

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***LISTERIA MONOCYTOGENES* İLE KONTAMİNE EDİLMİŞ
SIĞIR ETİ PREPARATLARINDA NİSİN, LİZOZİM, SİTRİK
ASİT VE LAKTİK ASİT'İN ETKİSİ**

Vet. Hek. Raziye Filiz AKKUŞ
Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Yükseklisans Tezi

Danışman
Doç.Dr. Ufuk KAMBER

2012 – KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***LISTERIA MONOCYTOGENES* İLE KONTAMİNE EDİLMİŞ
SIĞIR ETİ PREPARATLARINDA NİSİN, LİZOZİM, SİTRİK
ASİT VE LAKTİK ASİT'İN ETKİSİ**

Vet. Hek. Raziye Filiz AKKUŞ
Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Yükseklisans Tezi

Danışman
Doç.Dr. Ufuk KAMBER*

*Öğrenci Raziye Filiz AKKUŞ' un yüksek lisans eğitimi sırasında sırasıyla tez danışmanları Doç. Dr. Mehmet ELMALI ve Yrd. Doç. Dr. Berna DUMAN AYDIN' ın görevlerinden ayrılmalarından dolayı, tezin 2. düzeltme aşamasından sonraki sürecinde danışmanlığına Doç. Dr. Ufuk KAMBER atanmıştır.

Bu çalışma KAÜ bilimsel ve teknolojik araştırma fonu tarafından desteklenmiştir.
Proje no:2010-VF-56

2012 – KARS

İÇİNDEKİLER

	Tablo Listesi	I
	Şekil Listesi	II
	Grafik listesi	III
	Kısaltmalar ve Simgeler	IV
	Teşekkür	V
1.	GİRİŞ	1
1.1.	<i>Listeria monocytogenes</i> ' in tarihçesi ve genel özellikleri	3
1.2.	<i>Listeria monocytogenes</i> kaynaklı enfeksiyonlar	6
1.3.	<i>Listeria monocytogenes</i> ' in doğada bulunuşu ve bulaşma yolları	8
1.4.	Et ve et ürünlerinde <i>Listeria</i> varlığı	11
1.5.	Süt ve süt ürünlerinde <i>Listeria</i> varlığı	12
1.6.	<i>Listeria monocytogenes</i> üzerine etkili bazı faktörler	13
2.	Gıda maddelerinde kullanılan dekontaminant maddeler ve yöntemler	15
2.1.	Dekontaminasyonda kullanılan yöntemler	15
2.1.1	Dekontaminant maddeler	16
2.1.1.1.	Doğal antimikrobiyel maddeler	16
2.1.1.1.1.	Organik asitler	16
2.1.1.1.1.1.	Laktik asit	16
2.1.1.1.1.2.	Sitrik asit	17
2.1.1.1.2.	Lizozim	18
2.1.1.2.	Mikrobiyel kaynaklı antimikrobiyel maddeler	20
2.1.1.2.1.	Bakteriosin	20
2.1.1.2.2.	Nisin	21
2.1.1.2.2.1.	Tanımı ve kimyasal yapısı	21
2.1.1.2.2.2.	Etki mekanizması	21
2.1.1.2.2.3.	Gıda maddelerinde kullanımı	23
3.	MATERYAL VE METOT	24
3.1.	Materyal	24
3.2.	Metot	24

3.2.1	<i>Listeria monocytogenes</i> 'in aktiveştirilmesi	
3.2.2	Kontaminasyon için <i>Listeria monocytogenes</i> solüsyonunun hazırlanması	24
3.2.3.	Dekontaminant maddelerin hazırlanması	25
3.2.3.1.	Lizozimin hazırlanışı	25
3.2.3.2.	Nisin hazırlanışı	25
3.2.3.3.	Sitrik asitin hazırlanışı	25
3.2.3.4.	Laktik asitin hazırlanışı	25
3.2.3.5.	Fizyolojik tuzlu suyun hazırlanışı	25
3.2.4.	Örneklerin <i>Listeria monocytogenes</i> ile kontaminasyonu	25
3.2.5.	Antimikrobiyellerin uygulanışı	26
3.2.6.	Mikrobiyolojik Analizler	28
3.3.	<i>Listeria monocytogenes</i> ' in doğrulanması için identifikasyonda kullanılan testler	30
3.3.1.	Gram Boyama	30
3.3.2.	Katalaz	30
3.3.3.	Oksidaz	30
3.3.4.	Sulphate indol motility medium	31
3.3.5.	β – Hemoliz	31
3.3.6.	Karbonhidrat fermentasyon testleri	31
3.3.7.	MR/VP	32
3.3.8.	İndol	32
3.3.9.	Üre	32
3.4.	Duyusal Analizler	33
3.5	İstatistiksel Analizler	33
4.	BULGULAR	34
4.1.	Duyusal Analiz Sonuçları	36
5.	TARTIşMA VE SONUÇ	38
6.	ÖZET	49
7.	SUMMARY	50
8.	KAYNAKLAR	51
9.	ÖZGEÇMİş	60

TABLO LİSTESİ

- Tablo 1 :** Listeria türlerinin biyokimyasal özellikleri
- Tablo 2 :** 1996-2002 yılları arasında Avrupa Birliği raporunda bildirilen çeşitli ülkelere ait listerioz vakaları
- Tablo 3 :** 1979- 2000 yıllarına ait gıda kaynaklı listerioz vakaları
- Tablo 4 :** *L.monocytogenes*'in gıdalardaki prevalansı
- Tablo 5 :** Gıda sanayinde yaygın olarak kullanım alanı bulan organik asitlerin bazı genel özellikleri
- Tablo 6 :** Denemelere ait on günlük analiz sonuçlarının ortalaması
- Tablo 7 :** Renk değişimi için puanlama testi sonuçları
- Tablo 8 :** Yüzselle ifade hedonik skala testi sonuçları
- Tablo 9 :** Günlere göre *L.monocytogenes*' in ilerlemesindeki değişimler
- Tablo 10 :** Antimikrobiyel maddelerin kontrol grubuna göre mikrobiyolojik farklılıkları

II

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1** : Listeria türlerinin çeşitli bulaşma kaynakları
- Şekil 2** : Et örnekleri ve uygulanan işlemler
- Şekil 3** : Et preparatlarına uygulanan mikrobiyolojik analiz prosedürü
- Şekil 4** : Yüzselleme ifade hedonik skala testi

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1: *L. monocytogenes*' in günlere göre değişimindeki grafiksel görünümü

IV

KISALTMALAR VE SİMGELER

a_w	:	Su aktivitesi
CRF	:	FDA yasal düzenleme kodu
E	:	Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Gıda Kodu
EDTA	:	Etilen diamin tetra asetik asit
FDA	:	Food and Drug Administration
FSIS	:	Food Safety and Inspection Service
FTS	:	Fizyolojik Tuzlu Su
Gr	:	Gram
GRAS	:	Genel olarak güvenli kabul edilebilir ürün
IU	:	İnternasyonal ünite
Kob	:	Koloni oluşturan ünite
Log	:	Logaritma
NAG	:	N-asetilglukozamin
NAM	:	N-asetilmuramik asit
WHO	:	Dünya Sağlık Örgütü

TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında yoğun çalışma temposundan feragat ederek maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, tezimin planlanması, yürütülmesi ve sonuçlarının değerlendirilmesi aşamasında çok değerli vaktini ayıran fakat görevinden ayrılan eski danışman hocam Yrd.Doç.Dr. Berna DUMAN AYDIN'a, tezimin düzenlenmesi aşamasında yardımlarını hep yanımda hissettiğim yeni danışman hocam Doç.Dr. Ufuk KAMBER'e destekleri ve manevi yardımları için Doç. Dr. Mehmet ELMALI'ya, Doç Dr. Leyla VATANSEVER'e, Doç. Dr. Şükrü Metin PANCARCI'ya, Yrd. Doç. Dr. Nebahat Bilge ORAL'a, Yrd. Doç. Dr. Çiğdem SEZER'e, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Salih OTLU'ya, Arş. Gör. Elif TAZEGÜL ve Uzman Dr. Doğan AKÇA'ya, yüksek lisans süresince desteğini her zaman yanımda hissettiğim anneme, babama ve eşime, çalışmamda manevi olarak desteğini hissettiğim Yrd. Doç. Dr. Alper KARADAĞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

Beslenme genel anlamda büyüme ve gelişmeyi sağlamak, sağlıklı ve verimli olarak uzun süre yaşamak için vücudun gereksinim duyduğu besin öğelerinin vücuda alınması ve kullanılması olarak tanımlanmaktadır. Bu besin öğeleri gıda maddeleri içinde bulunan karbonhidratlar, yağlar, proteinler, vitaminler, mineraller ve sudan oluşmaktadır. Hayvansal proteinler, büyüme gelişme için gerekli olan ve vücut tarafından sentezlenemeyen esansiyel amino asitleri yeterli ve dengeli bir şekilde içerirler. Et hayvansal gıdalar içerisinde, vitaminler, bazı mineraller ile (özellikle P ve Fe) biyolojik değeri ve sindirilebilirliği yüksek proteinler bakımından zengin olmasından ve bunun yanı sıra iştah artırıcı, lezzetli ve üretimi kolay bir besin maddesi olması açısından tercih edilmektedir (9, 10, 13, 43).

Et ve et ürünlerinin mikrobiyel bozulması, sahip olduğu bakteri türüne ve toplam bakteri sayısına bağlı olarak değişiklik gösterir. Mikroorganizmalar et üzerinde çoğalarak metabolizma ürünlerini ile kokuşma, acılaşıma, asitleşme, gaz oluşumu ve renk değişimi gibi bozulmalara neden olurlar. Et ürünleri, üretimlerinin değişik aşamalarında farklı nedenlerle çeşitli kontaminasyonlara maruz kalabilirler (41, 42). Mikrobiyel kökenli kontaminasyonlar ise bu noktada çok büyük önem arz eder. Üretimin hijyenik prosedürler çerçevesinde yapılmaması, üretimde kullanılan hammaddenin, baharatların, kılıfların kalitesizliği, personelin hijyen kurallarına gerekli önemi göstermemesi ve üretimde kullanılan alet-ekipmanın bakımsız ve kötü şartlarda olmasına bağlı olarak, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium* ve yine insan sağlığını ciddi boyutlarda tehdit ettiği bilinen *Listeria* türlerine et ve et ürünlerinde rastlamak mümkündür (32).

Et ve et ürünlerinin diğer mikroorganizmalar ve *Listeria monocytogenes* ile kontamine olabildiği ve böyle etlerin halk sağlığı açısından tehlike oluşturduğu bilinmektedir (6).

Avrupa birliği bünyesinde yapılan düzenlemelerle gıda mevzuatında et ve et ürünleri için mikrobiyolojik kriterler kapsamına alınan *L.monocytogenes* halk sağlığı açısından oldukça önem verilen bir mikroorganizmadır. *L.monocytogenes*'in çevreye geniş ölçüde yayılabilen buzdolabı ısısında gelişebilen, soğutma, ısıtma, dondurma ve kurutma gibi işlemlerde dahi canlılığını koruyabilen bir patojen olması halk sağlığı açısından taşıdığı riski artırmaktadır (6). *Listeria* türleri içinde *L.monocytogenes* insan ve hayvanlarda ciddi sporadik enfeksiyonlara yol açarken, *L.ivanovii* sadece hayvanlarda hastalık oluşturmaktadır (72, 90).

Et ve et ürünlerinde, bu gibi mikrobiyolojik risk faktörlerini elimine etmek için, bazen de bu ürünlerin teknolojileri gereği üretimin çeşitli aşamalarında uygulanan tuz, sorbat, nitrit gibi kimyasallar, birtakım gazlar, starter kültür, bakteriyosin ve organik kökenli maddeler günümüzde sıkça kullanım alanı bulmuştur (53, 78, 99).

1.1. *Listeria monocytogenes*'in tarihçesi ve genel özellikleri

Listeria monocytogenes ilk olarak 1911 yılında tavşanların nekrozlu karaciğerinden izole edilmiş ve *Bacterium hepatitis* olarak adlandırılmıştır (96). Murray, 1926 yılında Cambridge Üniversitesinde laboratuvar tavşanlarında mononükleosis benzeri bir hastalık oluşturan etkene *Bacterium monocytogenes* adını, Pirie, 1927 yılında Güney Afrika'da bir rodent türünün karaciğer nekrozundan izole edilen bakteriye ise Lord Lister'in adına hürmeten *Listerella hepatolitica* adını vermiştir. Sonunda araştırmacılar bu iki etkenin aynı mikroorganizma olduğunu anlamış ve bakterinin adını *Listerella monocytogenes* olarak belirlemişlerdir. Ancak *Listerella* adında bir protozoanın varlığı nedeniyle son olarak bakterinin adı *Listeria monocytogenes* olarak değiştirilmiştir (3, 87, 96).

Yıllar ilerledikçe *Listeria* türlerinin dahil edildiği familyalar değişiklik göstermiştir. Önceleri Coryneform grup bakteriler içinde yer almış, 1957 yılında *Erysipelotrix* cinsi ile birlikte *Corynebacteriaceae* familyasında kabul edilmiş, 1986 yılından bu yana ise *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*'nin "Gram (+), düzenli ve sporsuz çomaklar" bölümünde *Lactobacillus*, *Erysipelothrix*, *Kurtahi*, *Caryophanon*, *Renibacterium* ve *Brochothrix* ile birlikte yer almıştır (17).

İzole edildiğinden bu yana 7 farklı türü tespit edilmiştir. Bunlar; 1966 yılında *L.grayi*, 1979 yılında *L.innocua*, 1984 yılında *L.ivanovii*, 1971 yılında *L.murrayi*, 1961 yılında *L.denitrificans*, 1983 yılında *L.seeligeri* ve *L.welshimeri* ' dir *Listeria* cinsinde yalnız *L.monocytogenes* ve önemsiz düzeyde ise *L.ivanovii* patojen ve *L.innocua*, *L.seeligeri*, *L.grayi* ve *L.murrayi* apatojen olduğu düşünülmüştür ve bu yüzden listeriozis olgularında etken olarak *L.monocytogenes* suçlanmıştır. Fakat son zamanlarda *L.innocua* suşlarının farelerde ensefalit oluşturduğu, *L.seeligeri*'nin de patojenik materyallerden izole edildiği bildirilmiştir (6, 45, 49, 86).

Listerialar, basit boyamada çubuk ve kokobasil şeklinde, 0.3-0.5 x 0.7 -2.0 µm boyutlarında, Gram pozitif, sporsuz, kapsülsüz, asido resistans olmayan psikrotrof bakterilerdir. Altı adede kadar peritrik flagellası bulunmakla birlikte, bakterinin hareketliliği gelişme sıcaklığına bağlıdır. Hücreler, 25°C’de hareketli olmalarına karşın 37°C’de hareketsizdirler. Optimum gelişme sıcaklıkları 30-37°C’dir. Aerobik veya mikroaerofilik özelliğe sahiptirler. Gelişebildiği optimum pH değeri 7.0-7.3 olduğu halde, 4.4-9.6 pH değerleri arasında canlılığını sürdürebilmektedir. Minimum a_w (su aktivitesi) değeri 0.92, optimum a_w ise 0.97’dir (3, 14, 86).

