 kuşbaşı örneğinde; toplam aerob mikroorganizma en düşük 2,0x10⁵ cfu/g en yüksek 8,9x10⁵ cfu/g (en düşük 5,30 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,94 log₁₀ cfu/g.) değerleri arasındadır. Bu kuşbaşı örneklerinden 14'ünde tespit edilen koliform mikroorganizma sayısı en düşük 3,5x10⁵ cfu/g en yüksek 9,1x10⁵ cfu/g (en düşük 5,54 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,96 log₁₀ cfu/g.) değerleri olarak tespit edilmiştir. *Enterococcus* cinsi bakteriler 8 kuşbaşı örneğinde saptanmış olup en düşük 3,8x10³ cfu/g en yüksek 6,2x10⁵ cfu/g (en düşük 3,58 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,79 log₁₀ cfu/g.) değerleri arasındadır. *Staphylococcus aureus* 20 kuşbaşı örneğinde belirlenmiş olup en düşük 1,6x10⁵ cfu/g en yüksek 7,4x10⁵ cfu/g (en düşük 5,20 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,87 log₁₀ cfu/g.) değerleri arasındadır.

Çizelge 4.10. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 brokoli örneğinde toplam aerob, koliform, *Enterococcus* ve *Staphylococcus aureus* sayımlarının dağılımı

Ürünün adı	Mikrobiyolojik değerler							
	Toplam aerob		Koliform		<i>Enterococcus</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
Brokoli No.	cfu/g.	Log ₁₀ cfu	cfu/g.	Log ₁₀ cfu	cfu/g.	Log ₁₀ cfu	Cfu/g.	Log ₁₀ cfu
1	3,9x10 ⁵	5,59	5,4x10 ⁴	4,73	2,3x10 ⁴	4,36	1,9x10 ⁵	5,28
2	2,8x10 ⁵	5,44	3,7x10 ⁵	5,56	2,8x10 ⁵	5,44	4,9x10 ⁵	5,69
3	4,5x10 ⁵	5,65	0	0	0	0	3,6x10 ⁵	5,55
4	4,4x10 ⁵	5,64	0	0	0	0	4,0x10 ⁵	5,60
5	1,6x10 ⁵	5,20	0	0	1,9x10 ⁴	4,28	4,1x10 ⁵	5,61
6	3,9x10 ⁵	5,59	3,0x10 ⁵	5,47	0	0	1,7x10 ⁵	5,23
7	7,6x10 ⁵	5,88	5,8x10 ⁵	5,76	2,1x10 ³	3,32	3,7x10 ⁵	5,56
8	7,6x10 ⁵	5,88	7,6x10 ⁵	5,88	2,4x10 ³	3,38	2,7x10 ⁵	5,43
9	7,6x10 ⁵	5,88	2,4x10 ⁵	5,38	0	0	4,2x10 ⁵	5,62
10	4,1x10 ⁵	5,61	0	0	2,4x10 ³	3,38	8,4x10 ⁴	4,92
11	2,9x10 ⁵	5,46	1,8x10 ⁵	5,25	0	0	3,7x10 ⁵	5,56
12	6,2x10 ⁵	5,80	1,9x10 ⁵	5,27	0	0	2,8x10 ⁵	5,44
13	3,7x10 ⁵	5,56	2,4x10 ⁵	5,38	2,0x10 ³	3,30	5,8x10 ⁵	5,76
14	3,7x10 ⁵	5,56	0	0	0	0	5,7x10 ⁵	5,75
15	3,8x10 ⁵	5,58	0	0	0	0	3,9x10 ⁵	5,59
16	3,7x10 ⁵	5,56	3,9x10 ⁵	5,59	2,7x10 ³	3,43	4,8x10 ⁵	5,68
17	5,8x10 ⁵	5,76	6,6x10 ⁵	5,82	2,6x10 ⁵	5,41	4,7x10 ⁵	5,67
18	4,4x10 ⁵	5,64	3,7x10 ⁵	5,56	2,8x10 ⁵	5,44	5,5x10 ⁵	5,74
19	5,2x10 ⁵	5,71	3,9x10 ⁵	5,59	0	0	4,4x10 ⁵	5,64
20	6,1x10 ⁵	5,78	3,8x10 ⁵	5,58	0	0	5,2x10 ⁵	5,71
<i>Toplamın ortalaması</i>	4,67x10 ⁵	5,67	2,55x10 ⁵	5,40	4,36x10 ⁴	4,64	3,90x10 ⁵	5,59

Çizelge 4.10'daki sonuçlara göre 20 brokoli örneğinde; toplam aerob mikroorganizma en düşük 1,6x10⁵ cfu/g en yüksek 7,6x10⁵ cfu/g (en düşük 5,20 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,88 log₁₀ cfu/g.) değerleri arasındadır. Bu brokoli örneklerinden 14'ünde tespit edilen koliform mikroorganizma sayısı en düşük 5,4x10⁴ cfu/g en yüksek 7,6x10⁵ cfu/g (en düşük 4,73 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,88 log₁₀ cfu/g.) değerleri olarak tespit edilmiştir. *Enterococcus* cinsi bakteriler 10 brokoli örneğinde saptanmış olup en düşük 2,0x10³ cfu/g en yüksek 2,8x10⁵ cfu/g (en düşük 3,30 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,44 log₁₀ cfu/g.) değerleri arasındadır. *Staphylococcus aureus* 20 brokoli örneğinde belirlenmiş olup en düşük 8,4x10⁴ cfu/g en yüksek 5,8x10⁵ cfu/g (en düşük 4,92 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,76 log₁₀ cfu/g.) değerleri arasındadır.

Çizelge. 4.11. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 bezelye örneğinde toplam aerob, koliform, *Enterococcus* ve *Staphylococcus aureus* sayımlarının dağılımı

Ürünün adı	Mikrobiyolojik değerler							
	Toplam aerob		Koliform		<i>Enterococcus</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	cfu/g.	Log ₁₀ cfu	cfu/g.	Log ₁₀ cfu	cfu/g.	Log ₁₀ cfu	Cfu/g.	Log ₁₀ cfu
1	5,3x10 ⁵	5,72	3,7x10 ⁵	5,56	4,3x10 ⁵	5,63	1,2x10 ⁵	5,08
2	4,1x10 ⁵	5,61	0	0	0	0	8,2x10 ⁴	4,91
3	3,7x10 ⁵	5,56	1,3x10 ⁵	5,11	0	0	7,1x10 ⁴	4,85
4	4,2x10 ⁵	5,62	1,8x10 ⁵	5,25	4,6x10 ⁴	4,66	1,8x10 ⁵	5,25
5	5,7x10 ⁵	5,75	1,8x10 ⁵	5,25	3,5x10 ⁴	4,54	3,9x10 ⁵	5,59
6	4,1x10 ⁵	5,61	2,7x10 ⁵	5,43	0	0	4,2x10 ⁵	5,62
7	2,2x10 ⁵	5,34	0	0	0	0	2,6x10 ⁵	5,41
8	4,2x10 ⁵	5,62	2,3x10 ⁵	5,36	0	0	2,8x10 ⁵	5,44
9	1,8x10 ⁵	5,25	1,7x10 ⁵	5,23	4,6x10 ³	3,66	2,2x10 ⁵	5,34
10	1,7x10 ⁵	5,23	3,1x10 ⁵	5,49	1,9x10 ³	3,27	2,1x10 ⁵	5,32
11	2,1x10 ⁵	5,32	1,9x10 ⁵	5,27	3,2x10 ⁴	4,50	2,0x10 ⁵	5,30
12	5,2x10 ⁵	5,71	7,6x10 ⁵	5,88	0	0	3,9x10 ⁵	5,59
13	5,6x10 ⁵	5,74	5,8 x10 ⁵	5,76	0	0	4,4x10 ⁵	5,64
14	7,6x10 ⁵	5,88	3,8x10 ⁵	5,58	0	0	1,9x10 ⁵	5,27
15	7,6x10 ⁵	5,88	1,9x10 ⁵	5,27	5,2x10 ⁵	5,71	3,1x10 ⁵	5,49
16	9,3x10 ⁵	5,97	1,4x10 ⁵	5,14	0	0	3,9x10 ⁵	5,59
17	8,3x10 ⁵	5,92	1,5x10 ⁵	5,17	4,2x10 ⁴	4,62	4,8x10 ⁵	5,68
18	7,6x10 ⁵	5,88	2,0x10 ⁵	5,30	0	0	4,8x10 ⁵	5,68
19	3,7x10 ⁵	5,56	1,9x10 ⁵	5,27	0	0	4,1x10 ⁵	5,61
20	3,9x10 ⁵	5,59	5,7x10 ⁴	4,75	0	0	1,8x10 ⁵	5,25
<i>Toplamın ortalaması</i>	4,89x10 ⁵	5,69	2,34x10 ⁵	5,37	5,56x10 ⁴	4,74	2,85x10 ⁵	5,45