Biyokimyasal özelliklerinin arasında, bazı karbonhidratları (mannitol, ramnoz ve ksiloz) fermente ederek asit oluşturmaları, katalaz, metil red, voges-proskauer testlerine pozitif, oksidaz ve üre testlerine ise negatif sonuç vermeleri sayılabilir. *L.monocytogenes*, *L.seeligeri* ve *L.ivanovii* alyuvarları parçalayan bir hemolisin üretirler. β-hemolitik olan bu türlerin CAMP testinde verdikleri pozitif ve negatif sonuç ile tanımlanmaları mümkündür. İnsanlar için patojen olan türün *L.monocytogenes* olmasının yanısıra, seyrek olarak *L.ivanovii*, *L.seeligeri* ve *L.welshimer* türlerinin de hastalık oluşturduğu saptanmıştır. Listeria türlerinin biyokimyasal özellikleri tablo 1’de gösterilmiştir (86).

Tablo 1: Listeria türlerinin biyokimyasal özellikleri

Biyokimyasal testler	βhemoliz	Takla hareketi	CAMP (S.aureu)	CAMP (R.Equii)	Semsiye Hareketi	Katalaz	Oksidaz	Üre	TSI	Glucose	Eskülin	MR-VP	NO2	Mannitol	Ksiloz	Ramnoz
Listeria türleri																
<i>L.monocytogenes</i>	+	+	+	-	+	+	-	-	a/a	+/-	+	+/+	-	-	-	+
<i>L.seeligeri</i>	+	+	+	-	+	+	-	-	a/a	+/-	+	+/+	-	-	+	-
<i>L.ivanovii</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	a/a	+/-	+	+/+	-	-	+	-
<i>L.innocua</i>	-	+	-	-	+	+	-	-	a/a	+/-	+	+/+	-	-	-	+/-
<i>L.grayi</i>	-	+	-	-	+	+	-	-	a/a	+/-	+	+/+	-	+	-	-
<i>L.murrayi</i>	-	+	-	-	+	+	-	-	a/a	+/-	+	+/+	-	+	-	+/-

a/a: Asidik reaksiyon (Tüp dibi)

L.innocua ve *L.ivanovii* hemoliz oluşturmaz. Bu özellikleri ile *L.monocytogenes*' ten ayrılmada önem taşırlar. Her ikisi de nitrati hidrolize etmezken, *L.innocua* mannitol ve ksiloz'dan, *L.ivanovii* ise ramnoz ve mannitol'dan asit oluşturmaz. *L.seeligeri* oluşturduğu dar hemolitik zon ile *L.ivanovii*'den ayrılır. *L.welshimeri*, hemoliz oluşturmaz, nitrati redükte etmez. *L.denitrificans*, *L.grayi* ve *L.murrayi* hemolitik değildir. *L.grayi* nitrati redükte ederken, *L.murrayi* nitrati redükte etmez (86, 90).

Listeria' nın somatik O ve flagellar H antijenlerine göre yapılan serotiplendirmede ½ a, ½ b, ½ c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e ve 7 olmak üzere 13 serovarı bulunmuştur. İnsanlardan izole edilenlerin %95 'i ½ a, ½ b ve 4b olarak belirlenmiştir (20, 53, 66, 67). Mc Lauchlin (68), İngiltere'de 1967 – 1988 yılları arasında meydana gelen 1363 Listerios vakasının %15'inin 1/2a, %10'unun 1/2b, %4'ünün 1/2c, %64'ünün 4b serovarından kaynaklandığını bildirmiştir. 1996-2002 yılları arasında Avrupa Birliği raporunda bildirilen çeşitli ülkelere ait listerioz vakaları Tablo 2' de toplu olarak verilmiştir (28, 43).

Tablo 2: 1996-2002 yılları arasında Avrupa Birliği raporunda bildirilen çeşitli ülkelere ait listerioz vakaları

Ülke	1996	1997	1998	1999	2000	2002
Almanya	32	32	41	31	33	213
Belçika	77	77	60	64	48	57
Danimarka	39	39	41	44	39	38
Finlandiya	29	29	46	46	18	28
Fransa	-	-	238	275	261	187
Hollanda	22	22	23	12	19	16
İngiltere	116	116	91	108	100	136
İrlanda	-	-	4	-	7	7
İtalya	32	32	45	17	13	31
İskoçya	11	11	13	7	11	15
İspanya	21	21	16	32	35	57
İsveç	28	28	32	27	46	67
Yunanistan	-	-	1	1	2	3

1.2. *Listeria monocytogenes* Kaynaklı Enfeksiyonlar

İlk olarak 1917 yılında Avusturalya’da ve 1919 yılında Paris’te insanlarda menenjit ve septisemi tablosu oluşturduğu bildirilen *L.monocytogenes*, endokarditis, meningoensefalitis, menenjit, beyin apseleri, septisemi, mukozada lezyonlar, konjunktivit, kutanöz papul, püstül gibi cilt rahatsızlıklarına, düşük yapma, ölü bebek doğumlarına neden olabilmektedir. Özellikle hamile bayanlarda, anne karnındaki ve yeni doğmuş bebeklerde, gençlerde, yaşlılarda, alkoliklerde, ilaç bağımlılarında, şeker hastaları, AIDS hastaları ve kanser hastaları gibi bağışıklık sistemi baskılanmış veya zayıf olan insanlarda bu rahatsızlıklar daha fazla ortaya çıkabilmekte ve ölüme kadar giden hastalık tabloları oluşabilmektedir (6, 57, 66). Mortalite oranı %30’lar civarında olup, hastalığın inkübasyon süresi birkaç günden 2-3 aya kadar değişmektedir. Yapılan araştırmalar sonucunda, enfektif dozun kişinin duyarlılığına bağlı olarak 100–1000 mikroorganizma civarında olduğu bilinmektedir (67, 96).

İngiltere’de 1967-1988 yılları arasında yapılan bir çalışmada (68), 1363 adet listeriosis vakası görüldüğü ve bunlardan 512’sinin hamilelik döneminde, geriye kalan 851 vakanın 457’sinin çeşitli nedenlerle hastalananlarda, 136’sının tamamen sağlıklılarda ve 258’inin hakkında herhangi bir bilgi bulunmayan kişilerde görüldüğü rapor edilmiştir. Suudi Arabistan’da yeni doğmuş bir erkek bebekte hastalığın yüksek ateşle kendini gösterdiğini ve ilaç uygulamaları sonucunda tedavide başarıya ulaşıldığı bildirilmiştir (16).

1979-2000 yılları arasında, farklı ülkelerde, çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilen *Listeria* kaynaklı vakalar ve etkenin izole edildiği gıdalar ile hasta sayıları ve ölüm sayıları Tablo 3’de toplu olarak verilmiştir (86, 87).

Tablo 3: 1979- 2000 yıllarına ait gıda kaynaklı Listeriozis vakaları

Tarih	Yer/Ülke	Hasta Sayısı	Ölüm Vakası	Sorumlu Gıda
1979	ABD	20	5	Sebze
1980	Yeni Zelanda	29	9	Balık
1981	Kanada	41	17	Lahana
1983	ABD	49	14	Süt
1985	ABD	142	48	Meksika Peyniri
1983-1987	İsveç	122	30	Peynir
1992	Fransa	279	63	Domuz Eti
1994	ABD	3	0	Çikolatalı Süt
1996	Kanada	2	0	Yengeç
1998	ABD	110	4	Sosis
1998-1999	Finlandiya	11	4	Tereyağ
1999-2000	Fransa	26	7	Domuz Eti
2000	ABD	29	7	Hindi Eti

L. monocytogenes'in insanlarda neden olduğu hastalıklar, farklı formlarda görülebilir. Bunlar;

Meningitic ve Meningoencephalitic Listeriosis

Hastalığın bu formu genellikle 50 yaş üzerindeki erişkinlerde, yeni doğmuş bebeklerde görülür ve şayet tedavi yapılmaz veya gecikirse mortalite oranı %70 civarındadır. Hızlı solunum, siyanoz, ateş, kusma, kasılmalar bebeklerde görülen semptomlardandır. Erişkinlerde hastalık kendini nezle benzeri semptomlarla gösterir. Baş ve bacak ağrısı, boyun bölgesinde sertleşme, kusma, ısıya duyarlılık, konvülsiyon, koma görülen diğer belirtilerdir. Ölüm şekillenebilir (16, 35).

Cutaneous Listeriosis

Özellikle kontamine dokulara veya hasta hayvanlara temas eden veteriner hekimler, çiftçiler gibi yetişkinlerde görülen bu form, bulaşmadan itibaren birkaç gün içinde deride toplu iğne başından bezelye tanesine kadar değişen büyüklükteki nodüllerin oluşumuyla kendini gösterir. Daha sonra nodül püstül halini alır, kenarları kızarır ve püstül sıvısından etken izole edilebilir (88).

Pharangitis ve Mononucleosis ile Görülen Septicemic Listeriosis

Ateş, farenjit, mononükleosis ile seyreden lökositöz tablosu bu formda görülen belirtilerdir (66).

Oculoglandular Listeriosis

Septik formda bazen konjunktivitis görülebilir. Etkenin direk gözden bulaşması sonucu diğer formlar şekillenebilir. Göze lokalize olmuş, listerial konjunktivit, ölümle sonuçlanabilen purulent meningitise dönüşebilir (67, 87).

Cervicoglandular Listeriosis

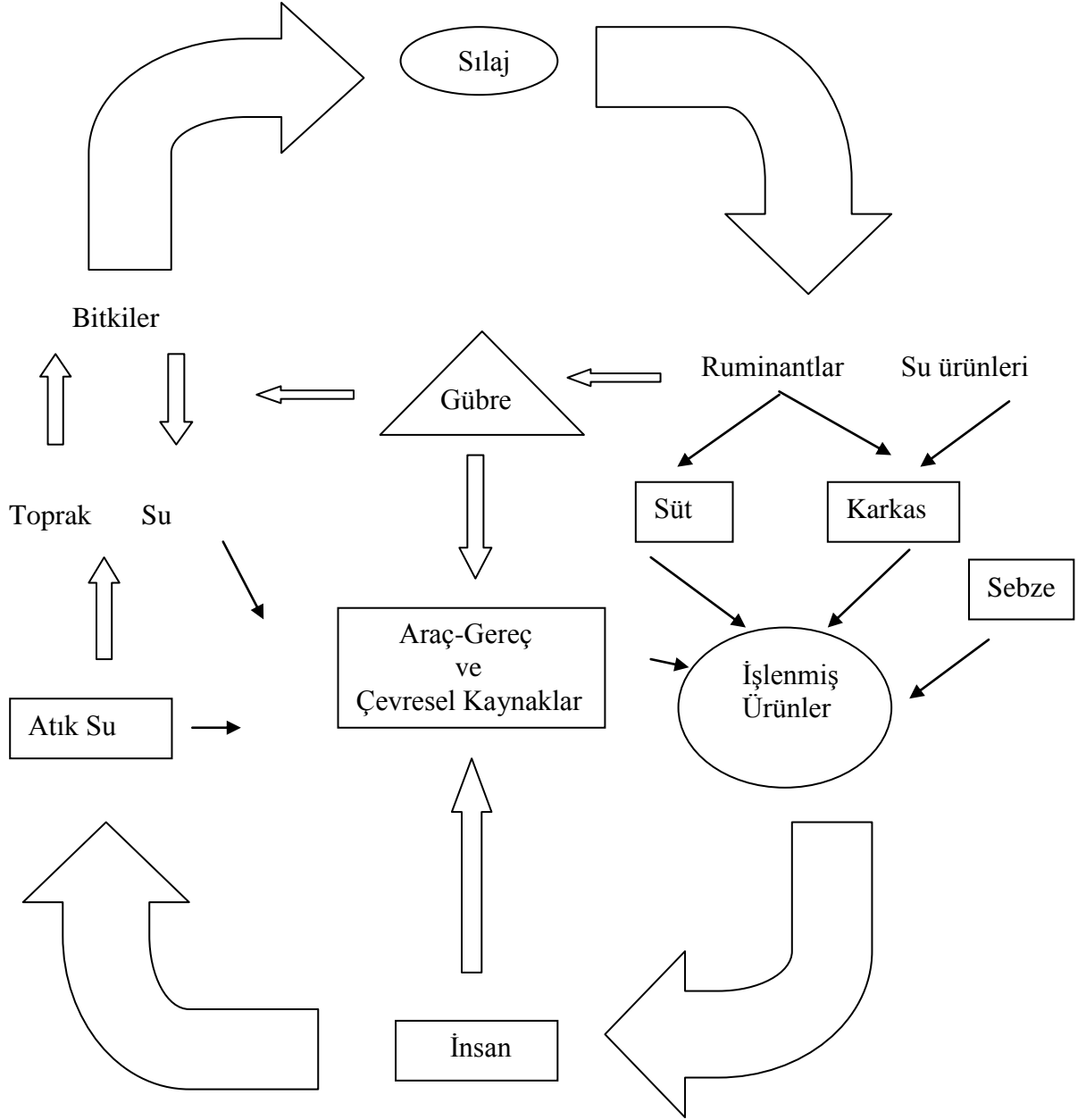
Yaygın olmayan bu form, servikal ve submandibular lenf yumrularının şişmesi ile karakterizedir. Genellikle yaşlılarda septisemik formla beraber görülür (87).

1.2. *Listeria monocytogenes*'in Doğada Bulunuşu ve Bulaşma Yolları

Listeria türleri doğada yaygındır. Etken tozda, toprakta, çamurda, dışkıda, hayvan yemlerinde ve özellikle kötü kaliteli silajda, sularda, atık su ve kanalizasyonda, çürümüş bitkilerde kolaylıkla izole edilebilir. Ayrıca insan, sığır, koyun, keçi, domuz, at, kedi, köpek, balık, 42 tür vahşi, 17 tür evcil kanatlılarda, sıçan, geyik gibi hayvanlarda da *Listeria* türlerine rastlanmıştır (14, 98, 100).

pH, sıcaklık, su aktivitesi gibi faktörlere oldukça dirençli olan etken, kolayca yemlere, yemlerden hayvanlara, hayvanların etine, sütüne ve bu kontamine gıdaların tüketilmesi ile de insanlara bulaşabilir (56). *Listeria* türlerinin çeşitli bulaşma kaynakları Şekil 1' de gösterilmiştir (96).

Şekil 1: Listeria türlerinin çeşitli bulaşma kaynakları



Bundan başka mezbahalarda hayvanların derilerinden, ayaklarından, dışkılarından, mezbaha personelinin kıyafeti ve mezbahada kullanılan aletler aracılığıyla da karkaslara ve kontamine hammaddeden üretilen gıdaların tüketimi sonucunda da insanlara bulaşabilmektedir (34, 87). Ayrıca etkenin gıdalara bulaşmasında, üretimde kullanılan alet ve ekipman, görevli personel, transport, satış ve depolama gibi sekonder kontaminasyon kaynakları da önemli faktörlerden bazılarıdır (62).

İnsanlarda hastalığın oluşmasında kontamine gıda maddeleri önemli rol oynar. Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO), riskli gıda maddelerini aşağıdaki gibi sınıflandırılmıştır (34).

- a. Çiğ gıda maddeleri (çiğ et ve sebzeler)
- b. Kapalı ambalajlarda hazırlanmış gıdalar (et ürünleri)
- c. Hazırlandıktan sonra kontamine olduğu sanılan ısı işlemi görmüş gıda maddeleri (pastörize süttten üretilen çeşitli peynirler)
- d. Isı işlemi uygulanmadan veya yalnız katkı maddeleri ile hazırlanmış gıda maddeleri (çiğ sucuklar, hazır çorbalar)

Buzdolabı şartlarında, düşük pH değerlerinde canlılığını uzun süre muhafaza etmesi nedeniyle hayvansal orijinli gıdalar enfeksiyonun oluşmasında önem arz eder. Pastörize edilmemiş sütler ve bu sütlerden üretilen peynir, dondurma gibi süt ürünleri, yumuşak peynirler, yetersiz ısı işlemi görmüş sosis, salam gibi et ürünleri, yetersiz fermentasyona tabii tutulan gıdalar, çabuk bozulabilen kanatlı ve su ürünleri, *L.monocytogenes* açısından riskli gıda grupları olarak düşünülmelidir (33, 50).

Tablo 4' de *L.monocytogenes*'in gıdalardaki prevalansı gösterilmiştir (86).

Tablo 4: *L.monocytogenes*'in gıdalardaki prevalansı

Gıda kaynağı	Bulunma oranı	Ülkeler
Sığır ve dana eti	%0,6 - 15,4	D, E, F, IRL, NL, S
Kıyma	%11,9 - 18,3	D, E, B
Kanatlı eti	%2,6 - 16,7	D, E, F, IRL, N
Et ürünleri	%0 - 2,2	A, D, I, P, S
Süt	%0 - 10,2	A, B, D, DK, E, EL, I, IRL, NL, P, S
Süt ürünleri	%0 - 4,4	A, D, DK, E, EL, F, I, IRL, N, P, S
Sebzeler	%0 - 12,5	D, E, IRL, P, S
Deniz ürünleri	%0 - 13,5	A, D, DK, E, EL, F, FIN, IRL, I, N
Tüketime hazır diğer gıdalar	%0 - 16,7	A, D, DK, E, I, IRL, N,S
Domuz eti	%0 - 40,6	D, E, F, IRL, NL

A: Avusturya
DK: Danimarka
F: Fransa
IRL: İrlanda
P:Portekiz

B: Belçika
E:İspanya
FIN. Finlandiya
N: Norveç
S:İsveç

D: Almanya
EL:Yunanistan
I: İtalya
NL:Hollanda

1.4. Et ve Et Ürünlerinde Listeria Varlığı

Her ne kadar süt ve süt ürünleri insanlarda listeriosise neden olan önemli bir kaynak olarak belirtilmişse de, farklı yıllarda ve çeşitli ülkelerde etkenin kendini salgınlar halinde göstermesi araştırmacıları farklı gıda gruplarına yönlendirmiş, yapılan çalışmalar sonucunda etken et ve et ürünlerinde de tespit edilmiş ve bu ürünler de Listeria açısından önem kazanmıştır (55, 56, 76, 87). İncelenen et ve et ürünlerinde Listeria türlerinin yaygınlığının fazla olması bu ürünlerde Listeria gelişiminin detaylı araştırılmasına neden olmuştur (101). Nicolas ve ark. (77)'nin 1989 yılında yapmış oldukları çalışmalarında, 194 adet dondurulmuş hamburger köftesinden 42'sinde, 157 meze çeşidinden 21'inde, 20 adet sığır karkasından 4'ünde ve 7 adet kuzu etinden 1'inde etkeni izole etmişlerdir. Sharif ve ark. (91), yaptıkları bir çalışmada, inceledikleri 10 köfte numunesinden 5'inde (%50), 10 hamburger köftesinin 4'ünde (%40), 10 tantuni numunesinin 3'ünde (%30), 10 kokoreç numunesinin 9'unda

(%90), 10 sosis numunesinin 4'ünde (%40), 10 sucuk numunesinin 6'sında (%60) *L.monocytogenes*'i tespit ettiklerini belirtmişlerdir.

Inoue ve ark. (54), Japonya'da yapmış oldukları bir çalışmada, 41 adet kıyım numunesinin 5'inde (%12.2), 34 adet domuz kıyması numunesinin 7'sinde (%20.6) *L. monocytogenes*'i bulduklarını rapor etmişlerdir. Becker ve ark. (12), 287 adet ısı işlemi görmüş sosis numunesinin 46'sında (%16) *Listeria* türlerini tespit etmiş ve bunlardan 30'unun (%10.5) *L. monocytogenes* olduğunu ortaya koymuşlardır. Portekiz'de (69), yapılan bir piyasa taramasında, 17 çiğ kırmızı et numunesinin 3'ünde, 27 İspanyol tipi sucuk örneğinin 1'inde, 9 adet kan sucuğunun 1'inde etkeni izole etmişlerdir. Sırıken ve ark. (92), Afyon Bölgesinde 70 adet kıyım numunesinin %39.47'sinde *Listeria* türlerini tespit etmiş ve bunlardan %13.15'inin *L. monocytogenes* olduğunu belirtmişlerdir. Aynı araştırmacıların (93), Afyon bölgesinde üretilen sucuklar üzerinde yaptıkları bir diğer çalışmada, 100 sucuk örneğinin 92' sinde *Listeria* türlerine rastlamışlardır.

Çiftçioğlu (26), kıyım, sucuk ve tavuk etlerinde yapmış olduğu bir çalışmada, farklı zenginleştirme süreleri sonunda farklı oranlarda *Listeria* türlerinin varlığını ortaya koymuştur. Şireli (97), Ankara piyasasından temin ettiği 43 adet hazır kıyım numunesinin 14'ünde *L. monocytogenes*'i saptamıştır.

1.5. Süt ve Süt Ürünlerinde *Listeria* Varlığı

Pastörize edilmemiş sütler ve bu sütlerden elde edilen peynir, dondurma gibi süt ürünleri ve özellikle yumuşak peynirler, gıda kaynaklı *Listeria* enfeksiyonları açısından önemli bir yere sahiptir (28, 85).

Chye ve ark. (22), Malezya'da yapmış oldukları bir çalışmada inceledikleri 930 adet çiğ süt örneğinin 18'inde (%1.9) etkeni izole etmişlerdir. Çekoslovakya'da (76), sütler üzerine yapılan araştırmada, 278 adet çiğ süt numunesinden 11'inin ve 20 pastörize süt numunesinden 3'ünün *L.monocytogenes* ile kontamine olduğunu bildirilmiştir.

Ülkemizde Van ve çevresinde yürütülen bir çalışmada 250 adet çiğ süt ve 254 adet otlu peynir numunesi mikrobiyolojik olarak incelenmiş, çiğ sütlerin 3'ünde (%1.20), otlu peynirlerin 10'unda (%3.93) etkeni saptanmıştır (88). Yine Van'da, tüketime sunulan kremalı pastalar üzerine yapılan bir çalışmada, 50 numunenin 8'inde (%16) *L.monocytogenes* varlığı tespit edilmiştir (89).

1.6. *L. monocytogenes* Üzerine Etkili Bazı Faktörler

L.monocytogenes'in gelişimini etkileyen faktörler arasında pH, sıcaklık, a_w , tuz konsantrasyonu, antimikrobiyel maddeler sayılabilir (31).

pH'nin Etkisi

Etkenin gelişimi için optimum pH değeri 7.0-7.3, minimum pH değeri 4.4-4.6, maksimum pH değeri ise 9.6'dır (6, 49). Özellikle düşük pH'larda haftalarca canlılığını muhafaza etmektedir (3, 86).

Hicks ve ark. (48), süzme peynirlerde (Cottage cheese) yapılan benzer bir çalışmada, 3°C'de 28 gün depolanan örneklerde pH değeri 5.24 olarak tespit edilmiş ve *L. monocytogenes*'in hala canlılığını koruduğu rapor etmişlerdir. Öte yandan, etken sadece asidik ortamlarda değil alkali ortamlarda da canlılığını koruyabilmektedir. Seeliger (90), yapmış olduğu bir araştırmada etkenin alkali ortamlarda da gayet dayanıklı olduğu, sıvı besiyerlerinde pH 9.6 civarında dahi üreyebildiğini bildirmiştir.

Sıcaklığın Etkisi

Listeria türlerinin optimum gelişme sıcaklıkları 30-37°C olup, 1-45°C'lerde gelişebilir. Etkenin buzdolabı şartlarında canlılığını uzun süre sürdürmesi nedeniyle gıdaların soğukta muhafaza edilmesi etkenin gelişmesine engel olamaz. Sıcağa ve soğuğa dayanıklı bu psikrotrof mikroorganizmanın termal ölüm zamanı, bulunduğu gıda türüne göre değişiklik gösterir (80, 96).

Gıda ve ilaç idaresi (Food and Drug Administration -FDA) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 71.7°C’de 15 saniye süre ile yapılan pastörizasyonun, söz konusu mikroorganizmayı inaktif hale getirdiğini belirtmektedir. Etkenin çiğ veya pişmiş et ve et ürünlerinde canlılığını koruyabilmesi ve buzdolabı koşullarında bile canlılığını sürdürebilmesi gibi nedenler, tüketici sağlığını yakından tehdit etmektedir (29, 30, 86).

Tuz (NaCl) Konsantrasyonunun Etkisi

Tuzun gıdalarda kullanım amaçlarından bir tanesi de gıdaların su aktivitesi değerini düşürerek mikroorganizmaların üremesini engellemektir. Ancak *L.monocytogenes*, tuz konsantrasyonlarına, *S.aureus*, *Yersinia* spp. gibi diğer mikroorganizmalardan çok daha dayanıklıdır (23, 31).

Listeria monocytogenes’ in farklı tuz konsantrasyonlarına dayanıklılığı üzerine çeşitli çalışmalar yapılmış ve değişik sonuçlar rapor edilmiştir (21). Seeliger (90), yapmış olduğu deneysel bir çalışmada, etkenin %10’luk tuz konsantrasyonunda üreyebildiğini, pH 6.0 değerinde ve %16’lık tuz konsantrasyonunda 1 yıl süreyle canlı kalabildiğini belirtmiştir. Johnson ve ark. (56), tarafından yapılan bir çalışmada, 4°C’de, pH 4.3-4.5 değerlerinde ve %5-8 oranında tuz ihtiva eden fermente sucuklarda *L.monocytogenes*’in 84 gün süreyle canlılığını koruyabildiği belirtilmiştir. Doyle (28), tarafından hazırlanan bir raporda, *L.monocytogenes*’in %6 oranında tuz ihtiva eden salamurada ve %8 oranında tuz bulunduran Meat Peptone besiyerinde gelişebildiği bildirilmiştir.

Antimikrobiyal Maddelerin Etkisi

Listeria monocytogenes çeşitli antimikrobiyel maddelere karşı duyarlılık göstermektedir. Bu özelliği bilindiğinden çok çeşitli çiğ veya işlenmiş ürünlerde etkeni yok etmek veya gelişimini sınırlandırmak amacıyla antimikrobiyel maddeler yaygın şekilde kullanılmaktadır (96).

2. Gıda Maddelerinde Kullanılan Dekontaminant Maddeler ve Yöntemler

Gıda üretiminde, etkileri ve yapıları bilinen, limitleri dahilinde kullanıldığında insan sağlığına zarar vermeyen gıda katkı maddeleri tercih edilmektedir (28). Bunlardan nitrit, nitrat, nisin gibi farklı antimikrobiyel maddeler üzerine çeşitli çalışmalar mevcuttur. Nitrat-Nitritler, özellikle et ürünlerine arzu edilen kırmızı rengi vermesi ve antimikrobiyel etkisi nedeniyle et sektöründe sıkça kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar ışığında, bu maddelerin *L.monocytogenes* üzerine tek başına etkili olmadığı, ancak NaCl gibi maddelerle kombine edilerek kullanıldıklarında etkilerinin görüldüğü ortaya konmuştur (28, 30).

Et ve et ürünlerinde, mikrobiyolojik riskleri elimine etmek için, hem de bu ürünlerin teknolojileri gereği üretimin çeşitli safhalarında uygulanan tuz, nitrit, nitrat gibi kimyasallar, starter kültür ve bakteriyosin gibi biyolojik kökenli katkı maddeleri günümüzde sıkça kullanım alanı bulmaktadır (53, 78).

2.1. Dekontaminasyonda kullanılan yöntemler

Hayvanların kesimden önce derileri üzerinde bulunan veya kesim sırasında karkasa bulaşabilecek kontaminasyon kaynaklarının farklı teknikler kullanılarak uzaklaştırılması işlemine dekontaminasyon denir (11, 18, 70).

Gıda Güvenliği ve Denetim Servisi (Food Safety and Inspection Service FSIS 1996) ve Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) fiziksel tekniklerin ve antimikrobiyel ajanların dekontaminasyon amacıyla kullanımına izin vermiştir (81, 101). Dekontaminasyon amacıyla birçok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler fiziksel, antimikrobiyel, mikrobiyolojik ve kombine yöntemler olmak üzere farklı başlıklar altında incelenebilmektedir. (18, 24, 55).

Dekontaminasyon amacıyla sıklıkla kullanılan bazı fiziksel teknikler suyla yıkama, tıraşlama, kılların kesilmesi, buhar-vakum ve buhar pastörizasyonu gibi uygulamalardır. Doğal antimikrobiyel olarak sıklıkla kullanılan organik asitler laktik asit, asetik asit ve sitrik asit ile lizozim'dir. Sentetik antimikrobiyellerden sıklıkla kullanılanlar cetlypridinium klorid, trisodyum fosfat ve ozon'dur. Mikrobiyel

kaynaklı antimikrobiyellerden en çok kullanım alanı bulan bakteriosin *Lactococcus lactis*' ten elde edilen nisin'dir. Bu muameleler yalnız başına uygulanabildiği gibi son yıllarda kombine olarak kullanımını daha yaygın bir hal almıştır (15, 25, 78).

2.1.1. Dekontaminant Maddeler

2.1.1.1. Doğal Kaynaklı Antimikrobiyel Maddeler

2.1.1.1.1. Organik Asitler

Gıdalarda koruyucu amaçla kullanılan asitler genel olarak pH' yı düşürerek etkilerini gösterirler. Asitliğin artması mikroorganizmalar üzerinde bakterisid veya bakteriyostatik etki göstermektedir ayrıca organik asitler mikroorganizmaların ısıya karşı direncini de düşürmektedir. Organik asitler içerisinde antimikrobiyel özelliği en etkin olanlar sırasıyla laktik ve sitrik asitlerdir (15, 94).

2.1.1.1.1.1. Laktik asit (E270)

Laktik asit genel olarak süt asidi olarak bilinmektedir. Ana kaynağı bir karbonhidrat olan glikojendir. Fermentasyon süresi boyunca laktik asit bakterileri tarafından üretilen bir organik asittir (15, 82, 94).

Laktik asit insanlar için düşük toksisiteye sahiptir. Antimikrobiyel etkisinin yüksek olması ve özellikle doğal olarak hayvanların kas dokularında bulunmasından dolayı dekontaminasyon amacıyla kullanımını giderek artmaktadır (82).

Laktik asidin çok tercih edilmesinin nedenleri aşağıdaki gibi sıralanabilir.