Çizelge 4.11'deki sonuçlara göre 20 bezelye örneğinde; toplam aerob mikroorganizma en düşük 1,7x10⁵ cfu/g en yüksek 9,3x10⁵ cfu/g (en düşük 5,23 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,97 log₁₀ cfu/g.) değerleri arasındadır. Bu bezelye örneklerinden 18'inde tespit edilen koliform mikroorganizma sayısı en düşük 5,7x10⁴ cfu/g en yüksek 7,6x10⁵ cfu/g (en düşük 4,75 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,88 log₁₀ cfu/g.) değerleri olarak tespit edilmiştir. *Enterococcus* cinsi bakteriler 8 bezelye örneğinde saptanmış olup en düşük 1,9x10³ cfu/g en yüksek 5,2x10⁵ (en düşük 3,27 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,71 log₁₀ cfu/g.) değerleri arasındadır. *Staphylococcus aureus* 20 bezelye örneğinde belirlenmiş olup en düşük 7,1x10⁴ cfu/g en yüksek 4,8x10⁵ cfu/g (en düşük 4,85 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,68 log₁₀ cfu/g.) değerleri arasındadır.

Çizelge. 4.12. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 karnabahar örneğinde toplam aerob, koliform, *Enterococcus* ve *Staphylococcus aureus* sayımlarının dağılımı

Ürünün adı	Mikrobiyolojik değerler							
	Toplam aerob		Koliform		<i>Enterococcus</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	cfu/g.	Log ₁₀ cfu	cfu/g.	Log ₁₀ cfu	cfu/g.	Log ₁₀ cfu	Cfu/g.	Log ₁₀ cfu
1	3,1x10 ⁵	5,49	3,7x10 ⁵	5,56	0	0	1,6x10 ⁵	5,20
2	2,6x10 ⁵	5,41	0	0	0	0	1,6x10 ⁵	5,20
3	3,7x10 ⁵	5,56	0	0	0	0	1,6x10 ⁵	5,20
4	2,1x10 ⁵	5,32	2,0x10 ⁵	5,30	0	0	5,1x10 ⁵	5,70
5	4,2x10 ⁵	5,62	7,6x10 ⁴	4,88	0	0	5,1x10 ⁵	5,70
6	4,1x10 ⁵	5,61	4,3x10 ⁵	5,63	0	0	1,6x10 ⁵	5,20
7	1,5x10 ⁵	5,17	4,0x10 ⁵	5,60	0	0	1,4x10 ⁵	5,15
8	4,4x10 ⁵	5,64	3,8x10 ⁵	5,58	5,7x10 ³	3,75	5,2x10 ⁵	5,72
9	3,8x10 ⁵	5,58	1,9x10 ⁵	5,28	0	0	2,1x10 ⁵	5,32
10	3,9x10 ⁵	5,59	3,9x10 ⁵	5,59	0	0	2,4x10 ⁵	5,38
11	4,2x10 ⁵	5,62	3,8x10 ⁵	5,58	0	0	4,6x10 ⁵	5,66
12	1,8x10 ⁵	5,25	4,0x10 ⁵	5,60	0	0	1,5x10 ⁵	5,17
13	4,5x10 ⁵	5,65	3,0x10 ⁵	5,47	2,9x10 ⁵	5,46	5,6x10 ⁵	5,75
14	3,4x10 ⁵	5,53	3,8x10 ⁵	5,58	0	0	2,5x10 ⁵	5,39
15	4,1x10 ⁵	5,61	3,7x10 ⁵	5,56	4,3x10 ⁴	4,63	5,8x10 ⁵	5,76
16	4,2x10 ⁵	5,62	5,3x10 ⁵	5,72	0	0	4,4x10 ⁵	5,64
17	3,2x10 ⁵	5,50	5,4x10 ⁵	5,73	0	0	4,2x10 ⁵	5,62
18	4,4x10 ⁵	5,64	2,0x10 ⁵	5,30	0	0	4,3x10 ⁵	5,63
19	2,1x10 ⁵	5,32	5,4x10 ⁵	5,73	4,9x10 ⁵	5,69	4,9x10 ⁵	5,69
20	1,9x10 ⁵	5,28	3,9x10 ⁵	5,59	0	0	5,0x10 ⁵	5,69
<i>Toplamın ortalaması</i>	3,36x10 ⁵	5,53	3,23x10 ⁵	5,51	4,14x10 ⁴	4,62	3,52x10 ⁵	5,55

Çizelge 4.12'deki sonuçlara göre 20 karnabahar örneğinde; toplam aerob mikroorganizma en düşük 1,5x10⁵ cfu/g en yüksek 4,5x10⁵ cfu/g (en düşük 5,17 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,65 log₁₀ cfu/g.) değerleri arasındadır. Bu bezelye örneklerinden 18'inde tespit edilen koliform mikroorganizma sayısı en düşük 7,6x10⁴ cfu/g en yüksek 5,4x10⁵ cfu/g (en düşük 4,88 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,73 log₁₀ cfu/g.) değerleri olarak tespit edilmiştir. *Enterococcus* cinsi bakteriler 4 bezelye örneğinde saptanmış olup en düşük 5,7x10³ cfu/g en yüksek 4,9x10⁵ cfu/g (en düşük 3,75 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,69 log₁₀ cfu/g.) değerleri arasındadır. *Staphylococcus aureus* 20 bezelye örneğinde belirlenmiş olup en düşük 1,4x10⁵ cfu/g en yüksek 5,8x10⁵ cfu/g (en düşük 5,16 log₁₀ cfu/g., en yüksek 5,76 log₁₀ cfu/g.) değerleri arasındadır.

Çizelge 4.13. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 köfte örneğinden izole edilen fekal koliform, *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'un dağılımı

Materyal	Mikroorganizma						Toplam			
	Fekal koliform		<i>Enterococcus faecalis</i>		<i>Enterococcus faecium</i>		Fekal koliform		Fekal streptokok	
Örnek sayısı	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
20	1	5	4	20	1	5	1	5	5	25

Çizelgede belirtilen sonuçlara göre çalışmamızda kullanılan 20 köfte örneğinden 1 (%5) örnekte fekal koliform, 4 (%20) örnekte *Enterococcus faecalis* ve 1 (%5) örnekte *Enterococcus faecium* olmak üzere toplam 5 (%25) fekal streptokok izole edilmiştir.

Çizelge 4.14. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 kıyma örneğinden izole edilen fekal koliform, *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'un dağılımı

Materyal	Mikroorganizma						Toplam			
	Fekal koliform		<i>Enterococcus faecalis</i>		<i>Enterococcus faecium</i>		Fekal koliform		Fekal streptokok	
Örnek sayısı	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
20	9	45	7	35	2	10	9	45	9	45

Çizelgede belirtilen sonuçlara göre çalışmamızda kullanılan 20 kıyma örneğinden 9 (%45) örnekte fekal koliform, 7 (%35) örnekte *Enterococcus faecalis* ve 2 (%10) örnekte *Enterococcus faecium* olmak üzere toplam 9 (%45) fekal streptokok izole edilmiştir.

Çizelge 4.15. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 kuşbaşı örneğinden izole edilen fekal koliform, *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'un dağılımı

Materyal	Mikroorganizma						Toplam			
	Fekal koliform		<i>Enterococcus faecalis</i>		<i>Enterococcus faecium</i>		Fekal koliform		Fekal streptokok	
Kuşbaşı										
Örnek sayısı	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
20	7	35	6	30	3	15	7	35	9	45

Çizelgede belirtilen sonuçlara göre çalışmamızda kullanılan 20 kuşbaşı örneğinden 7 (%35) örnekte fekal koliform, 6 (%30) örnekte *Enterococcus faecalis* ve 3 (%15) örnekte *Enterococcus faecium* olmak üzere toplam 9 (%45) fekal streptokok izole edilmiştir.

Çizelge 4.16. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 brokoli örneğinden izole edilen fekal koliform, *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'un dağılımı

Materyal	Mikroorganizma						Toplam			
	Fekal koliform		<i>Enterococcus faecalis</i>		<i>Enterococcus faecium</i>		Fekal koliform		Fekal streptokok	
Brokoli										
Örnek sayısı	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
20	8	40	5	25	3	15	8	40	8	40

Çizelgede belirtilen sonuçlara göre çalışmamızda kullanılan 20 brokoli örneğinden 8 (%40) örnekte fekal koliform, 5 (%25) örnekte *Enterococcus faecalis* ve 3 (%15) örnekte *Enterococcus faecium* olmak üzere toplam 8 (%40) fekal streptokok izole edilmiştir.