- 1- Bakteri öldürücü etkisinin iyi olması
- 2- Diğer yiyecek asitlerine göre (asetik asit, sitrik asit) tatlı bir tadının olması
- 3- Dokularda doğal olarak bulunması
- 4- Suda tamamen çözülebilmesi
- 5- GRAS(Genel Olarak güvenli Kabul edilebilir Ürün) tarafından onaylanması (33, 45).

Laktik asidin %1-2'lik çözeltilerinin kanatlı karkaslarında kesim sonrası depolama öncesi kullanımı bakteri yükünü azaltmakla birlikte karkasta renk ve tat gibi organoleptik değişikliklere neden olabilmektedir (21, 34).

Laktik asit gibi organik asitlerin etkisi pH' nın etkisine ve asit konsantrasyonuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bu iki faktörün etkinliğinin yanı sıra laktik asidin antibakteriyel etkisi az da olsa, laktik asidin derişimine, çözelti sıcaklığına, uygulama zamanına ve uygulama yöntemine bağlı olarak da değişiklik gösterebilmektedir (34, 55).

Gonçalves ve ark. (40), tavuk göğüslerindeki *L.monocytogenes* sayısını araştırdıkları çalışmada, 55°C'de %4 laktik asit uygulamasının *L.monocytogenes* sayısını 2,38 log azalttığını belirtmişlerdir. Hugas ve ark.(51), yapmış olduğu çalışmada domuz karkasları üzerine %2 laktik asit uygulamasının *L.monocytogenes* üzerine etkili olmadığını, fakat laktik asit muamelesinden önce sıcak su uygulamasının laktik asitin etkinliğini artırdığını saptamışlardır.

Stoprorth ve ark. (95), *L.monocytogenes* ile kontamine edilen sığır karkas yüzeyine %2 laktik asit ile sıcak su uygulamasının etkilerini araştırdıkları çalışmada laktik asit ve sıcak su uygulamasının *L.monocytogenes* populasyonunda 1.3 log oranında bir azalma sağladığını belirtmişlerdir.

2.1.1.1.1.2. Sitrik asit (E330)

Karboksilik asitlerden renksiz, kristal yapılı organik bir asittir. Sitrik asit özellikle turunçgiller olmak üzere hemen hemen tüm bitkilerde ve birçok hayvansal organizmanın vücut sıvılarında bulunur (103).

Sitrik asit canlılarda kreps çemberine katılarak metabolizmada önemli görevler alır. Sitrik asitin çözünürlüğü oldukça yüksektir ve şelatlaşma özelliği vardır. Sitrik asit ilk olarak limon suyundan elde edilmiştir. Günümüzde başta melas olmak üzere karbonhidrat kaynaklarının *Candida spp.* veya *Aspergillus niger* mantarları tarafından fermentasyonu ile elde edilir. Geniş bir kullanım alanına sahip olan sitrik asit gıda sektöründe katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (51, 78).

Doyle (29), 1999 yılında yaptığı bir çalışmada %1'lik sitrik asit uygulamasının *L.monocytogenes* düzeyinde 1-2 log'lık bir azalma sağladığını belirtmiştir. Arias-Moliz ve ark. (8)'nin *Enterococcus faecalis* üzerine çeşitli asitlerin ve EDTA'nın 0.5, 1, 3, 5, 10,15, 20, 25, 30, 40, 50 ve 60. dakikalarda etkisini araştırdıkları çalışmada, %25'lik sitrik asitin etkisinin 3. dakikadan itibaren başladığını belirtmişlerdir. Yapılan bir diğer çalışmada (84), %0.27 ve %0.09 sitrik asit kullanımının *L.monocytogenes'* in gelişme, gerileme ve duraklama dönemlerinde ortalama %1,11'lik bir azalmaya neden olduğu saptanmıştır.

Gıda sanayinde yaygın olarak kullanım alanı bulan organik asitlerin bazı genel özellikleri Tablo 5'de verilmiştir (103).

Tablo 5: Gıda sanayinde yaygın olarak kullanılan organik asitlerin bazı özellikleri

Asit	CFR*	İyonlaşma Katsayısı(pKa)	Formülü	Molekül ağırlığı	Erime noktası	Çözünürlüğü (g/ 100 ml)
Sitrik asit	182.1003 (GRAS)	$K_1=7,10 \times 10^{-4}/3,14$ $K_2=1,68 \times 10^{-5}/4,77$ $K_3=6,40 \times 10^{-7}/6,39$ (20 °C)	$C_6H_8O_7$	192,12	135 153	181 (25 °C) 208 (25 °C)
Laktik Asit	184.1061 (GRAS)	$1,374 \times 10^{-4}/3,86$ (25 °C)	$C_3H_6O_3$	90,08	16,8	Yüksek

*CFR: FDA yasal düzenleme kodu

2.1.1.1.2. Lizozim

Lizozim prokaryotik hücre duvarlarının peptidoglikan heteropolimerlerinde bulunan N-asetilglukozamin (NAG) ve N-asetilmuramik asit (NAM) arasındaki glikosidik bağlarının hidrolize olmasını katalizleyen bir enzimdir (44, 74).

Özellikle Gram pozitif bakterilerin hücre duvarını lize edebilme özelliğinden dolayı dekontaminasyonda tercih edilen bir enzimdir (19, 28).

Mikroorganizmalar için birçok inhibitör, hayvansal ürünlerde doğal olarak bulunabilmektedir. İnhibitörler hücre, hücre duvarı ve hücre membranı üzerine etki ederek, enzim sistemlerine ve hücrenin genetik mekanizmasına zarar vererek veya önemli besin unsurlarını bağlayarak mikroorganizmaları etkiler. Lizozim, yumurta akı, süt ve çeşitli hayvansal dokularda bulunmaktadır (73, 103).

Keçi sütü, koyun ve inek sütünün yaklaşık iki katı kadar lizozim içerir. İnsan sütü yaklaşık 400 mg/kg oranında lizozim içerir. Domuz sütü lizozim içermez. Sütteki lizozim konsantrasyonu düşük olduğundan, bakteriler üzerine olan etkisi yumurta akı lizozimi kadar önem taşımamaktadır (33, 103).

Nakimbugwe ve ark.(73), yüksek basınç altındaki süt ve muz sularındaki Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler üzerine lizozimin etkisinin araştırıldığı çalışmada lizozim gram pozitif bakterilerden özellikle *L.monocytogenes* üzerine baskılayıcı bir etkiye sahip olduğu ve gıda sistemlerinde doğal antimikrobiyel olarak kullanılabilirdiğini belirtmişlerdir. Bir başka çalışmada (19), gıdalarda antimikrobiyel ajan olarak lizozim uygulamasının gıda kaynaklı bakteriler üzerine etkili olduğunu saptanmıştır. Hughey ve ark. (52), yapmış oldukları bir çalışmada lizozomun birçok gıda türünde kullanımının *L.monocytogenes*'i engelleyici ve öldürücü etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Doyle ve ark. (29), 2-3 haftalık taze domuz sucuklarında koruyucu olarak lizozim kullanımının *L.monocytogenes* gelişimini belli oranda azalttığını ortaya koymuşlardır.

2.1.1.2. Mikrobiyel kaynaklı antimikrobiyel maddeler

2.1.1.2.1. Bakteriyosin

Bakteriyosinler, bakteri ribozomları tarafından üretilen ve yakın ilişkili olduğu bir başka bakteriyi öldüren ya da gelişmesini inhibe eden antimikrobiyel protein veya peptitlerdir (59, 74, 75). Bakteriyosin üzerinde yapılan çalışmalar, 1930’larda nisin için yapılan çalışmalarla birlikte başlamıştır. Günümüzde çok sayıda bakteriyosin tanımlanmış ve aralarında büyük farklılıklar olduğu saptanmıştır. Bu büyük farklılıklara rağmen, bazı ortak özelliklerinden dolayı birinci, ikinci ve üçüncü sınıf bakteriyosinler olmak üzere sınıflandırmaya tabi tutulmuşlardır (2, 27).

Bakteriyosinlerin aynı yada farklı bakteri grupları tarafından sentezlenen çeşitleri bulunmaktadır. Bakteriyosinlerin gıdalarda antimikrobiyal aktivitelerinin yanı sıra, doğal olmaları, renksiz, tatsız ve kokusuz olmaları da ürün özellikleri açısından oldukça önemlidir. Gıdaların korunmasında bakteriyosinlerden farklı şekillerde yararlanılmaktadır. Doğrudan gıda maddesine katılabildikleri gibi, bakteriyosin sentezleyen koruyucu kültürlerin gıdaya inokulasyonu veya gıdanın koruyucu ambalaj materyali ile birlikte de kullanılabilirler. *E. coli* suşlarının yanı sıra *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Staphylococcus* ve *Enterococcus* gibi birçok mikroorganizma bakteriyosin üretmektedir. Bakteriyosin üreten mikroorganizmalar içerisinde gıdalar için güvenli olduğu düşünülen laktik asit bakterileri tarafından sentezlenen bakteriyosinler gıdalarda kullanılabilir. Bu nedenle laktik asit bakterileri, özellikle de *Lactobacillus* ve *Lactococcus* tarafından sentezlenen bakteriyosinler üzerinde önemle durulmaktadır. Bu amaçla en çok laktik asit bakterilerinden *Lactococcus lactis* tarafından üretilen ve lantibiotik olarak adlandırılan nisin kullanılmaktadır. Nisinden sonra ikinci sırada pediosin kullanım alanı bulmaktadır (33, 59, 63).

2.1.1.2.2. Nisin

2.1.1.2.2.1. Tanımı ve Kimyasal Yapısı

Rogers 1928 yılında birkaç Streptococcus türünün diğer laktik asit bakterilerini inhibe eden metabolitler ürettiğini keşfetmiştir. 1944 yılında bu metabolit için nisin ismi kullanılmış ve 1950'li yıllarda üretimine ticari olarak başlanmıştır. O zamandan bu yana nisin, gıda sektöründe güvenle kullanılan koruyucu gıda katkı maddelerinden biri olarak yerini almıştır (25, 47, 63). Nisin (E234) ilk olarak günümüzden 30 yıl önce İngiltere'de gıda katkı maddesi olarak kabul edilmiş ve daha sonra Avrupa'da 50 ülkede, Amerika'da ve Çin'de kullanılmaya başlanmıştır (23, 33, 34). İnsanlar dahil tüm memeliler için toksik etkisi olmayan, Birleşmiş Milletler Gıda ve İlaç İdaresi tarafından GRAS statüsünde kabul edilmiş ve ayrıca Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından gıda katkı maddesi olarak onaylanmış tek bakteriosindir (63). Kuru formda nisin yıllarca özelliğini yitirmeden kalır. Düşük pH'lı çözeltilerde kolay çözülür. Yapılan bir çalışmada, nisinin pH 2 değerinde çözünürlüğünün pH 8 değerinden 228 kez daha fazla olduğu bildirilmiştir. Stabildir, yapısını muhafaza eder (33, 47). Nisin, ısıya karşı dirençsizdir, ancak gıdalara uygulanan ısı işlemlerinde aktivitesini koruyabildiği gözlenmiştir (60, 61). Pankreatin, tripsin, pepsin, proteinaz K, rennet ve tükürük enzimlerine dirençliyen c-kimotripsin gibi sindirim enzimlerine karşı duyarlıdırlar (72).

2.1.1.2.2.2. Etki Mekanizması

Nisin çok geniş bir yelpazede Gram pozitif bakterilere ayrıca Clostridium ve Bacillus türlerinin sporlarına karşı bakterisidal etkiye sahipken, Gram negatif bakterilere, maya ve küflere karşı etkisizdir. Nisin bakterisidal etkisini, nisine duyarlı olan hücrelerin membranlarını etkileyerek göstermektedir (33, 63).

Nisin iki önemli etki mekanizmasına sahiptir:

- 1- Membranlarda porlar oluşturarak hücre içindeki organellerin ve diğer maddelerin dışarı akmasını sağlamak,
- 2- Membranlarda Lipid II molekülünün, peptidoglikan zincirine birleşmesini önleyerek hücre duvarı sentezini durdurmaktadır (28, 46).

Kırmızı et karkaslarının dekontaminasyon amacıyla nisin ile yıkanması çalışmasında 5000 IU ml⁻¹ nisin spreyi sonucu *L.monocytogenes* oranında 2 log bir azalma sağladığını belirlenmiştir (25).

Aktürkoğlu (4), beyaz peynir üretiminde nisin kullanımı ile *L.monocytogenes*'in inhibisyonu araştırdığı çalışmasında beyaz peynirlerde nisin kullanımının (30 g/ml) *L.monocytogenes* üzerine oluşturduğu kuvvetli bakterisit etki ile bu patojen bakterinin, olgunlaşma ve muhafaza periyodunun 60. gününde peynirlerden tamamen elimine olduğunu belirtmiştir. Yapılan bir başka çalışmada (39), *L.monocytogenes*'in kontrolü için nisin (50 ppm) kullanımının 10 dakikada *L.monocytogenes* varlığını 1.5 log oranında azalttığını saptanmıştır.

Cleveland ve ark. (23), yapmış oldukları bir çalışmada farklı gıdalarda 400 UI/ml nisinin *L.monocytogenes*' in duraklamasına, 1250 IU/ml nisinin ise *L.monocytogenes*' in gelişmesine engel olduğu ve bunun yanı sıra nisinin azot, karbondioksit ve düşük sıcaklıklarla kombine edilmesi sonucu etkisinin arttığını belirlemişlerdir.

Son yıllarda nisin üzerine yapılan çalışmaların sayısında belirgin artışlar olmuş ve bu çalışmalar ışığında bakteriosinin olumlu etkileri ortaya konmuştur. Bununla birlikte çeşitli ülkelerde nisin ile ilgili yasal düzenlemeler hazırlanmıştır. Nisinin kullanıldığı gıda maddeleri ülkeden ülkeye değişiklik göstermektedir. Örneğin Brezilya ve Çin nisinin et ve et ürünlerinde kullanımını onaylarken, Avrupa ülkelerinde nisin genel olarak süt ve süt ürünlerinde kullanımına izin verilmiştir (58, 59).

2.1.1.2.2.3. Gıda Maddelerinde Kullanımı

Yapılan araştırmalar sonucunda nisin'in insanlar için tamamen güvenli olduğu anlaşılmıştır. Frazer ve ark. (36), nisini 10^6 IU/kg dozlarında insanlara uygulamış ve tamamen zararsız olduğunu ispatlamışlardır. Yine aynı araştırmacılar, 3.33×10^6 IU/kg oranında nisin ihtiva eden peynirlerle fareleri 12 hafta boyunca beslemişler ve hiçbir zararlı etkiye rastlamamışlardır. FAO/WHO 70 kg'lık bir insan için saf nisine ait güvenli dozu günlük 60 mg veya 33000 IU olarak bildirmiştir. Ayrıca Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi (US FDA) nisinin yetişkinler için kabul edilebilir günlük dozu 2.9 mg olarak belirlemiştir (34).

Bu nedenlerle, Birleşmiş Milletler Gıda ve İlaç İdaresi tarafından "GRAS" (Genel Olarak Güvenli Kabul Edilebilir rn) statüsünde kabul edilen ve ayrıca Dünya Sağlık rgt (WHO) tarafından gıda katkı maddesi olarak onaylanmış tek bakteriosin olan nisin, son yıllarda et, süt, kanatlı ve deniz ürünleri sanayinde geniş yelpazede, güvenle kullanılmaya başlanmıştir (102).