Çizelge 4.17. Araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 bezelye örneğinden izole edilen fekal koliform, *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'un dağılımı

Materyal	Mikroorganizma						Toplam			
	Fekal koliform		<i>Enterococcus faecalis</i>		<i>Enterococcus faecium</i>		Fekal koliform		Fekal streptokok	
Örnek sayısı	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
20	9	45	3	15	3	15	9	45	6	30

Çizelgede belirtilen sonuçlara göre çalışmamızda kullanılan 20 bezelye örneğinden 9 (%45) örnekte fekal koliform, 3 (%15) örnekte *Enterococcus faecalis* ve 3 (%15) örnekte *Enterococcus faecium* olmak üzere toplam 6 (%30) fekal streptokok izole edilmiştir.

Çizelge 4.18. araştırmada materyal olarak kullanılan dondurulmuş 20 karnabahar örneğinden izole edilen fekal koliform, *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'un dağılımı

Materyal	Mikroorganizma						Toplam			
	Fekal koliform		<i>Enterococcus faecalis</i>		<i>Enterococcus faecium</i>		Fekal koliform		Fekal streptokok	
Örnek sayısı	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
20	5	25	3	15	0	0	5	25	3	15

Çizelgede belirtilen sonuçlara göre çalışmamızda kullanılan 20 karnabahar örneğinden 5 (%25) örnekte fekal koliform, 3 (%15) örnekte *Enterococcus faecalis* ve 0 (%0) örnekte *Enterococcus faecium* olmak üzere toplam 3 (%15) fekal streptokok izole edilmiştir.

6. SONUÇ

Dondurma işleminin en önemli amacı, gıdaların doğal yapısının mümkün olduğu oranda korunmasıdır. Bu nedenle dondurma işlemi için kullanılan hammaddelerin gerekli tazelik özelliklere sahip olması ve ürünün doğal yapısını bozabilecek kimyasal, biyokimyasal ve mikrobiyolojik aktivitenin önlenmesi için de gerekli teknik ekipmanın kullanımı önemlidir[Güneş ve Keskin, 1999].

Hazırlama aşamasından dondurma işlemine kadarki süreçte gıdalarda mikrobiyal bulaşma meydana gelebilir. Gıdalara mikrobiyal bulaşma genellikle ambalaj oluşumuyla kendini göstermektedir. Bunun dışında dondurulmuş gıdalarda işlem uygulaması sırasında personelin hijyen yetersizliği sonucu özellikle fekal mikroorganizmaların gıdalara bulaşması söz konusu olmaktadır. Alet ve ekipmanlar da olası bir kontaminasyon kaynağı olarak gösterilmektedir. Ayrıca tüketime sunulan raflardaki dondurulmuş gıdalara yeterince soğutma işlemlerinin uygulanmaması sonucu inhibe edilmiş olan mikroorganizmaların tekrar üremesine sebep olur. Paketlerde meydana gelen bozulmalar sonucu da mikroorganizmaların tekrar ürüne geçmesine sebep olmaktadır.

Dondurulmuş gıdalara uygulanan işlemler sırasında hijyen ve sanitasyon kurallarına uyulmadığı zaman tüketici için potansiyel tehlike yaratmakta ve bu sağlık risklerinin saptanması için dondurulmuş gıda kontaminasyon göstergesi mikroorganizmalar açısından incelenmektedir.

Gıdada koliform mikroorganizma bulunması, o gıda maddesinin hijyenik olmayan koşullar altında üretimini, fekal koliform ve fekal streptokok mikroorganizmalarının bulunması ise dışkı orijinli fekal materyalle ürünün direkt veya indirekt kontaminasyonunu göstermektedir.

E. coli, özellikle fekal kontaminasyon indikatörü olma ve genetik araştırmalarda kullanılma nedenleriyle halen yeryüzünde, üzerinde en çok çalışılan canlı olma niteliğini taşımaktadır[Şansever, 2001].

Doğrudan veya dolaylı olarak dışkıyla bulaşmış tüm gıdalar *E. coli* enfeksiyonlarında aracı gıdalar olarak tanımlanabilirler. Bunların arasında özellikle çiğ yenen salatalar, pişirildikten sonra tekrar ısıtılmadan yenilen yemekler ve yeterince ısıtılmadan tüketilen gıdalar diğer patojen türlerde olduğu gibi *E. coli* enfeksiyonlarında da önemlidir[Çakır, 1999].

Araştırmamızda 1.10.2004 – 31.10.2005 tarihleri arasında Ankara'nın çeşitli market ve süpermarketlerinden toplanan 20 köfte, 20 kıyma, 20 kuşbaşı, 20 brokoli, 20 bezelye ve 20 karnabahar olmak üzere toplam 120 dondurulmuş et ve sebze örneği materyal olarak kullanılmıştır. Çalışılan dondurulmuş et ve sebze örneklerinden *Enterococcus* ve fekal koliform türlerinin izolasyonu, identifikasyonu ve sayımı yapılmıştır. Ayrıca çalışmamızda, örneklerdeki toplam aerob ve *Staphylococcus aureus* sayıları değerlendirilmiştir.

Araştırmada materyal olarak kullanılan 120 dondurulmuş et ve sebze örneklerinden BGLB (Brillant Gren Bile Broth) besiyerinde 95 (%79,2) koliform mikroorganizma izole edilmiştir[Bkz. Çizelge 4.2].

Araştırmada materyal olarak kullanılan 120 dondurulmuş et ve sebze örneklerinden EMB (Eosine Methylene Blue) Agar besiyerinde toplam 39 (%32,5) *E. coli* izole edilmiştir[Bkz. Çizelge 4.3].

Nazem ve Saleh 1994 yılında Mısır'da inceledikleri 25 Ras peynirinin %40'nda koliform, %32'sinde *E. coli* tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar bizim *E. coli* sonuçlarımızla uygunluk gösterirken, koliform sonuçlarımızdan daha düşük olduğu görülmüştür[Nazen ve Saleh, 1994].

Splittstoesser 1983 yılında haşlanıp dondurulmuş gıda ürünlerinin *E. coli* üzerinde yapılan bir araştırmada izolatların %29'unda *E. coli* tespit edilmiştir. Bu sonuçlar bizim dondurulmuş et ve sebze örneklerindeki *E. coli* sonucuyla paralellik göstermektedir[Splittstoesser, 1983].

Schroeder ve arkadaşları 2003 yılında Washington'da hayvan kaynaklı sığır (50), tavuk (51), domuz (49) ve hindi (50) toplam 200 örnekte yaptıkları çalışmada sığır örneklerinden 21 (%42)'nde, tavuk örneklerinden 22 (%43)'nde, domuz örneklerinin 15 (%31)'nde ve hindi örneklerinin 15 (%30)'nde olup, toplam 73 (%37) örnekte *E. coli* izole etmişler. Özellikle domuz ve hindi örneklerindeki *E. coli* sayıları bizim sonuçlarla çok yakınlık gösterirken tavuk ve sığır sonuçları bizim sonuçlardan daha yüksektir. Toplamda elde ettikleri *E. coli* sonuçları bizim sonuçlar ile uygunluk göstermektedir[Schroeder ve ark., 2003].

Capita ve arkadaşları 2002 yılında Leon (İspanya)'da 5 farklı perakendeciden alınan dondurulmuş 40 ızgaralık piliç örneğinde kontaminasyon oranını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada toplam aerobik mikroorganizma, koliform ve *E. coli* sayımlarında. Toplam aerobik mikroorganizma sayısı \log_{10} cfu/g $5,19 \pm 0,43$, Koliform sayısı \log_{10} $2,73 \pm 0,29$ ve *E. coli* sayısı \log_{10} $3,16 \pm 0,69$ olarak tespit edilmiş. Elde edilen toplam aerob sayıları bizim toplam aerob sayılarımızla benzerlik gösterirken, koliform sayısı oldukça düşüktür[Capita ve ark., 2002].

Swartzentruber ve arkadaşları 1980 yılında İngiltere'de 148 Kabuğu çıkarılmış ve pişirilmiş karides üzerinde yaptıkları bir çalışmada örneklerin %25'nde koliform mikroorganizma ve örneklerin %2'sinde *E. coli* izole edilmiş. Elde edilen bu sonuçlar bizim elde ettiğimiz sonuçlardan çok daha düşük olduğu görülmüştür[Swartzentruber ve ark., 1980].