Bu çalışmanın amacı nisin, lizozim, sitrik asit ve laktik asit gibi dekontaminantların *L.monocytogenes* ile kontamine edilmiş sığır etleri üzerine antimikrobiyel etkilerinin karşılaştırmalı olarak araştırılmasıdır. Çalışma planlanırken tek ve kombine olarak yapılan çalışmalar derlenerek, kullanılan maddelerin etkinliği belirlenip, etkili ve önemli olduğu düşünülen madde ve dozları örnek alınarak farklı solüsyonlar hazırlanmış ve kullanılan metot buna göre düzenlenmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Araştırmada *musculus longissimus dorsi*' den alınmış 198 adet et preparatı kullanıldı. Et preparatları Kars ilindeki perakende satış yerlerinden alındı. Çalışmanın yürütülmesi sırasında Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölüm laboratuarları ve Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuarlarından yararlanıldı. *Listeria monocytogenes* suşu Refik Saydam Hıfzıssıhha laboratuarından temin edildi.

3.2. Metot

3.2.1. *Listeria monocytogenes*'in aktifleştirilmesi

Refik Saydam Hıfzıssıhha laboratuarından sağlanan liyofilize *L.monocytogenes* suşu (RSKK 923) Brain Heart Infusion broth (BHI) (OxoidCM375) içerisinde aktifleştirildi. Bunun için BHI broth içine pasajlanan suş 30°C'de 24 saat inkübe edildi. Aktifleşen suşun doğrulama testleri yapıldı (1,17).

3.2.2. Kontaminasyon için *Listeria monocytogenes* solüsyonunun hazırlanması

Bir litre BHI broth içerisine 18 saatlik aktif kültürden inokülasyon yapıldıktan sonra brothlar 30°C 18 saat inkübe edildi ve uygulamalarda kullanılmak üzere +4°C muhafaza edildi. Et preparatlarının daldırma yöntemi ile kontamine edilme işlemlerinden önce ve sonra solüsyonların *L.monocytogenes* düzeyinin belirlenmesi amacı ile ekimi ve takiben bakteri sayımı yapıldı (17, 45).

3.2.3. Dekontaminant maddelerin hazırlanması

3.2.3.1. Lizozimin hazırlanışı

Distile su içerisinde 250mg/lt oranında hazırlanan lizozim (Hen Egg White ECno: 2347473), 0.22 mikrometrelik filtreden süzülüp steril edildi.

3.2.3.2. Nisinin hazırlanışı

0.02N HCl içerisinde 200IU/ml oranında hazırlanan nisin (Maysa Gıd. San. Tic. Aş.E234), otoklavda 121°C'de 15 dk steril edildi.

3.2.3.3. Sitrik asidin hazırlanışı

Distile su içerisinde %2 oranında hazırlanan sitrik asit (Merck K23058644638, 1.00.244.1000), 0.22 mikrometrelik filtreden süzülüp steril edildi.

3.2.3.4. Laktik asidin hazırlanışı

Distile su içerisinde %2 oranında hazırlanan laktik asit (Riedel-de-Haen 27714), 0.22 mikrometrelik filtreden süzülüp steril edildi.

3.2.3.5. Fizyolojik tuzlu suyun hazırlanışı

Kontrol grubu için gerekli olan FTS distile su içerisinde %0.9 oranında NaCl katılarak, otoklavda 121°C'de 15 dk steril edildi.

3.2.4. Örneklerin *Listeria monocytogenes* ile kontaminasyonu

Denemelerde her biri 100 gr ağırlığındaki toplam 66 adet et örneği her bir grup için *L.monocytogenes* bulunan 1lt broth içerisinde 15-30 saniye hareket ettirilerek daldırıldıktan sonra bakterinin tutunması için 5 dakika bir süzgeç

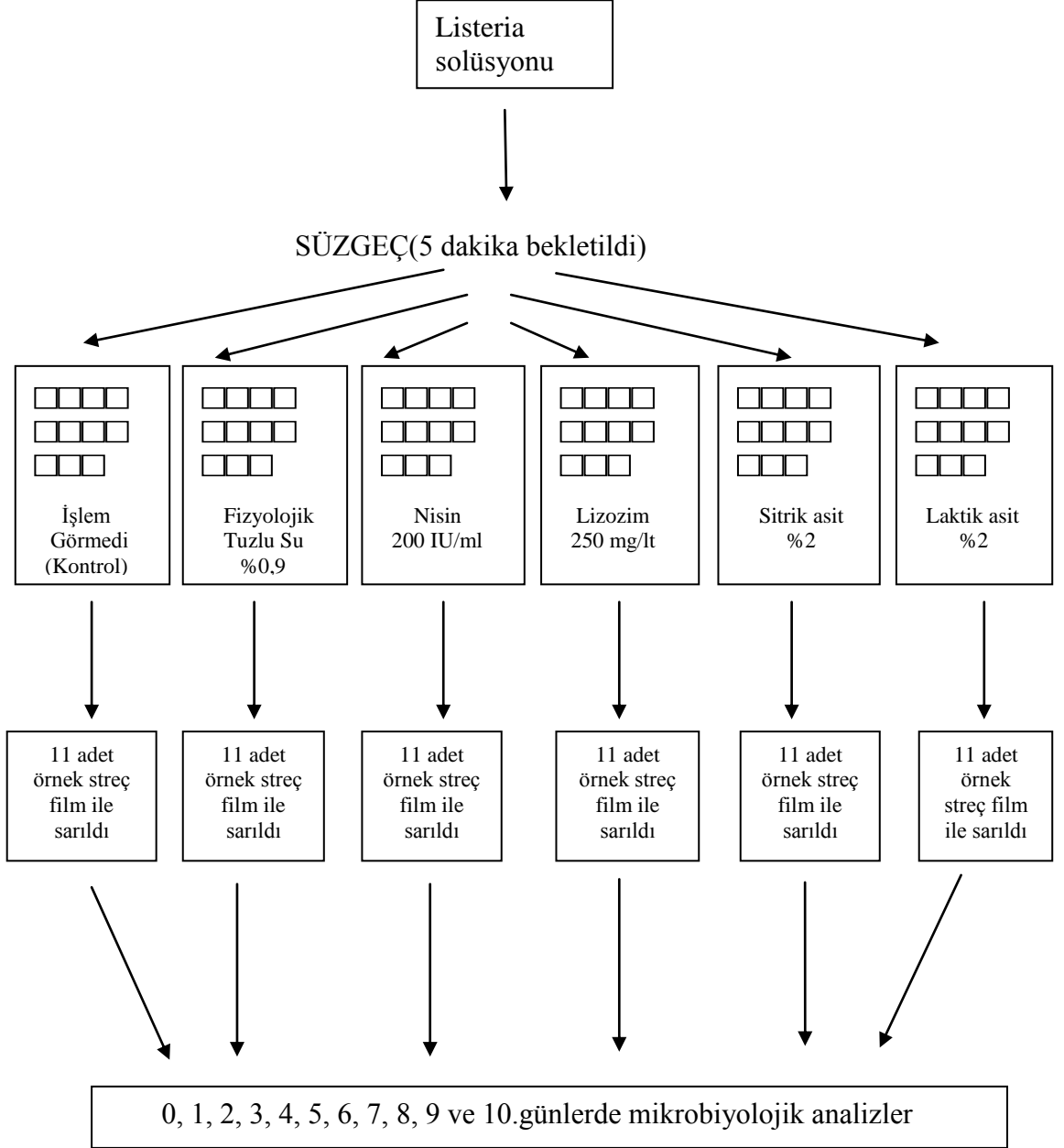
içerisinde bekletildi. Daldırma öncesi ve sonrasında Broth' daki Listeria sayısı belirlendi (45). Tüm denemeler Laminar kabin (Nüve 230) içerisinde yapıldı.

3.2.5. Antimikrobiyellerin uygulanışı

On bir adet et örneği inokülasyondan sonra 15 dakika bekletilip hiçbir solüsyona batırılmadan paketleni ve kontrol grubu olarak isimlendirildi. Kalan 55 adet et numuneleri her grupta 11 adet et örneği olacak şekilde beş gruba ayrıldı. Her bir grup et örneği ayrı ayrı kaplarda hazırlanan dekontaminasyon solüsyonları (FTS, Nisin, Lizozim, Sitrik asit, Laktik asit) içerisine daldırılarak 15 dakika oda ısısında bekletildi. Daha sonra solüsyonlardan alınan etlerin damlaması bitene kadar yaklaşık 1 dk beklenip, etler streç filme sarılarak aliminyum kaplara alınarak üzerleri kapatılıp +4°C'de muhafaza edildi (45).

Antimikrobiyellerin etkisi 3 ayrı deneme yapılarak toplam 198 et numunesi üzerinde araştırıldı. Araştırmada uygulanan çalışma prosedürü şekil 2'de gösterilmiştir.

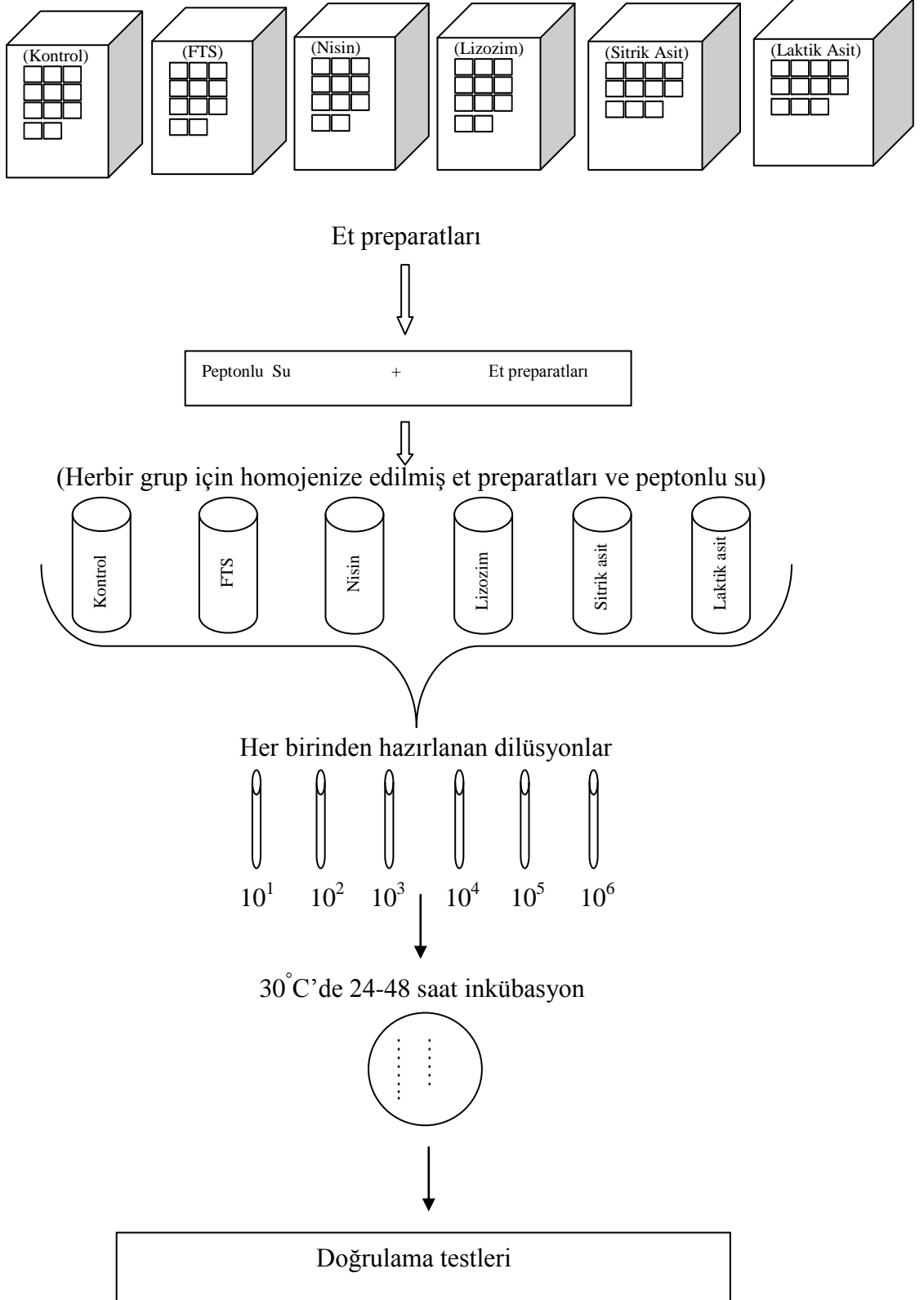
Şekil 2: Denemelere uygulanan işlemler



3.2.7. Mikrobiyolojik Analizler

Muhafazanın 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10. günlerinde örnekler mikrobiyolojik yönden analize tabi tutuldu. Bu amaçla etlerden 25 g tartılarak ve 225 ml peptonlu su ile sulandırılarak uygun dilüsyonlardan Suplementli *Listeria Selective Agar* (Merck VM007055830, 1.11755.0500) besiyerine yayma plak yöntemi ile 0,1 µl ekim yapıldı. Ekimi yapılan petriler 30°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Üreyen kolonilere doğrulama testleri yapıldı (45). Şekil 3'de preparatların doğrulama testleri için hazırlanma işlemleri gösterilmiştir.

Şekil 3: Et preparatlarına uygulanan mikrobiyolojik analiz prosedürü



3.3. *Listeria monocytogenes*' in doğrulanması için identifikasyonda kullanılan testler

Sayımı yapılan *L. monocytogenes* şüpheli kolonilere doğrulama amacıyla çeşitli biyokimyasal ve şeker testleri yapıldı. Bu testler Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ve Manual of Clinical Microbiology' de belirtilen özelliklere göre yapıldı (17). Şüpheli kolonilere gram boyama, katalaz, oksidaz, hareketlilik, β -hemoliz, karbonhidrat fermentasyon testleri, Metil Red ve Voges Proskauer, indol ve üre testleri yapıldı (1, 45).

3.3.1. Gram boyama

Saf ve taze kültürlerden preparat hazırlanarak klasik gram boyama yöntemi ile boyandıktan sonra gram (+), kokobasil formunda görünen mikroorganizmalar *Listeria* olarak değerlendirildi.

3.3.2. Katalaz testi

Öze yardımı ile alınan koloni temiz bir lam üzerine sürüldü ve üzerine %3' lük hidrojen peroksit (H_2O_2) damlatıldı ve bir iki saniye içerisinde gaz oluşumu katalaz reaksiyonu pozitif olarak değerlendirildi.

3.3.3. Oksidaz testi

Tetra methy -p-phenylenediamin dihydrochloride	1 gr
Distile su	100 ml

Distile su içerisine tetra methy-p-phenylenediamina dihydrochloride eklenerek oksidaz ayracı hazırlandı. Oksidaz ayracına batırılan filtre kağıdı üzerine öze yardımıyla alınan taze koloni sürülüp renk oluşumu gözlemlendi. Mavi-mor renk pozitif olarak değerlendirildi.