Kıvanç ve arkadaşları 1994 yılında Eskişehir'de 23 adet dondurma örneğinin %78'inde koliform mikroorganizma izole etmişlerdir. Koliformların bulunma oranı bizim sonuçlarımızla uygunluk göstermektedir[Kıvanç ve ark., 1994].

Flowers ve arkadaşları 1992 yılında Washington’da 45 peynir örneğinde yaptıkları çalışmada 44 (%97,7) örnekten 161 *E.coli* suşu izole edilmesi sonucu bu kadar yüksek fekal koliform sayısını gıda kaynaklı hastalıklara neden olabileceği şeklinde yorumlamışlardır[Flower ve ark., 1992].

Hood ve arkadaşları 1982 yılında ABD’nin Florida eyaletinin 5 farklı koy’undan toplayıp 2 ile 8°C arasında 7 ve 14 gün bekletilen 250 istiridye örneğinde Fekal koliform ve *E. coli* arasındaki ilişkiyi araştırmak için yaptıkları çalışmada. 7’nci gün sonunda fekal koliform sayısı $2,1 \times 10^4$ ile $1,7 \times 10^5$ cfu/g. arasında, *E. coli* sayısı $6,8 \times 10^3$ ile $2,2 \times 10^4$ cfu/g. arasında, 14 gün sonra da fekal koliform sayısı $5,8 \times 10^4$ ile $2,5 \times 10^5$ cfu/g arasında, *E. coli* sayısı ise $1,2 \times 10^3$ ile $3,5 \times 10^3$ cfu/g. arasında tespit edilmiş[Hood ve ark., 1982].

Birçok araştırmacıya göre klasik indikatör koliformlar ve fekal kontaminasyon indikatörü *E. coli*’nin yanı sıra fekal streptokokların kurutma ve dondurma gibi olumsuz şartlara diğer indikatör mikroorganizmalardan çok daha dayanıklı olması fekal streptokokların özellikle dondurulmuş gıdalardaki direkt fekal kontaminasyonun indikatörü olma özelliğini artırmaktadır.

Dondurulmuş gıdalarda *Enterococcus*’lar koliformlardan daha uzun süre canlılıklarını korumaktadırlar. Bunun nedeni kötü çevre koşullarına karşı dirençli olmalarıdır. Geniş pH sınırları içerisinde üreyebilir, asit gıdalarda, tuzlu ve soğuk ortamlarda canlılıklarını daha uzun süre koruyabilir ve termodurik karakteri nedeni ile ısıl işlemden kurtulabilirler ancak bütün bunlara karşılık “Klasik Enterokok’lar” su ve diğer gıdalarda sanitasyon indikatörü olarak koliformların yerini hiçbir zaman alamamıştır.

Günümüzde de “Klasik Enterokok’ların” tek başlarına sanitasyon konusunda yetersiz bilgi vereceği ve bu nedenle de sanitasyonun yeterliliği konusunda karar vermede “Klasik Enterokok’ların” koliform bakteri veya toplam bakteri sayısı ile birlikte kullanılmasının daha doğru olacağına ilişkin öneriler yapılmaktadır.

Enterococcus faecalis'in asit gıdalarda *E. coli*'ye oranla daha uzun süre yaşadığı sprey-drying ile kurutulmuş yumurta tozlarının depolama süresinde *Enterococcus*'ların, *E. coli* ve koliform guruba göre daha yüksek performans gösterdiği belirlenmiştir. Soğuk ve rutubetli topraklarda *E. faecalis*'in canlı kalma süresi uzadığı gibi özellikle donmuş gıdalarda *Enterococcus*'ların koliform guruba oranla daha etkili indikatörler olduğu tespit edilmiştir.

Tüm olumlu bulgular *Enterococcus*'ların indikatör olarak kullanılmalari konusundaki tartışmaları sonlandırmamıştır.

Enterococcus gurubu mikroorganizmalarla yapılan çalışmalarda gıda ürünlerinde *Enterococcus*'ların varlığı üretim ve yapım sırasındaki yetersiz sanitasyon koşullarının bir göstergesi olduğu tespit edilmiştir[Giraffa ve ark., 1997].

Fekal streptokok'ların kurutma ve dondurma gibi olumsuz şartlara koliform mikroorganizmalardan çok daha dayanıklı olması fekal streptokokları bitki, su ve dondurma gibi gıdalardaki direkt fekal kontaminasyonun indikatör olma özelliğini artırmaktadır[E-Zanfaly, 1991].

Hayvanların gastrointestinal sisteminde *Enterococcus*'ların bulunması kesimhanelerde ete bulaşma potansiyelini arttırmaktadır[Franz ve ark., 1999].

Enterococcus'lar spor oluşturmeyen bakteriler arasında ısıya toleransı en fazla olan bakterilerdendir. Bundan dolayı pişmiş ve işlenmiş etlerde bozulmaya neden olabilirler[Franz ve ark., 1999].

Enterococcus'lar yalnız sıcakkanlı hayvanlarda değil aynı zamanda toprakta, yüzey sularında, bitki ve sebzelerde bulunmaktadır[Franz ve ark., 1999]

Enterococcus'ların genel anlamda tamamen güvenli oldukları konusunda fikirbirliği olmadığı için gıda hijyencilerinin çoğu *Enterococcus*'ların gıdalardaki varlığını kabullenmede isteksizler. *Enterococcus*'ların gıdalarda sağlık sorunları yaratmamış

olmalarına rağmen, bu bakterilerin olası fırsatçılıkları son zamanlarda tartışmaya sebep olmuştur[Adams, 1999].

Enterococcus'lar normalde düşük virulanslıdırlar ama *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* türlerinin bazı suşlarının, varolan bütün antibiyotiklere karşı dirençli olmaları klinik terapide ciddi sorunlara neden olmaktadır[Franz ve ark., 1999].

Yapılan birçok araştırmada gıdalarda en fazla sıklıkla izole edilen *Enterococcus* cinsine ait olan türler *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* türleridir. *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. mundtii*, *E. raffinosus* daha az sıklıkla bulunmaktadır[Giraffa, 2002].

Araştırmada materyal olarak kullanılan 120 dondurulmuş et ve sebze örneklerinden SB (Slanetz Bartley) besiyerinde 48 (%40) örnekte *enterococcus* izole edilmiştir[Bkz. Çizelge 4.4].

SB besiyerinden izole edilen 63 *Enterococcus* izolatının 28 (%44,4)'i *E. faecalis*, 12 (%19)'si *E. faecium*, 7 (%11,1)'si *E. hirae*, 6 (%9,5)'si *E. durans*, 4 (%6,4)'ü *E. gallinarum*, 4 (%6,4)'ü *E. mundtii* ve 2 (%3,2)'si *E. raffinosus* olarak tanımlanmıştır[Bkz. Çizelge 4.6].

Çizelge 4.6'da belirtilen sonuçlarımız doğrultusunda 120 dondurulmuş et ve sebze örneğinde *E. faecalis* en fazla sıklıkla izole edilen mikroorganizma olup ikinci sıklıkta ise *E. faecium* izole edilmiştir. Bu sonuçlarımız Giraffa'nın 2002 yılında yaptığı çalışmanın sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

2004 yılında Johnston ve arkadaşları yeşil hardal, maydanoz ve kavun üzerinde yaptıkları bir çalışmada 185 *Enterococcus* izolatından 97'si (%52) *E. faecalis*, ve 50'si (%27) diğer *E. faecium* izole edilmesi bizim sonuçlarımızı desteklemektedir[Johnston ve Jaykus, 2004].

Karaboz ve arkadaşları 2002 yılında İzmir’de marketlerde satılan 35 dondurulmuş et örneğinden elde ettikleri sonuçlar Fekal streptokok $2,9 \times 10^3 - 1,1 \times 10^5$ cfu/g. dir. Araştırmamızda fekal streptokok sayısı köfte örneklerinde $3,6 \times 10^3 - 4,0 \times 10^5$ cfu/g., kıyma örneklerinde $4,0 \times 10^3 - 3,6 \times 10^5$ cfu/g ve kuşbaşı örneklerinde $3,8 \times 10^3 - 6,2 \times 10^5$ cfu/g olup, Karaboz ve arkadaşlarının sonuçları ile uygunluk göstermektedir [Karaboz ve Dinçer, 2002].

Pavia ve arkadaşlarının 1999 yılında İtalya’da çiğ etlerden yapmış oldukları çalışmada tavuk, kuzu, domuz, hindi ve dana eti olmak üzere toplam 100 tane et örneğinde (% 65,3 tavuk eti, %7 kuzu eti, %31,3 hindi eti, %40 dana eti) *Enterococcus* izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu et örneklerinde izole edilen toplam 45 *Enterococcus* izolatının 10’u (%24,4) *E. faecium*, 15’i (%33,3) *E. faecalis*, 3’ü (%6,7) *E. durans*, 3’ü (%6,7) *E. gallinarum*, 2’si (%4,4) *E. casseliflavus* izole edilmesi bizim sonuçları desteklemektedir [Pavia ve ark., 2000].

2003 yılında Malezya’da yapılan çalışmada 150 dondurulmuş et ve et ürünlerinin 39’unda (%26) *E. faecalis* SBV’den ön zenginleştirme yöntemiyle izole edilmiştir [Fifadara ve ark., 2003].

Hayes ve arkadaşları 2001-2002 yılları arasında toplam 981 tavuk, hindi, domuz ve sığır et örneklerinden 1357 *Enterococcus* izolatı elde etmişler ve baskın tür olarak %61 oranında *E. faecium* izole etmişlerdir. Bunu %29 oranında *E. faecalis*, %5,7 oranında *E. hirae* izlemektedir [Hayes ve ark., 2003].

İnsalata ve arkadaşları 1969 yılında dondurulmuş gıda ve sebze örneklerinde yüksek oranda fekal streptokok ve koliform bakterileri izole etmişlerdir [İnsalata ve ark., 1969].

İsrail’de fekal streptokoklar dondurulmuş meyve ve sebzeler için mikrobiyolojik kriterler arasına alınmıştır. Öyle ki fekal streptokok sayısı 10^3 g⁻¹’i geçmemelidir [Shapton, 1991].

Avustralya ve İsveç'te satışı sunulan dondurmalarındaki fekal streptokok sayısı 10^2 ve 10^3 g^{-1} 'i aşmamalıdır[Shapton & Shapton, 1991].

Devriese ve arkadaşları 1995 yılında hayvan kaynaklı (et ve peynir)taze ve hazır gıda örneklerinde yaptıkları çalışmada izole ettikleri 161 türün hepsi *Enterococcus* cinsine ait olduğunu ve bunlardan 94 (%58,3)'ü *Enterococcus faecalis*, 71 (%44,1)'i *Enterococcus faecium* ve 15 (%9,3)'i de *Enterococcus hirae* veya *Enterococcus durans* olarak tanımlanması bizim izole ettiğimiz *Enterococcus* türlerinin dağılımı ile paralellik göstermektedir[Devriese ve ark., 1995].

Robredo ve arkadaşları 1999 yılında İspanya'da 18 farklı süpermarket'ten toplanan 101 tavuk, kaynatılmış jambon ve hindi örneğinden izolasyonun görüldüğü 92 örnekten 25'inde (%27,2) *Enterococcus* varlığı tespit edilmiş. Elde edilen sonuçlar bizim *Enterococcus* izolasyon oranından (%40) daha düşüktür[Robredo ve ark., 2000].

Tartura ve Lorenzelli 1994 yılında kümes hayvan et örnekleri üzerinde yaptıkları çalışmada sayıları 8×10^5 ile 9×10^5 cfu/ml arasında olan örneklerin %75'inde enterokok izole etmiş ve izole edilen 93 enterokok izolatından 64'ü (%69) *E. faecalis* ve *E. faecium* olarak tanımlanmış. Elde edilen sonuçların bizim sonuçlarımıza göre yüksek olduğu görülmüştür[Tartura ve Lorenzelli, 1994].

Mathara ve arkadaşları 2004 yılında Kenya'da ulusal bir süt ürünü olan Kule naoto 22 örneğinden izole edilen *Enterococcus* sayısı $5,5 \log_{10} \text{ cfu/ml}^{-1}$ olarak belirlenirken toplam 300 izolat arasında 100 *Enterococcus* izolatından en baskın olarak tespit edilen tür 60(%60) *E. faecium* olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar bizim sonuçlarla uygunluk göstermemektedir[Mathara ve ark., 2004].

Chemuliti ve arkadaşları 2002 yılında Nairobi, Kenya'da 60 su depo konteynerinden ve 20 su borusundan olmak üzere 80 su örneğinde yaptıkları araştırmada, su borularının 2 (%10)'nde ve su depo konteynerlerinin 37 (%61,7)'nde fekal streptokok izole edilirken, su borularının 2 (%10)'nde ve su depo konteynerlerinin 30

(%50)'nde *E. coli* izole edilmiştir. Elde edilen sonuçlar fekal streptokokların *E. coli*'ye oranla baskın olduğunu göstermektedir ve elde edilen sonuçları bizim sonuçlarla benzerlik göstermektedir[Chemuliti ve ark., 2002].

Paille ve arkadaşları 1987 yılında Louisiana'da İstiridyelerdeki *E. coli* ve *Enterococcus* mikroorganizmalarının mevsimsel varyasyonunu gözlemek için yaptıkları araştırmada *E.coli* ve *Enterococcus*'un sayılarının en düşük olduğu Mart ayında *E. coli* 0/100 g., *Enterococcus* 0/100g. Olarak tespit edilirken. Syılarının en yüksek oldukları Nisan ayında ise *E. coli* 2200/100g. ve *Enterococcus* 1300/100g. olarak tespit edilmiş[Paille ve ark., 1987].

Hirovani ve arkadaşları 2001 yılında ABD ve Meksika'da Pazar yerlerinde satılan domates, yeşil salata, lahana, pırasa, biber, havuç, kırmızı turp, semizotu, kereviz, ıspanak, Çin lahanası ve maydanoz olmak üzere 12 farklı sebzenin yüzeyinden aldıkları örneklerden yaptıkları çalışmada örneklerin hepsinde fekal streptokok, koliform ve fekal koliform bakterileri izole etmişlerdir. Yapılan araştırmada fekal streptokok sayıları diğer indikatörler ile önemli bir benzerlik göstermektedir. Elde edilen sonuç bizim dondurulmuş brokoli, bezelye ve karnabahar örneklerinde fekal streptokok bulunması ve fekal koliform oranıyla benzerlik göstermesi açısından paralellik göstermektedir[Hirovani ve ark., 2001].

Turantaş ve arkadaşları 2001 yılında 53 dondurma ve 55 dondurulmuş sebze (kırmızı biber, yeşil biber, bezelye, patates, brokoli, karnabahar, domates, havuç ve yeşil fasulye) örneklerinde yapmış oldukları çalışmada 108 dondurulmuş sebze ve dondurma örneklerinin 58 (%53)'i, koliform, 12 (%11)'si fekal koliform ve 84 (%78)'ü fekal streptokok sonuç verdiği gözlenmiştir. Koliform ve fekal streptokokların bu kadar yüksek oranda izole edilmesi, koliform ve fekal streptokokların dondurulmuş sebzelerde sanitasyon göstergesi olarak kullanılmalarını olası kılmaktadır. Elde edilen sonuçlarda koliform sayısı bizim sonuçlarımızla benzerlik gösterirken fekal streptokok sayıları bizim sonuçlardan daha yüksek olduğu gözlenmektedir[Turantaş, 2001].

Lang ve arkadaşları 1999 yılında Atlanta'da meyve sularının 6 gün buzdolabında bekletilmeleri sonucunda fekal koliform ve enterococcus varlıkları konusunda yaptıkları çalışmada, meyve sularından izole edilen 10 E.coli izolatından 8'i 6 günlük 4°C de buzdolabındaki bekleme süresi sonunda sayılarında $\angle 3,0$ log. cfu azalma görüldüğü, 21 *Enterococcus* izolatından sadece 5'nin canlılığını devam ettirebilirken 6 günlük 4°C de buzdolabındaki bekleme süresi sonunda $\geq 3,0$ log. cfu azalma tespit edilmiş[Lang ve ark., 1999].