3.3.4. Sulphate Indol Motility Medium (SIM)

500 ml distile su içerisine 15 gr SIM besiyeri (Oxoid CM435) ilave edilerek tüplere 5'er ml dağıtıldıktan sonra 121°C'de 15 dakika steril edildi. Tüpler otoklavdan çıktıktan sonra dik olarak konuldu. İzolattan iğne uçlu ze ile alınıp dik bir şekilde besiyeri içerisine batırıldı. 25°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi boyunca Őemsiye görünümü hareket pozitif olarak kabul edildi.

3.3.5. ̢-Hemoliz

Blood Agar Base besiyerinden (Oxoid CM271) 2 adet 40 gr tartılarak üzerine 1000 ml distile su ilave edildi. Hazırlanan besiyerleri 121°C'de 15 dakika steril edildip sıcaklığı 45-50°C'ye düŐürüldükten sonra %7 oranında birine koyun diğerine insan kanı ilave edildi. Homojen hale gelen besiyeri steril petrilere döküldü. Kanlı agar besiyerine ze yardımıyla alınan koloniler çizme plak yöntemi ile ekildi ve 35°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda koloniler çevresinde oluŐan açık renkli zonlar ̢- hemoliz olarak değerlendirilir.

3.3.6. Karbonhidrat fermentasyon testleri

Karbonhidrat fermentasyon besiyerinden 40 gr tartılarak 1000 ml'ye saf su ile tamamlandı. Son konsantrasyon %1 olacak Şekilde önce filtre ile steril edilmiş Őekerlerden Ramnoz (Sigma R3875), Mannitol (Merck 5982), Ksiloz (Merck 1.08689) ilave edildi ve aseptik koŐullarda 5'er ml tüplere paylaştırıldı. Taze kültürden her bir karbonhidrat besiyerine ayrı ayrı bir öze dolusu inoküle edildi. İnokülasyon yapılan tüpler 1-7 gün arasında 30°C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonucu sarı renk olan tüpler pozitif olarak kabul edildi.

3.3.7. Metil-Red ve Voges-Proskauer(MR-VP)

MR-VP besiyerinden (Oxoid CM43) hazırlanarak 5ml tüplere paylaştırıldı. Tüpler 121°C'de 15 dakika steril edildi. Besiyerine öze yardımıyla inokülasyon yapıldıktan sonra 4 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda %40'lık potasyum hidroksit (KOH)'ten 0,6 ml ilave edilerek karıştırıldı daha sonra üzerine 0,2ml %1 α -naftol çözeltisi damlatıldı. Bir süre sonra üst kısımda pembeden parlak kırmızıya değişen halka oluşumu pozitif, halka oluşmaması ise negatif olarak değerlendirildi.

3.3.8. İndol

Triptofanlı besiyesi:

Tripton	10 gr
NaCl	5 gr
Distile su	1000 ml

Triptofan içeren besiyeri hazırlandıktan sonra 5ml tüplere dağıtıldı. Tüpler 121°C'de 15 dakika steril edildi. Öze yardımıyla inokülasyon yapıldı ve 30°C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda 1 damla Kovaks ayracı ilave edildi. Üst kısımda kırmızı halka oluşumu pozitif, sarı- kahverengi halka oluşumu ise negatif olarak değerlendirildi.

3.3.8. Üre

Üre broth besiyeri (Oxoid CM0053) hazırlandıktan sonra 3 ml tüplere paylaştırıldı. Tüpler 121°C'de 15 dakika steril edildi. Daha sonra öze ile inokülasyon yapılarak 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda besiyerinin renginde herhangi bir değişiklik olmaması negatif, rengin pembeye dönüşmesi pozitif olarak değerlendirildi.

3.4. Duyusal Analizler

Duyusal analizler Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı akademik personeli ve Veteriner Fakültesi öğrencileri tarafından gerçekleştirildi. Örnekler renk ve koku yönünden üç panelist ile puanlama ve sözel hedonik scala testi kullanılarak değerlendirildi.

3.5. İstatistiksel Analizler

Elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile incelenmiştir. Gruplar arasındaki fark değerlendirilirken Tukey, post hoc testi kullanılmıştır. İstatistiksel analizler SPSS 16 paket programı ile yapılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmamızda nisin, lizozim, sitrik asit ve laktik asit gibi dekontaminantların *L. monocytogenes* ile kontamine edilmiş sığır etleri üzerine antimikrobiyel etkileri araştırıldı ve üç ayrı deneme yapıldı. Denemelerdeki mikrobiyolojik analizler değerlendirilmiş ve üç denemenin ortalama değerleri alınmıştır. Üç denemenin 10 günlük analiz sonuçları ortalaması Tablo 6'da (Log_{10} kob/gr) gösterilmiştir.

Tablo 6: Üç denemeye ait on günlük analiz sonuçları ortalaması (Log_{10} kob/gr)

Analiz günlerindeki <i>Listeria monocytogenes</i> sayısı (Log_{10} kob/gr)											
Gruplar	0.gün	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün	8.gün	9.gün	10.gün
Kontrol	7,8	8,3	8,7	9,3	9,3	9,3	9,3	9,4	9,4	9,5	9,5
FTS	7,8	7,8	8,0	8,6	8,8	8,9	9,1	9,3	9,3	9,4	9,5
Nisin	7,3	7,3	6,6	6,6	6,6	6,6	7,0	7,3	7,5	7,9	7,9
Lizozim	7,7	7,5	7,5	8,1	8,1	8,1	8,1	8,2	8,2	8,3	8,3
Sitrik asit	7,0	6,9	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6
Laktik asit	7,0	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	0	0	0	0	0

Denemelerde *Listeria* ile kontamine edilen ve herhangi bir uygulama yapılmayan kontrol grubunda 0. günde *L.monocytogenes* sayısı 7.8 Log_{10} kob/gr, 1. günde 8.3 Log_{10} kob/gr, 2. günde 8.7 Log_{10} kob/gr, 3, 4, 5 ve 6. günlerde 9.3 Log_{10} kob/gr, 7 ve 8.günlerde 9.4 Log_{10} kob/gr ve 9 ve 10. günlerde 9.5 Log_{10} kob/gr olarak belirlendi. İstatistiksel analizlerde kontrol grubunun on günlük ortalama değeri 8,9 log olarak tespit edildi.

Denemelerde *Listeria* ile kontamine edilen ve Fizyolojik Tuzlu Su (FTS) ile dekontamine edilen FTS grubunda 0 ve 1. günlerde *L.monocytogenes* sayısı 7.8 Log₁₀ kob/gr, 2. günde 8.0 Log₁₀ kob/gr, 3. günde 8.6 Log₁₀ kob/gr, 4. günde 8.8 Log₁₀ kob/gr, 5.günde 8.9 Log₁₀ kob/gr, 6. günde 9.1 Log₁₀ kob/gr, 7 ve 8. günlerde 9.3 Log₁₀ kob/gr, 9. günde 9.4 Log₁₀ kob/gr ve 10. günde 9.5 Log₁₀ kob/gr olarak belirlendi. İstatistiksel analizlerde FTS grubunun on günlük ortalama değeri 8,8 log olarak tespit edildi.

Denemelerde *Listeria* ile kontamine edilen ve nisin ile dekontamine edilen grupta 0 ve 1. günlerde *L.monocytogenes* sayısı 7.3 Log₁₀ kob/gr, 2, 3,4 ve 5.günde 6.6 Log₁₀ kob/gr, 6. günde 7.0 Log₁₀ kob/gr, 7. gün 7.3 Log₁₀ kob/gr, 8. günde 7.5 Log₁₀ kob/gr ve 9 ve 10. günlerde 7.9 Log₁₀ kob/gr olarak belirlendi. İstatistiksel analizde nisin grubunun on günlük ortalama değeri 7,4 log olarak tespit edildi. *L.monocytogenes* üzerine ortalama 1,5 log düzeyinde azalma oluşturduğu belirlendi.

Denemelerde *Listeria* ile kontamine edilen ve lizozim ile dekontamine edilen grupta 0. günde *L.monocytogenes* sayısı 7.7 Log₁₀ kob/gr, 1 ve 2. günlerde 7.5 Log₁₀ kob/gr, 3, 4, 5 ve 6. günde 8.1 Log₁₀ kob/gr, 7 ve 8. günlerde 8.2 Log₁₀ kob/gr, 9 ve 10. günde 8.3 Log₁₀ kob/gr olarak belirlendi. İstatistiksel analiz sonucunda lizozim grubunun on günlük ortalama değeri 7,8 log olarak saptandı ve *L.monocytogenes* düzeyinde ortalama 1,1 log değerinde indirgeme sağladığı belirlendi.

Denemelerde *Listeria* ile kontamine edilen ve sitrik asit ile dekontamine edilen grupta 0. günde *L.monocytogenes* sayısı 7.0 Log₁₀ kob/gr, 1. günde 6.9 Log₁₀ kob/gr, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10. günlerde 6.6 Log₁₀ kob/gr olarak belirlendi. İstatistiksel olarak ortalama değeri 6,7 log olarak tespit edildi. *L.monocytogenes* sayısında ortalama 2,2 log bir indirgenme yarattığı belirlendi.

Denemelerde *Listeria* ile kontamine edilen ve laktik asit ile dekontamine edilen grupta 0. günde *L.monocytogenes* sayısı 7.0 Log₁₀ kob/gr, 1, 2, 3, 4, 5. günlerde 6.6 Log₁₀ kob/gr, 6, 7, 8, 9 ve 10. günlerde etken saptanamadı. İstatistiksel analizler sonucunda ortalama değer 4,0 log olarak tespit edildi. *L.monocytogenes* düzeyinde ortalama 4,9 log azalmaya neden olduğu belirlendi.

3.1. Duyusal Analiz sonuçları

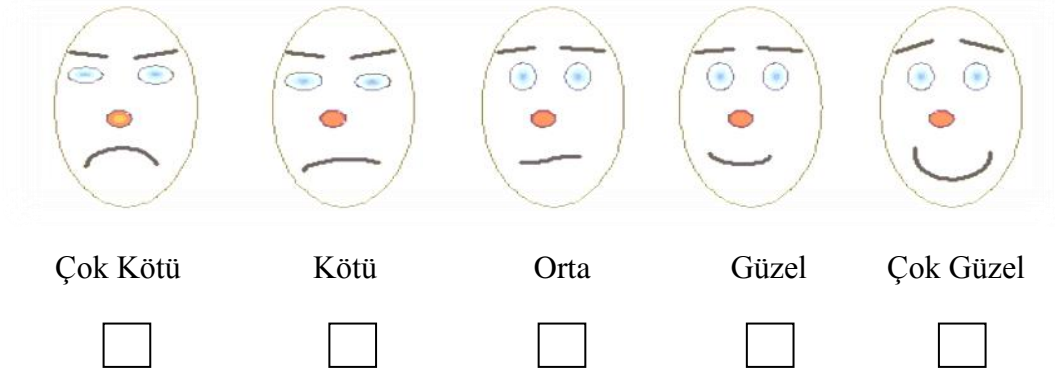
Tüm denemelerdeki mikrobiyolojik üremedeki logaritmik değişikliklerin yanı sıra bir takım duyuşal değişiklikler kaydedilmiştir. Bu duyuşal değişiklikler renk ve koku olarak değerlendirildi. Renk değişikliğinin belirlenmesinde puanlama testi kullanıldı. Puanlama testinde normal (0), açık (1), koyu (2) , fosforlu (3) olarak yapıldı (Tablo 7). Denemelerin 3. gününde laktik asit ette herhangi bir renk değişikliğine neden olmazken lizozim, sitrik asit ve nisin etin rengine çok hafif açılmalara neden oldu. Lizozim, nisin ve sitrik asitte şekillenen değişimlerin kabul edilebilir düzeyde olduğu belirlendi. Dördüncü gün nisin ve lizozim’de renk normal iken sitrik ve laktik asitte etin rengine aşırı bir koyulaşma tespit edildi. Denemenin ilerleyen günlerinde (6, 7, 8, 9 ve 10. günler) sitrik asit etin fosforlu bir renk kazanmasına neden olurken diğer kimyasallarda bu tür bir değişikliğe rastlanmadı. Ayrıca yine denemenin ilerleyen günlerinde lizozim’de hissedilebilir bir koku değişikliği gözlemlendi (Tablo 8).

Tablo 7: Renk değişimi için puanlama testi sonuçları

	Kontrol	FTS	Nisin	Lizozim	Sitrik Asit	Laktik Asit
0.gün	0	0	0	0	0	0
1.gün	0	0	0	0	0	0
2.gün	0	0	0	0	0	0
3.gün	3	3	1	1	1	0
4.gün	3	3	1	1	2	2
5.gün	3	3	1	1	2	2
6.gün	3	3	1	1	3	2
7.gün	3	3	1	1	3	2
8.gün	3	3	1	1	3	2
9.gün	3	3	1	1	3	2
10.gün	3	3	1	1	3	2

Koku değişimini belirlemek için panelistlere Yüzel İfade Hedonik Skala Testi uygulandı. Panelistlerden ürün hakkındaki düşüncelerini en iyi anlatan yüz ifadesini seçmeleri istendi. Yüzel İfade Hedonik Skala Testi Şekil 4' de verilmiştir.

Şekil 4: Yüzel İfade Hedonik Skala Testi



Yüzel İfade Hedonik Skala Testi sonuçlarının değerlendirilmesi çok kötü (1), kötü (2), orta (3), güzel (4), çok güzel (5) olarak yapıldı. Değerlendirme sonuçları Tablo 8' de belirtilmiştir.

Tablo 8: Yüzel İfade Hedonik Skala Testi sonuçları

	Kontrol	FTS	Nisin	Lizozim	Sitrik Asit	Laktik Asit
0.gün	3	4	4	3	4	5
1.gün	3	4	4	3	4	5
2.gün	2	3	4	3	4	5
3.gün	2	3	4	2	4	4
4.gün	1	3	4	2	3	4
5.gün	1	2	3	2	3	4
6.gün	1	2	3	2	3	3
7.gün	1	2	3	1	2	3
8.gün	1	1	2	1	2	3
9.gün	1	1	2	1	2	3
10.gün	1	1	2	1	2	3

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada dekontaminasyon etkileri incelenecek olan laktik asit, sitrik asit, nisin ve lizozimin sığır sırt etinden (*musculus longissimus dorsi*) elde edilmiş ve *L.monocytogenes* ile kontamine edilmiş et preparatlarına daldırma yöntemi ile uygulanmış ve *L.monocytogenes* (10^7 kob/gr) üzerine inhibe edici etkileri incelenmek amacıyla kontaminasyondan itibaren 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10. günlerde mikrobiyolojik analizler yapılmıştır.

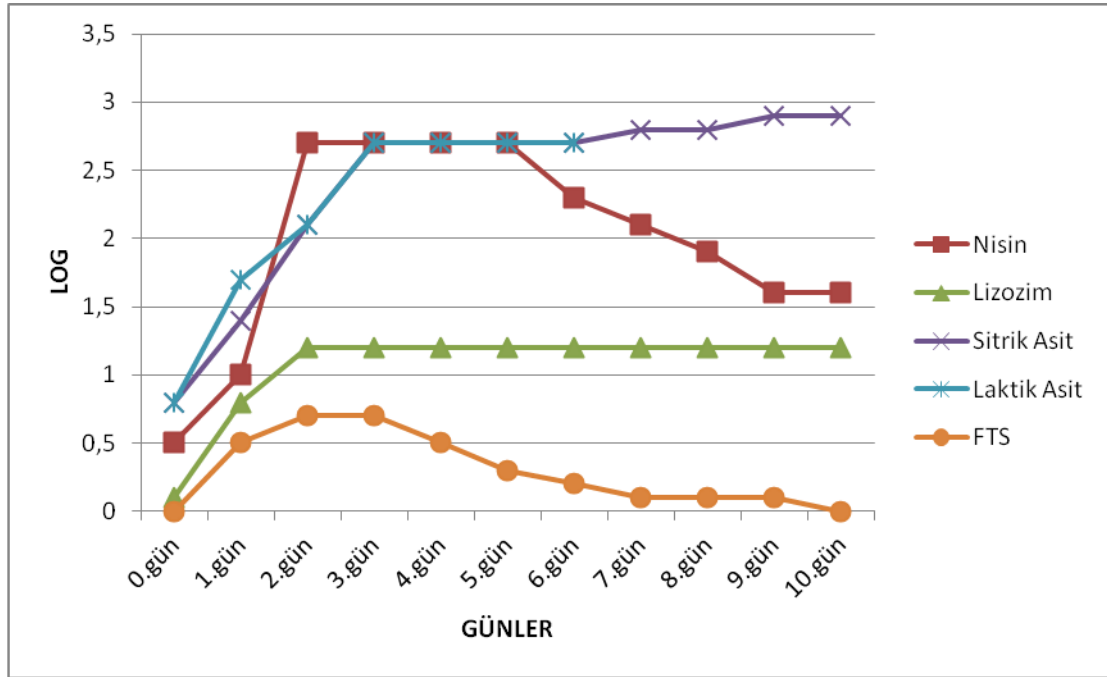
Denemelerde 0. günden itibaren logaritmik değerlerde birtakım (artma + veya azalma -) değişiklikler gözlemlendi (Tablo 9, Tablo 10). Kontrol grubundaki değişiklik 0,5 - 1,7 log arasında artma şeklinde belirlendi. FTS grubunda 0. ve 1. gün arasında fark gözlenmezken diğer günlerde ise 0,2 - 1,7 log arasında artış gözlemlendi. Nisin grubunda da FTS grubu gibi 0. ve 1. günler arasında değişiklik gözlenmezken 2. günden 6. güne kadar 0,7 log azalma, 6. günden 10. güne kadar 0,2 - 0,6 log düzeyinde artış saptandı. Lizozim grubunda ilk iki gün 0,2 log azalma, 3. günden itibaren 10. güne kadar 0,4 - 0,6 log arasında bir artma şekillendi. Sitrik asit grubunda ilk gün 0,1 log, 2. günden itibaren 10. güne kadar 0,4 log oranında azalma saptandı. Laktik asit grubunda 0 - 5. günlerde 0,4 log azalma gözlenirken, 6. günden sonraki tüm günlerde etken saptanamadı (Tablo 9).

Diğer gruplardaki azalma veya artma değerlerinin kontrol grubuna göre kıyaslamasına bakıldığında (Grafik 1), kontrol ile FTS grubu karşılaştırıldığında FTS grubunda 0 ve 10. günlerde azalma veya artma gözlenmedi. Kontrol grubu ile aynı değer saptandı. Birinci gün 0,5 log, 2. ve 3. günler 0,7 log, 4.gün 0,5 log, 5. gün 0,4 log, 6. gün 0,2 log, 7, 8 ve 9. günlerde 0,1 log azalma sağlandı. Kontrol grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,01$). Kontrol ve nisin grupları karşılaştırıldığında 0. gün 0,5 log, 1. gün 1,0 log, 2. gün 2,1 log, 3, 4 ve 5. günler 2,7 log, 6. gün 2,3 log, 7. gün 2,3 log, 8. gün 1,9 log, 9 ve 10. günlerde 1,6 log düzeyinde değişiklik belirlendi. Kontrol grubuna karşılık anlamlı bir fark olduğu saptandı ($p<0,01$). Kontrol ve lizozim grubuna bakıldığında 0. gün 0,1 log, 1. gün 0,8 log, 2 - 10. günlerde 1,2 log azalma gözlemlendi. Kontrol grubuna karşı anlamlı bir fark olduğu tespit edildi ($p<0,01$). Kontrol ve sitrik asit 0. gün 0,8 log, 1. gün 1,4 log, 2. gün 2,1 log, 3, 4, 5 ve 6. günlerde 2,7 log, 7 ve 8. günlerde 2,7 log, 9 ve 10. günlerde

2,9 log düzeyinde azalma belirlendi. Kontrol grubuna karşılık anlamlı bir fark oluşturduğu saptandı ($p<0,01$). Kontrol ve laktik asit gruplarının karşılaştırılmasında 0. gün 0,8 log, 1. gün 1,7 log, 2 – 3. günler 2,1 log, 4- 5. günler 2,7 log azalma saptandı. 6. günden itibaren etken saptanamadı. Kontrol grubuna karşılık anlamlı bir fark olduğu tespit edildi ($p<0,01$). Günlere göre *L.monocytogenes*' in ilerlemesindeki değişimler Tablo 9' da ve antimikrobiyel maddelerin (FTS – Nisin – Lizozim – Sitrik asit – Laktik asit) kontrol grubuna göre mikrobiyolojik farklılıkları (Log_{10} kob/gr) Tablo 10' da belirtilmiştir.

Tablo 10: Antimikrobiyel maddelerin kontrol grubuna göre mikrobiyolojik farklılıkları (Log₁₀ kob/gr)

Antimikrobiyel maddelerin kontrol grubuna göre mikrobiyolojik farklılıkları (Log ₁₀ kob/gr)											
Gruplar	0.gün	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün	8.gün	9.gün	10.gün
Kontrol	7,8	8,3	8,7	9,3	9,3	9,3	9,3	9,4	9,4	9,5	9,5
FTS	7,8	7,8	8,0	8,6	8,8	8,9	9,1	9,3	9,3	9,4	9,5
Kontrol-FTS	-	0,5	0,7	0,7	0,5	0,4	0,2	0,1	0,1	0,1	-
Nisin	7,3	7,3	6,6	6,6	6,6	6,6	7,0	7,3	7,5	7,9	7,9
Kontrol- Nisin	0,5	1,0	2,1	2,7	2,7	2,7	2,3	2,1	1,9	1,6	1,6
Lizozim	7,7	7,5	7,5	8,1	8,1	8,1	8,1	8,2	8,2	8,3	8,3
Kontrol-Lizozim	0,1	0,8	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
Sitrik asit	7,0	6,9	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6
Kontrol-Sitrik Asit	0,8	1,4	2,1	2,7	2,7	2,7	2,7	2,8	2,8	2,9	2,9
Laktik asit	7,0	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	0	0	0	0	0
Kontrol-Laktik Asit	0,8	1,7	2,1	2,1	2,7	2,7	9,3	9,4	9,4	9,5	9,5



Grafik 1: *L. monocytogenes*' in günlere göre değişimindeki grafiksel görünümü

Grupların günlere göre değerlendirmesine bakıldığında günler ilerledikçe uygulanan maddelerin *L.monocytogenes* üzerine etkili olduğu ve *L.monocytogenes* düzeyinde azalmaya neden olduğu saptandı. Grupların ayrı ayrı ortalamalarında FTS ile kontrol grubunun birbirine yakın değerlerde olduğu tespit edildi (Tablo 6). Etki derecelerine göre sıralandığında en etkili laktik asit, bunu takiben sitirik asit, nisin ve lizozim olduğu gözlemlendi. Grupların tek tek günlere göre ortalama değerlerinde 0. günden 10. güne kadar uygulanan maddelerin *L.monocytogenes* üzerine etkili olduğu tespit edildi. Nisin ve lizozim gruplarında ilk günlerde *L.monocytogenes* düzeyinde belli bir azalma şekillendiği saptandı fakat ilerleyen günlerde belli oranda artış gözlemlendi. Sitrik ve laktik asit gruplarında 0. günden itibaren *L.monocytogenes* düzeyinde belli oranda bir azalma sağlandı ve denemenin altıncı gününden itibaren etken izole edilemedi. Sonuç olarak istatistiksel analizlerde en etkili maddenin laktik asit olduğu, FTS grubunun kontrol grubuna benzer sonuçlarda olduğu, nisin ve lizozim gruplarının ilerleyen günlerde etkili olmadığı ve sitirik asit' in tüm günlerde aynı oranda azalmaya neden olduğu belirlendi.

Konu ile ilgili yapılan benzer bir bilimsel çalışmada (81), *L.monocytogenes* ile kontamine edilen dana etlerinde, %2 laktik asit spreylendiğinde buzdolabı sıcaklığında 10. gün sonunda 3,80 log oranında azalma, %2 laktik asite daldırma yöntemi kullanıldığında ise 3,92 log oranında azalma sağlanmış, daldırma yöntemindeki azalma düzeyinin, spreyleme yöntemine oranla daha fazla olduğunu saptanmıştır. Ayrıca Özdemir ve ark. (79), 2006 yılında sığır etleri üzerine yaptıkları çalışmalarında *L.monocytogenes* ile kontamine edilen buzdolabı sıcaklığındaki etlere %1 laktik asit uygulamasının 0-5. günler arasında 0,69 - 2,16 log bir azalma sağladığını tespit etmişlerdir.

Laktik asitle yapılan bir başka dekontaminasyon çalışmasında (94), sığır etlerine 1/9, 1/49 ve 1/99 oranlarında laktik asit ve suyla yıkama işlemi uygulanmış, sonuç olarak 0-14. günler arasında 1/9 ve 1/49'lük solüsyonlarda azalma 1-2 log arasında iken, 1/99 solüsyonundaki azalma ise 2,7-3,4 log arasında değişmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada (5), tavuk karkas yüzeyine %0,5, %1, %1,5 ve %2 oranlarında laktik asidin daldırma yöntemi ile dekontaminasyonundan sonra 10, 20 ve 30. dakikalardaki analiz sonuçlarına bakılmış ve *L.monocytogenes* düzeyinde %0,5'lik laktik asit uygulamasının 10, 20 ve 30.dakikalarda sırasıyla 1,24 log, 1,24 log ve 1,30 log, %1'lik laktik asit uygulamasının sırasıyla 1,18 log, 1,23 log ve 0,95 log, %1,5'lik laktik asit uygulamasının sırasıyla 1,53 log, 1,66 log ve 1,77 log ve %2'lik laktik asit uygulamasının ise sırasıyla 1,76 log, 1,70 log ve 1.97 log oranında bir azalma sağladığı gözlemlenmiştir. Yine Lecompte ve ark. (61)'nin tavuk derileri üzerine *L.monocytogenes* inoküle ettikleri bir çalışmada laktik asitin (%5 ve %10) etkisini 1 ve 30. dakikalarda sırasıyla 1,4 log ve 2,4 log oranında bir azalma sağladığı saptanmıştır.Koutsoumanis ve ark. (60)'nin taze etlerde sıcak su ve laktik asidin *L.monocytogenes* gelişimine baskılayıcı etkisini araştırdıkları çalışmada laktik asitin *L.monocytogenes* sayısında 1,43 log oranında azalma sağladığı belirtilmiştir. Rose ve ark. (85), taze sığır etlerinde laktik asit uygulamasının mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşal özelliklerinin değerlendirildiği diğer bir çalışmada laktik asidin *L.monocytogenes* sayısında 1,76-2,80 log'luk bir değişim yaptığı gözlemlenmiştir. Gill ve ark. (38), donmuş sığır karkasları üzerinde var olabilecek *L.monocytogenes* düzeyinde laktik asitin 0,5 log oranında bir azalma sağladığını saptamışlardır.

Yukarıdaki çalışmaların tümünde laktik asitin *L.monocytogenes* üzerine etkili olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda benzer şekilde 0.gün 0,8 log, 1.gün 1,7 log 2 - 5. günler arası 2,1 log azalma sağlanırken, 6. günden itibaren etken saptanamamış ve laktik asitin dekontaminasyon etkisi bir kez daha kanıtlanmıştır.

Bolder ve ark. (15), laktik asidin %1-2'lik çözeltilerinin kanatlı karkaslarında renk ve tat gibi organoleptik değişikliklere neden olabildiğini, diğer bir çalışmada Pipek ve ark. (83), laktik asit ve buhar uygulamasının kombine olarak kullanılmasının hafif bir renk değişikliğine (koyulaşma), neden olduğu fakat bu değişiklik gözle görülebilir olumsuz bir etkiye neden olmadığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda laktik asit anlık etkide gözle görülebilir herhangi bir renk değişikliğine neden olmamış, denemenin 4. gününden itibaren renkte gözle görülebilen bir koyulaşmaya neden olmuştur.

Midgley ve ark. (70), kırmızı etlerde dekontaminasyon amacıyla nisin kullandıkları çalışmalarında nisin ile yıkamada *L.monocytogenes* oranında 2 log bir azalma sağladıklarını belirtmişlerdir.

Hampikyan'ın (46), yapmış olduğu bir çalışmada *L.monocytogenes* inoküle edilmiş fermente sucuklarda 100 µg/g nisin kullanımı 15. günde 1,14 log azalma sağlamış, 20. günde ise etkeni tamamen inhibe etmiş, 50 µg/g nisin 20. günde 1,6 log oranında bir azalma sağlarken 25. günde ise etkeni tamamen inhibe etmiştir. Yapılan bir başka bir çalışmada Cutter ve ark. (25), kırmızı et karkaslarının dekontaminasyon amacıyla 5000 AU ml⁻¹ nisin kullanımı sonucu *L.monocytogenes* oranında 2 log bir azalma sağlandığını belirtmişlerdir.

Nattress ve ark.(75), nisinin ticari domuz karkaslarında duyuşal özellikler ve mikroflora üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında 6. hafta sonunda nisinin *L.monocytogenes* üzerine 4,1 log'lık azalma sağladığını bildirmişlerdir.

Argues ve ark. (7), nisin ve reuterinin gıda kaynaklı patojenlere antimikrobiyel etkisini araştırdıkları çalışmada nisinin sütteki *L.monocytogenes* sayısında 4. saatten sonra 0,89 log azalma sağlandığını tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda nisin uygulanan örneklerde ilk gün *L.monocytogenes* oranında 0,5 log bir azalma 1. ve 2. günlerde sırasıyla 1,0 log, 2,1 log düzeyinde azalma şekillenirken, 3-6. günlerde ise 2,7 log bir azalma gözlenmiştir. Yedinci günden itibaren 1,9 - 2,3 log arasında değişen bir azalma şekillenmiştir. Çalışmalar değerlendirildiğinde nisin *L.monocytogenes* üzerine olan etkisinin kullanılan doz, gün sayısı ve farklı kimyasallarla kombine olarak kullanımına bağlı olarak değişiklik gösterdiği söylenebilir.

Hughey ve ark. (52)'nin yumurta akı lizoziminin *L.monocytogenes* üzerine antibakteriyel etkisini araştırdıkları çalışmada lizozimin birçok gıdada *L.monocytogenes*'i engelleyici ve öldürücü etkisinin olduğunu belirtmişlerdir. Lizozimin etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ile kombine olarak kullanıldığında gösterdiği etkisinin lizozimin tek olarak etkisinden daha fazla olduğunu, EDTA ve lizozim kombinasyonunda 40. dakikadan itibaren *L.monocytogenes* izole edilememişken, lizozim ve EDTA'nın tek tek uygulanmasında 50.dakikaya kadar etkenin varlığını koruduğunu saptamışlardır.