Kumar ve arkadaşları 1986 yılında buzdolabında depolanmış kümes hayvanı etlerinin kemiklerinden arındırılmasının 4 aşamasında koliform ve fekal streptokok sayılarını gözleme çalışmalarında koliform mikroorganizma sayısı 1'nci aşamada 4,30, 2'nci aşamada 4,40, 3'ncü aşamada 4,27 ve 4'ncü aşamada 4,45 x log₁₀/g. olarak tespit edilirken Fekal streptokok mikroorganizma sayısı 1'nci aşamada 3,90, 2'nci aşamada 3,78, 3'ncü aşamada 4,52 ve 4'ncü aşamada 4,78 x log₁₀/g. olarak tespit edilmiştir. Bizim araştırmamızda fekal streptokok sayısı köfte örneklerinde 4,88 x log₁₀/g., kıyma örneklerinde 4,54 x log₁₀/g. ve kuşbaşı örneklerinde 4,89 x log₁₀/g. sayısı Kumar ve arkadaşlarının sonuçları ile paralellik gösterirken araştırmamızda tespit edilen koliform mikroorganizma sayısı yönünden (köfte 5,73 x log₁₀/g., kıyma 5,69 x log₁₀/g. ve kuşbaşı 5,65 x log₁₀/g.) sonuçlarımız yüksek bulunmuştur[Kumar ve ark., 1986].

Kakar ve Udipi 2002 yılında Mumbai/Hindistan'da, tren garında, küçük dükkanlardan ve yolda satılan olmak üzere üç farklı noktada satılan hazır yiyeceklerden olan tavuk burger, tavuk pizza, tavuk şiş, tavuk kanadı, tavuk köfte, kuzu burger, kuzu kebabı olmak üzere toplam 139 örnekte yaptıkları mikrobiyolojik kalite araştırmasında gıdalarda fekal koliform mikroorganizma sayısı en düşük 2,20±2,01 log cfu/g. ve en yüksek 7,49±2,11 log cfu/g. olarak tespit edilirken fekal streptokok sayısı en düşük 0,96±1,34 log cfu/g. ve en yüksek 5,78±1,13 log cfu/g. olarak tespit edilmiş. Elde edilen koliform sonuçları, sonuçlarımıza göre yüksek, fekal streptokok sayısı ise sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir[Kakar ve Udipi, 2002].

Dondurulmuş et ve sebzeler üzerine yapılan çalışmalarda klasik indikatör olan koliform ve fekal kontaminasyon indikatörü *E. coli* gibi mikroorganizmaların yanı sıra fekal orijinli mikroorganizmalar olan fekal streptokokların da indikatör olarak kullanılması konusunda farklı görüşler mevcuttur. Avustruya, İsveç ve İsrail gibi gelişmiş ülkelerde dondurulmuş ve fermente ürünlerde fekal streptokoklar (10^2 - 10^3 g⁻¹ geçmemelidir) inidikatör mikroorganizmalar olarak kullanılmaktadır.

Çalışmamızda elde edilen koliform mikroorganizma, *E. coli* ve *Staphylococcus aureus* sonuçlarımız, ICMSF (International Commission on Microbiological Specification for Foods) 1978 ve TSE (Türk Standartlar Enstitüsü) 1990-2003 standartlarının dondurulmuş et ve sebze ürünlerindeki mikrobiyolojik kriterlerde belirtilen sayılardan[Bkz. Çizelge 1.3 ve Çizelge 1.4] daha yüksek oranda tespit edildiği ve ayrıca fekal streptokok sayıların da yüksek oranda tespit edilmesi, ülkemizdeki dondurulmuş gıdaların üretim, paketlenme ve depolama aşamalarındaki hijyen durumlarının belirlenmesi için koliform mikroorganizma ve *E. coli*'ye oranla kurutma ve dondurma gibi olumsuz şartlara karşı daha dayanıklı olan fekal streptokokların da indikatör mikroorganizma olarak kullanılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Adams, M.R., "Safety of industrial lactic acide bacteria" *Journal of Biotechnology*, 68: 171-178 (1999).
- Abbar, F.M., "Incidence of Fecal Coliforms and Servovars of Enteropathogenic *Escherichia coli* in Naturally Contaminated Cheese", *Journal of Food Protection*, 51(5): 384-385 (1988).
- Acar, N., Berken, R., Kurt, O., Akan, Ö., "Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında enterokok identifikasyon modelleri", *Folra Derg.*, 1: 36-39 (1996).
- Alkış, N., "Gıda Mikrobiyolojisi", *Yeni İnci Matbaacılık sanayii*, Ankara, 174 (1982).
- Anonymous, "Determination of coliform bacteria in foods using preincubation", *The National Food Administration Method*, 105: 587 (1984).
- Araujo, V.S., Pagliares, V.A., Querioz, M.L.P. and Freitas-Almeida, A.C., "occurrence of *Staphylococcus* and enteropathogens in soft cheese commercialized in the city of Rio de Janeiro, Brazil", *Journal of Applied Microbiology*, 92: 1172-1177 (2002).
- Arda, M., "Genel bakteriyoloji", *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Yayınları*, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 267 (1981).
- Barrow, G.J., Fetham, R.K.A., "Cowan and Steel's of Manual Clinical Microbiology", *Mosby Year Book Europe Limited*, London, 308-312 (1995).
- Bekar, M., "*Enterobacteriaceae* sınıfı mikroorganizmaların genel karakterleri ve tanı yöntemleri", Etlik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü, *Seminer notları*, Ankara, 32 (1990).
- Bensoussan, R., Weiss, R., Laverdier, M., "Vancomycin-resistant enterococcus", *Scand. J. Gastroenteroc.*, 33: 1233-1238 (1998).
- Bilgehan, H., "Enterococcus ve D Grubu Streptokoklar", Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları, 9. Baskı, *Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları*, İzmir, 268 (1996).
- Bilgin, B., Yenitaş, R., "Gıdaların muhafazası", Bilim Uzmanlığı Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü*, Ankara, 84 (1992).
- Birollo, G.A., Reinheimer, J.A., Vinderola, C.G., "Enterococci vs non-lactic acid microflora as hygiene indicators for sweetened yoghurt" *Food Microbiology*, 18: 597-604 (2001).

Brashears, M. “*Escherichia coli* 0157:H7”, *College of Agricultural Sciences and Natural Resources*, Washington DC, ICFIE Techniques, 220 (2004).

Capita, R., Alonso-Calleja, C., Garcia-Arias, M.T., Moreno, B., and Del Camino Garcia-Fernandez, M., “Methods to Detect the Occurrence of Various Indicator Bacteria on the Surface of Retail Poultry in Spain”, *Journal of Food Science*, 67(2): 86-99 (2002).

Cemeroğlu, B., Acar, J., “Dondurulmuş meyve ve sebze teknolojisi” *Flora Derg.*, Ankara, 162-173 (1986).

Chemuliti, J.K., Gathura, P.B., Kyule., M.M. and Njeruh, F.M., “Bacteriological Qualities of Indoor and Out-Door Drinking Water In kiberia Sun-Location of Nairobi, Kenya”, *East African Medical Journal*, 79(5): 59-65 (2002).

Chen, C.H. and Wu, S.D. “Agar Medium for Enumeration of Faecal Coliforms”, *Journal of Food Science*, 57(6): 1454-1457 (1992).

Chen, L., Wong, H., Yu, C., “Occurrence of Vibrios in frozen seafoods and survival of psychotrophic *Vibrio cholerae* in broth and shrimp homogenate at low temperatures”, *Journal of Food Protection*, 58: 263-267 (1994).

Colquhoun, K.O., Timms, S., and Fricker, C.R., “Detection of *Escherichia coli* in potable water using direct impedance technology”, *J. Appl. Bacteriol.* 79: 635-639 (1995).

Çakır, I., “*E. coli* 0157:H7 Aranması”, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayınları*, Ankara, 267-272 (1999).

Çelik, S., “Hayvan kökenli enterokok suşlarının virulens faktörü”, Doktora Tezi, *Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ABD.*, Ankara, 80-89 (2001).

Çetinkaya, Y., Falk, P., Mayhall, C.G., “Vancomycin-resistant enterococci”, *Clin. Microbiol. Rev.*, 13: 686-707 (2000).

Devriese, L.A., Pot, B., Van Dame, L., Kersters, K., Haesbrouck, F., “Identification of Enterococcus species isolated from foods of animal origin”, *International Journal of Food Microbiology*, 26: 187-197 (1995).

Devriese, L.A., Cruz-Colque, J.L., De Herdt, P., Haesebrouck, F., “Identification and composition of the tonsillar and anal enterococcal flora of dogs and cats”, *J. Appl. Bacteriol.*, 73: 421-425 (1992).

Dore, I., “Fish and shellfish quality assessment” *An Osprey Book, Published by Van Nostrand Reinhold*, New York, 36-42 (1991).

Dupont, J., Menard, D., Herve, C. and Minier, B., “Analytical procedure for use of conductance measurement to estimate *Escherichia coli* in shellfish”, *J. Appl. Bacteriol.* 77: 296-302 (1994).

Durmaz, G., Şengül, M., Akgün, Y., “A grubu β hemolitik streptokokların identifikasyonunda basitrasin, SXT ve PYR hidroliz testlerinin karşılaştırılması”, *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 25 : 31-33 (1995).

Edlund, C., Barkholt, L., Olsson-Liljequist, B., Nord, C.E., “Effect of vancomycin on intestinal flora patients who previously received antimicrobial therapy”, *Clin. Infect. Dis.*, 25: 729-732 (1997).

El-Zanfaly, H.T., “The need for new microbiological water quality criteria”, *Environment Protection Engineering*, 17: 41-52 (1991).

Ergün, Ö., Civar, E., “İstanbul’da Tüketime Sunulan Ambalajlı, Ambalajsız; Yerli ve İthal Dondurmaların Genel Mikrobiyolojik Kaliteleri”, *Veterinarium*, 3(1): 29-31 (1992).

Erkaya, A.C., “Gıdaların dondurulması ve soğutulması hakkında soğuk gerçekler”, *Gıda Sanayi Dergisi*, 34: 15-19 (1994).

Facklam, R.R., Collins, M.D., “Identification of enterococcus species isolated from human infections by a conventional test scheme”, *Journal of Clinical Microbiology*, 27 : 731-734 (1989).

Facklam, R., Elliott, J.A., “Identification, classification and clinical relevance of catalase negative, Gram positive cocci, excluding the streptococci and enterococci”, *Clin. Microbiol. Rev.*, 8: 479-495 (1995).

Facklam, R.R., Sahm, D.F., “Enterococcus”, Manual of Clinical Microbiology, 6th edition, *American Society for Microbiology*, Washington DC, 48: 308-314 (1995).

Facklam, R.R., Washington, J.A., “Streptococcus and related catalase negative Gram positive cocci”, Balows A, Hausler WJ. Manual of Clinical Microbiology. 5th edition. *American Society for Microbiology*, Washington DC, 21: 238-257 (1991).

Ferley, J.P., Zmirou, D., Baleux, F., Baleux, B., Fera, P., Largbait, G., Jacq, E., Moissonnier, B., Blineau, A., and Boudot, J., “Epidemiological Significance of Microbiological Pollution Criteria for River Recreational Waters”, *International Journal of Epidemiology*, 18(1): 197-203 (1989).

Fifadara, N., Radu, S., Hassan, Z., Beuchat, L.R. and Rusul, G., “Hemolytic and Nonhemolytic Vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* isolated from Beef Imported to Malaysia”, *Journal of Food Protection*, 66(10): 1845-1850 (2003).

Flowers, R.S., Andrews, W., Donnelly, C.W. and Koenig, E., "Pathogens in milk and milk products. In standart methods for the examination of dairy products", *American Public Association*, 32: 103-200 (1992).

Franz, C.M.A.P., Holzapfel, W.H., Stiles, M.E., "Enterococci at the cressroads of the food safety", *International Journal of Food Microbiology*, 47: 1-24 (1999).

Giraffa, G., Carminati, D., Neviani, E., "Enterococci isolated from dairy products: a review of risk and potential technology use", *Journal of Food Protection*, 60(6): 732-738 (1997).

Giraffa, G., "Enterococci from foods", *FEMS Microbiology Reviews*, 26(2): 163-171 (2002).

Gordon, S., Swenson, J.M., Hill, B.C., Pigott, N.E., Thronsberry, C., Jarvis, W.R., Tenover, F.C., "Antimicrobial susceptability patterns of common and unusual species of enterococci causing infections in the United States", *Journal of Clinical Microbiology*, 30: 2373-2378 (1992).

Güneş, E., Keskin, G., "Türkiye’de dondurulmuş meyve ve sebze sanayinin yapısı ve gelişim eğilimi", *Türkiye Ziraat Odaları Birliği*, Ankara, 25 (1999).

Gürgün, V., Halkman, A.K., "Mikrobiyolojide sayım yöntemleri", *Gıda Teknolojisi Dergisi*, 7: 146 (1988).

Güvener, E., "Hastanede yatan hastalarda dışkıda ampisiline ve vankomisine dirençli enterokok kolonizasyonunun gösterilmesi", Uzmanlık Tezi, *Ankara Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD.*, Ankara, 44 (1998).

Halkman, A.K., Doğan, H.B., "Gıdalarda *E. coli* sayılmasında TS/ISO 6063’ün irdelenmesi", *Kükem Dergisi*, 21(3): 41-48 (1998).

Halkman, A.K., Doğan, H.B., Noveir, M.R., "Gıda maddesinde *Salmonella* ve *E. coli* aranması ve sayılma yöntemlerinin karşılaştırılması", *Gıda Teknolojisi Dergisi*, 17: 23-93 (1994).

Hardie, J.M., "Enterococci", Bergey’s Manuel of Systematic Bacteriology, *Williams & Wilkins*, Baltimore, 2: 1063-1065 (1986).

Hartman, A.P., Diebel and Stevering, M.L., "Enterococci", Compendium for the Microbiological Examination of Foods, *American Public Health Association*, Washington DC, 523-531 (1992).

Hayes, J.R., English, L.L., Carter, P.J., Proescholdt, T., Lee, K.Y., Wagner, D.D. and White G.D., "Prevelence and Antimicrobial Resistance of Enterococcus species isolated from retail meats", *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 89-94 (2001).

Hirovani, H., Naranjo, J., Moroyoqui, P.G., Gerba, C.P., “Demonstration of Indicator Microorganisms on Surface of Vegetables on the Market in the United States and Mexico” *Journal of Food Microbiology and Safety*, 67(5): 1847-1850 (2001).

Hofstra, H., Veld, J., “Methods for detection and isolation of *E. coli* including pathogenic strains”, *J. Appl. Bact. Sym. Suppl.*, 12: 197-212 (1988).

Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T., “Gram-positive Cocci”, Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology 9th edition *Williams & Wilkins Company*, USA., 527 (1995).

Hood, M.A., Ness, G.E. and Blake, N.J., “Relationship Among Fecal Coliforms, *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. In Shellfish”, *Applied and Environmental Microbiology*, 41: 122-126 (1982).

Jiang, X., Chai, T., “Survival of *V. Parahaemolyticus* at low temperatures under stravation conditions and subsequend resuscitation of viable, nonculturable cells”, *Applied and Environmental Microbiolog*, 53: 1300-1305 (1996).

Johnston, L.M. and Jaykus, L., “Antimicrobial Resistance of Enterococcus species isolated from Produce”, *Applied and Environmental Microbiology*, 70(5): 3133-3137 (2004).

Kakar, D.A. and Udipi, S.A., “Microbiological Quality of Redy-to-eat Meat and Meat Products Sold in Mumbai City”, *J. Food Sci. Technol.*, 39(3): 299-303 (2002).

Karaboz, İ. and Dinçer, B. “Microbiological Investigation on Some fo the Commercial Frozen Meat in İzmir”, *Turkish Electronic Journal of Biotechnology*, Speccial Issue 21: 18-23 (2002).

Kaufhold, A., Ferrieri, P., “The microbiologic aspest, including diagnosis of beta hemolytic streptecoccal and enterococcal infections”, *Infect. Dis. Clinics of North America*, 7 : 235-256 (1993).

Kıvanç, M., Yamaç, M., Kunduhoğlu, B., “Eskişehir’de Halkın Tüketimine Sunulan Dondurmaların Mikrobiyolojik Analizi”, *Gıda*, 19(5): 317-322 (1994).

Kdoming, K.J., Mayer, H.K., Kneifel, W., “Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of Enterococcus spp. 1. Media for isolation and enumeration”, *Int. J. Food Microbiol.*, 42: 218-242 (2003).

Klein, G., “Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract”, *Int. J. Food Microbiol.*, 41: 144-157 (2003).

Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Winn, Jr., "The Gram Positive Cocci Part 11 Streptococci and Streptococcus-like Bacteria", Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 4th edition, **J.B. Lippincott Company**, Philadelphia, 431 (1992).

Kumar, S., Pedersen, W.J. and Caspersen, C., "Effect of Raw Materials, Deboning Methods and Chemical Additives on Microbial Quality of Mechanically Deboned Poultry Meat During Frozen Storage", **Journal of Food Science and Technology**, 23: 217-220 (1986).

Kundakçı, A., "Kanatlı et teknolojisi: Dondurma ve dondurularak depolama", **Gıda Sanayi Dergisi**, 2(5): 111-117 (1990).

Lang, M.M., Ingham, C. and Ingham, B.H., "Verifying Apple Cider Plant Sanitation and Hazard Analysis Critical Control Point Programs: Choice of Indicator Bacteria and Testing Methods", **Journal of Food Protection**, 62(8): 887-893 (1999).

Lavoie, M.C., "Identification of strains isolated as total and fecal coliforms and comparison of both groups as indicators of fecal pollution in tropical climates" **Can. J. Microbiol.**, 29: 689-693 (1983).

Lorn, S., Singer, C., Tucci, V., Morthland, V.H., Phaller, M.A., İsenberg, H.D., "The challenge of vancomycin resistant enterococci in a clinical and epidemiology study", **American Journal of Infection Control**, 23: 170-180 (1995).

Madden, R.H., Gilmore, A., "Impedance as an alternative to MPN enumeration of coliforms in pasteurized milks", **Lett. Appl. Microbiol.**, 21: 387-388 (1995).

Mathara, J.M., Schillinger, M., Kutima, P.M., Mbugua, S.K., Holzaphel, W.H., "Isolation, identification and Characterisation of the dominant microorganisms of *Kule naoto*: the Maasia traditional fermented milk in Kenya", **International Journal of Food Microbiology**, 94: 269-278 (2004).

Mims, C.A., Playfair, J.H.L., Roitt, I.M., Walkelin, D., "Genus enterococcus" Medical Microbiology, **Mosby Year Book Europe Limited**, London, The Appendix A-15 (1993).

Mundy, L.M., Sahm, D.F., Gilmore, M., "Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance", **Clin. Microbiol. Rev.**, 13: 513-522 (2000).

Murray, B.E., "The life and times of the enterococcus" **Clinical Microbiology Rev.**, 3: 45-46 (1990).

Murray, P.R., Kobayashi, G.S., Phaller, M.A., Rosenthal, K.S., "Enterococcus, I.N", **Medical Microbiology**, St Louis. Mosby 7: 197 (1994).

Müftügil, N., Yiğit, V., “Dondurulmuş meyve ve sebze endüstrisinde hammadde sorunları”, *TÜBİTAK Proje Ara Raporu*, 58: 26 (1984).

Nazem, A.M., Saleh, T.M., “Chemical and Microbiological Evaluation of Market Ras Chees”, *Assuit Veterinary Medical Journal*, 30(59): 139-144 (1994).

Neave, P., Waddell, M.J., Prentice, G.A., “A medium for the detection of Lancefield Group D cocci “in skimmed milk powder by measurement of conductivity changes”, *Journal of Applied Bacteriology*, 65: 437-448 (1988).

Noveir, M.R., “Gıda maddelerinde koliform grup bakteri aranması üzerine karşılaştırmalı bir araştırma”, Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bil. Enst. Gıda Müh. Anabilim Dalı*, Ankara, 59 (1993).

Paille, D., Hackney, C., Reily, L., Cole, M. And Kilgen M., “Sesonal Variation in the Fecal Coliform Population of Louisiana Oysters and its Relationship to Microbiological Quality”, *Journal of Food Protection*, 50(7): 545-549 (1987).

Pala, A., “Meyve ve sebzelerin dondurularak saklanması” *Gıda Dergisi*, 8(3): 131-137 (1983).

Pavia, M., Carmello, G.A., Salpietro, L., and Angelillo, I.F., “Vancomycin Resistance and Antibiotic Susceptibility of Enterococci in Raw Meat”, *Journal of Food Protection*, 63(7): 912-915 (2000).

Pinto, B., Pierotti, R., Canale, G., Reali, D., “Characterisation of faecal streptococci as indicators of faecal pollution and distribution in the environment”, *Let. Appl. Microbiol.*, 29: 258-263 (1999).

Qoednau, M., Ahrne, S., Petesson, A.C., Molin, G., “Antibiotic resistant strains of Enterococcus isolated from swedish and danish retailed chicken and pork”, *Journal of Applied Microbiology*, 84: 1163-1170 (1998).

Robredo, B., Singh, K.V., Baquero, F., Murray, C.T. “Vancomycin-resistant enterococci isolated from animals and food”, *International Journal of Food Microbiology*, 54: 197-204 (2000).

Ryan, K.J., “Streptococci and Enterococci” Sherris Medical Microbiology, 3rd edition, *American Society for Microbiology*, Washington DC, 282 (1994).

Schroeder, C.M., White, D.G., Ge, B., Zhang, Y., McDermott, P.F., Ayers, Sh., Zhao, Sh., Meng, J., “Isolation of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* from retail meats purchased in Grater Washington, DC, USA”, *International Journal of Food Microbiology*, 85: 197-202 (2003).

Shapton, D.A. and Shapton, N.F., “Criteria for ingredients and finished products”, *Principles and Practices for the Safe Processing of Foods*, 2: 377-344 (1991).

Splittstoesser, D.F., "Indicator organisms on frozen blanched vegetables", *Food Technology*, 14: 105-106 (1983).

Swartzentruber, A., Schab, A.H., Duran, A.P., Wentz, B.A., Read, Jr. R.B., "Microbiological quality of frozen shrimp and lobster tail in the retail market", *Appl. Environmental Microbiology*, 40: 765-769 (1980).

Şansever, F., "Dondurma örneklerinde EMS ve MUG yöntemleri ile koliform, fekal koliform ve *E. coli* aranması", Yüksek Lisans Tezi, *İnönü Üniv. Fen. Bil. Enst. Gıda Müh. Anabilim Dalı*, Malatya, 7 (2001).

Tartura, G.C. and Lorenzelli, P., "Gram-pozitive cocci isolated from slaughtered poultry", *Microbiol. Res.*, 149: 203-213 (1994).

Temiz, A., Ünlütürk, A. Turantaş, F. "İndikatör Mikroorganizmalar", Ege Üniversitesi, *Mengi Tan Basımevi*, Çınarlı-İzmir 87-107 (1998).

Toranzos, G.A., McFfters, G.A., "Detection of indicator microorganisms in environmental freshwaters and drinking waters", *Manual of Environmental Microbiology*, Washington DC, ASM Pres P. 184-194 (1997).

Töreci Köngen, B., "Antibiotic resistance in enterococci isolated from urine with emphasis to high-level resistance to β lactams and aminoglycosides", *Ankem Derg.*, 7: 217-224 (1993).

Tunail, N., "Mikrobiyal enfeksiyonlar ve İntoksikasyonlar", Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölüm Yayınları*. 17: 59-86 (1999).

Tunail, N., "Entry Microflora of Intestine, Biology of the Enterococcus spp.," Encyclopedia of Food Microbiology *Academic Pres.*, London, 1365-1373 (1999).

Turantaş, F., "Incidence of faecal streptococci as an indicator of sanitation in ice-cream and frozen vegetables", *Int. Journal. Of Food Science and Technology*, 37: 239-243 (2002).

Ulusoy, S., "Türkiye'deki dondurulmuş meyve ve sebze endüstrisi", *Gıda Sanayi Dergisi*, 34: 22-25 (1994).

Ünlütürk, A., Turantaş, F., "Fekal koliform bakterilerin indikatör olarak önemi", *Gıda Mikrobiyolojisi, Mengi Tan Basımevi*, İzmir (1998).

Vanos, V., "Importancia de los estreptococos del grupo D en productos lactose fermentados como indicadores de aseguramiento de calidad en comparacion con coliforms" *Boletín IDF*, 264 (1991).

Warke, R., Kamat, A., Kamat, M., Thomas, P., "Incidence of pathogenic psychrotrophs in ice creams sold in some retail outlets in Mumbai, India", *Food Control*, 11: 77-83 (2000).

Wegener, H.C., Madsen, M., Nielsen, N., Aarestrup, F.M., "Isolation of vancomycin resistant *Enterococcus faecium* from food", *International Journal of Food Microbiology*. 35: 57-66 (1997).

White, C.H., "Testing milk and milk products", *Applied Dairy Microbiology*, 438-439 (1999).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : KALA, Erol
 Uyuğu : KOSOVA
 Doğum tarihi ve yeri : 05.01.1974 Prizren
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 00 (38129) 41055
 Faks :
 e-mail : erolkala@hotmail.com.

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi /Biyoloji Bölümü	2006
Lisans	Osmangazi Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2000
Lise	Prizren Tıp Meslek Lisesi	1992

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
1998-2000	Hacı Ömer Lütfü İlkokulu (Mamuşa)	Öğretmen
2000-2001	Emin Durak İlkokulu (Prizren)	Öğretmen
2001-2003	UNHCR (Prizren)	Tercüman

Yabancı Dil

İngilizce
 Sırpça
 Arnavutça

Yayınlar

Hobiler

Futbol, Basketbol, Bilgisayar teknolojileri