Mangalassary ve ark. (65), hindi salamlarında *L.monocytogenes*'in kontrolü için nisin, lizozim ve kombinasyonlarının kullanımının etkisini araştırmışlardır. Pastörizasyon yapılmadan *L.monocytogenes* üzerine nisin, lizozim ve kombinasyonlarının uygulamasının sonuçları kontrol grubuna benzer bulunmuştur ve *L.monocytogenes* sayısı kontrol grubunda 3,5 log, lizozimde 3,9 log, nisin de 3,8 log ve nisin- lizozim kombinasyonunda 4,2 log olarak saptanmıştır. Araştırmada 65°C'de 32 sn pastörizasyon işlemi sonrası buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilen salamlarda 12 hafta sonunda kontrol grubunda sadece 2,4 log düzeyine bir azalma tespit edilirken, pastörizasyon ile birlikte lizozim uygulamasında 8. hafta sonunda 1,9 log azalma gözlenmiş 9. haftadan sonra ise etken izole edilememiştir. Pastörizasyon işlemi ile nisin uygulaması sonucu 0-3. haftalarda 1,7 log oranında azalma meydana gelmiş ve 3. haftadan sonra etken izole edilememiştir. Pastörizasyon işlemi ile nisin ve lizozim kombinasyonunun uygulanması sonucu ilk iki haftada 1,5-2,7 log oranında azalma sağlanırken 3. haftadan itibaren etken izole edilememiştir. Sonuç olarak nisin, lizozim ve kombinasyonlarının salamlarda

kullanımının etkisiz olmasına rağmen pastörizasyon işlemi sonucu etkisinin arttığı rapor edilmiştir.

46

Gill ve Holley (37), 500 mg/kg lizozim: nisin (1:3) ve 500 mg/kg EDTA varlığında sosisler üzerinde yaptıkları çalışmada, antimikrobiyal içeren sosisleri *Brochothrix thermosphacta*, *Escherichia coli O157:H7*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus curvatus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella thyphimurium*, *Serratia grimesii* veya *Shewanella putrefaciens* ile inokule etmişler ve vakumda ambalajladıktan sonra 4 hafta 8°C'de muhafaza etmişlerdir. İki hafta sonunda *Lc.mesenteroides* ve *L.monocytogenes*, 3 hafta sonunda *L.curvatus* ve 4 hafta sonunda ise *B.thermosphacta* ve *E.coli O157:H7* bakteri yüklerinde azalma gözleendiği, ancak 3 hafta sonunda *S.thyphimurium* bakteri yükünde artma gözleendiği ve diğer bakterilerin gelişiminde kontrol çalışmalarına göre herhangi bir farklılık olmadığı saptandığı belirtilmiştir.

Benzer şekilde, Natress ve ark.(76), lizozimin ticari domuz karkaslarında duyuşal özellikler ve mikroflora üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında ise 6. hafta sonunda lizozimin *L.monocytogenes* üzerine 4,1 log'luk azalma sağladığını bildirmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar (75), etlerde bozulmaya neden olan *Brochothrix thermosphacta* ve *Carnobacterium* spp. üzerinde yaptıkları bir çalışmada, lizozim ve nisin tekli uygulamalarının ve ikili karışımlarının 250 µg/ml oranında lizozimin *B. thermosphacta* üzerinde önemli bir etki gösterdiğini saptamışlardır.

Çalışmamızda lizozim uygulaması ile 0.gün 0,1 log, 1.gün 0,8 log ve 2.günden itibaren 1,2 log oranında azalma sağlanmıştır. Diğer gruplarla karşılaştırıldığında daha az olmakla beraber çalışmamızda lizozim uygulamasında belirli ölçüde bakteri sayısında bir düşüşe neden olduğu tespit edilmiştir.

Min ve ark. (71), domuz ve sığır karkaslarında mikrobiyel kontrol amacıyla sitrik asit kullanmışlar başlangıç yükü 10^7 log olan numunelerin uygulama sonrası yüklerini 10^3 olarak belirlemişlerdir. Kanatlı etlerinde *L. monocytogenes* gelişimini engellemek amacıyla yapılan bir çalışmada (84), %0,27 ve %0,09 sitrik asit kullanımının *L. monocytogenes'* in gelişme, gerileme ve duraklama dönemlerinde ortalama 1,11 log azalma sağladığı saptanmıştır.

Çalışmamızda sitrik asit ile 0. gün *L.monocytogenes* sayısında 0,8 log, 2. gün 1,4 log, 3.gün 2,1 log oranında bir azalma ve 3.günden itibaren ise 2,7 log düzeyinde bir azalma sağlanmıştır.

Özet olarak çalışmamızda kullanılan kimyasallar arasında *L.monocytogenes* üzerine en etkili laktik asit ve sitrik asit olarak belirlenmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda da en etkili kimyasal maddenin laktik asit olduğu belirtilmiştir. Laktik asit dışında sitrik asit ve asetik asit gibi organik asitlerde dekontaminasyonda önemli yer bulmaktadırlar. Sitrik asit kullanımının gıda maddelerinde renk değişimine neden olması bir dezavantaj olarak belirtilebilir. Nisin ve lizozimin bakteriler üzerine olan dekontaminasyon etkisinin incelendiği bazı çalışmalarda bu maddelerin etkili olduğu bildirilmişken, bazı çalışmalarda ise çalışmamızda belirtildiği gibi *L.monocytogenes* üzerine fazla etkisinin olmadığı rapor edilmiştir. Bu farkın nisin ve lizozimin farklı kimyasallarla veya kendi aralarında kombine olarak kullanımından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (53, 65).

Çalışmamızda laktik asit anlık etkide ette herhangi bir renk değişikliğine neden olmazken lizozim, sitrik asit ve nisin etin renginde çok hafif açılmalara neden olmuştur. Çalışmanın ilerleyen günlerinde bu renk değişimi laktik asitte koyulaşma halini almıştır. Sitrik asit etin fosforlu bir hal almasına neden olmuştur. Ayrıca yine denemenin ilerleyen günlerinde lizozim’de hissedilebilir bir koku değişikliği gözlenmiştir. Yapılan farklı çalışmalarda (17, 64), laktik asitin %2 ve üzerindeki oranlarda ve uzun süreli muamele edilmesi sonucu renk değişimlerine neden olduğu fakat bu renk değişiminin kabul edilebilir düzeyde olduğu bildirilmektedir.

Sonuç olarak günümüzde tüketici sağlığını tehdit eden patojen mikroorganizmaları inhibe etmek için, özellikle insan sağlığına zarar vermeyen, antimikrobiyel etkili katkı maddelerinin kullanımı yaygınlaşmaktadır. Son yıllarda antimikrobiyel etkileri nedeni ile nisin, laktik asit, sitrik asit ve lizozim, et ve et ürünleri, süt ve süt ürünleri, sebzeler ve çeşitli gıda maddelerinde kullanılan, birçok ülke tarafından onaylanmış güvenilir katkı maddeleri olarak kabul edilen ve gıda sektöründe kullanım alanı giderek artan katkı maddeleri arasında yer almaktadır. *L.monocytogenes* çeşitli gıda maddelerinde bulunabilen ve insan sağlığı açısından risk oluşturabilen bir patojendir. Tüketicinin artan endişelerinden dolayı gıda dekontaminasyonunda özellikle insan sağlığına zarar vermeyen antimikrobiyel

maddelerin kullanımının önemi gün geçtikçe artmaktadır. Bu çalışma ile de bir kez daha dekontaminasyon amacıyla kullanılan maddeler içerisinde laktik asitin en etkili organik asit olduğu kanıtlanmış oldu. Kullanılan maddeler etki derecelerine göre laktik asit, sitrik asit, nisin ve lizozim şekilde sıralanabilir,. Kullanılan kimyasalların olumsuz duysal etkilerinin bertaraf edilebilmesi amacıyla daha düşük konsantrasyonları denemeye yönelik araştırmalar yapılması gerekmektedir.

6. ÖZET

Bu çalışmada *Listeria monocytogenes* ile kontamine edilen sığır eti örneklerine nisin, lizozim, sitrik asit ve laktik asit kullanımının etkisi incelendi.

Araştırmada et örnekleri *L.monocytogenes* ile kontamine edilerek Kontaminasyondan sonra konsantrasyonları bilinen FTS, nisin, lizozim, sitrik asit, laktik asit solüsyonlarına daldırılıp dekontamine edildi ve 10 gün boyunca mikrobiyolojik yönden analize tabi tutuldu. *L.monocytogenes* üzerine FTS 0,1 log ($p>0,01$), lizozim 1,1 log ($p<0,01$), nisin 1,5 log ($p<0,01$), sitrik asit 2,2 log ($p<0,01$), laktik asit 4,9 log ($p<0,01$) düzeyinde azalma şekillendiği gözlemlendi.

Çalışmadaki bulguların sonucuna göre kullanılan antimikrobiyel maddelerden *L.monocytogenes* üzerine en etkilisinin laktik asit ve sitrik asit olduğu tespit edildi. Bu antimikrobiyel maddelerden sitrik asit' in etin duyuşal özelliklerinden rengi olumsuz yönde etkilediği yine nisin ve lizozimin etin renk ve koku üzerinde bazı olumsuz değişikliklere neden olduğu fakat değişikliklerin kabul edilebilir düzeyde olduğu saptandı.

7. SUMMARY

In this study *L.monocytogenes* added beef samples were analyzed by the use of lysozyme, nisin, citric acid and lactic acid.

Contamination of meat samples in this study after the addition of lactic acid solutions of known concentrations were decontaminated distilled and microbiological analysis were done during 10 days. On the *L.monocytogenes* FTS 0,1 log ($p>0,01$), lysozyme 1,1 log ($p<0,01$), nisin 1,5 log ($p<0,01$), citric acid 2,2 log ($p<0,01$), lactic acid 4,9 log ($p<0,01$) declining levels of microbiological analysis was formed.

Study findings concluded that the best of the antimicrobial agents on the *L.monocytogenes* used in the lactic acid and citric acid was detected. This antimicrobial agents in the citric acid in the color of the meat adversely affected the sensory properties and nisin and lysozyme caused by changes in color and odor, changes have on the team were at an acceptable level.

8. KAYNAKLAR

1. Akçelik, M.: Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Medisan Yayınevi. Ankara. 2002.
2. Akkoç, N., Şanlıbaba, P., Akçelik, M. (2009). Bakteriosinler: Alternatif gıda koruyucuları, E.Ü. Fen Bil. Derg. 25(1-2), 59-70.
3. Aklın, E. (2003). *L. monocytogenes* bakterisinin özellikleri. TÜBİTAK I. Ulusal Gıda ve Beslenme Kongresi. Bildiri Kitabı. İstanbul.
4. Aktürkoğlu, E., İrfan, E. (1999). Beyaz peynir üretiminde nisin kullanımı ile *Listeria monocytogenes*'in inhibisyonu. J. Vet. Ani. Sci. 23. Ek Sayı 4. 785-792.
5. Anang, D.M., Rusul, G. Jamilah Bakar, Foo H. Ling. (2007). Effects of Lactic And Lauricidin on the Survival of *L.monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis* and *Escherichia Coli* O157:H7 in Chicken Breast Stored at 4°C. Food Cont. 18. 961-969.
6. Arda, M.: Listeria ve Listeria Enfeksiyonları. İçinde: Arda M. (Ed.), Özel Mikrobiyoloji. Ankara. Medisan Yayınevi. 147-162. 1997.
7. Argues, L. J., Fernandez, J., Gaya, P., Nunez, M., Rodriguez, E., Medina, M. (2004). Antimicrobial Activity of Reuterin in Combination with Nisin Against Food-Borne Pathogens. Int. J. Food Micro. 95. 225-229.
8. Arias-Moliz, M.T., Espigares-Rodriguez, E., Espigarez-Garcia, M. (2008). Bactericidal activity of phosphoric acid, citric acid and EDTA solutions against *Enterococcus fecalis*.University of Granada. USA.
9. Arslan, A.:Et muayenesi ve Et Ürünleri Teknolojisi. Medisan Yayıncılık. Elazığ. 2002.
10. Aymerich, T., Picouet, P.A., Monfort, J.M. (2008). Decontamination technologies for meat products. Meat Sci. 78. 114-129.
11. Bacon, R.T., Belk, K.E., Sofos, J.N., Clayton, R.P., Reagan, J.O. and Smith, G.C. (2000). Microbial populations on animal hides and beef carcasses at different stages of slaughter in plants employing multiple-sequential interventions for decontamination. J. Food Pro. 63(8) 1080-1086.

12. Becker, B., Trierweiler, B., Fehler, J., Holzapfel, W.H. (2001). Presence of *L. monocytogenes* in samples of cooked sausages. Proceeding of the XIV ISOPOL. Germany. p.:132-135.
13. Berktaş, M., Bozkurt, E.N., Bozkurt, H., Alişarlı, M., Güdücüoğlu, H. (2006). Et ve et ürünlerinde *Listeria monocytogenes*'in izolasyonu. Van Tıp Derg. (2), 36-41.
14. Biberstein, E.L., Zee, Y.C. (1987). Review of Veterinary Microbiology. California: Blackwell Publishing.
15. Bolder, N.M. (1997). Decontamination of meat and poultry carcasses. Tren. Food Sci. & Tech. Vol.8. 221-227.
16. Boukhari, E., Al Mazrou, A., Al Zamil, F., Al Kilani, R. (1999). *L.monocytogenes* bacteremia and meningitis in a Saudi newborn. Annals of Saudi Medicine. 19(6). 539-540.
17. Buchanon, R.E., Gibbons, N.E.: Bergey's Manuel Determinations Bacteriology's. The William and Wilkins comp. Baltimore. Maryland. 92-99. 2000.
18. Buege, D., Ingham, S. (2003). Small Plant Intervention Treatments to reduce bacteria on beef carcasses at slaughter. The University Wisconsin Madison USA.
19. Buonocore, G.G., Conte, A., Corbo, M.R., Sinigaglia, M. and Del Nobile, M.A., Mono- and multilayer active films containing lysozyme as antimicrobial agent. In. Food Sci. Emerg. Tech. 6. 459-464. 2005.
20. Cengiz, T.: " Cins *Listeria* İçinde : Temel ve Klinik Mikrobiyoloji". Ed: Ustaçelebi, S., Güneş Kitabevi. 399-407. 1999.
21. Chen, N., Shelef, L.A. (1992). Relationship between water activity, salts of lactic acid, and growth of *L. monocytogenes* in a meat model system. J. Food Protec. 55(8) 574-578.
22. Chye, F.Y., Abdullah, A., Ayob, M.K. (2004). Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. Food Micro. 21. 535-541.
23. Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F., Chikindas, M.L.:Bacteriocins: Safe, natural antimicrobials for food preservation, Int. J. Food Mic., 71, 1-20, 2001.
24. Cliver, D.O.: Microbial decontamination. Food Safety and Antimicrobial Interventions, 2009.

25. Cutter, N.C., Siragusa, G.R. (1994). Decontamination of beef carcass tissue with nisin using a pilot scale model carcass washer. *Food Mic.*,11, 481-489.
26. Çiftçioğlu, G.: Kıyma, sucuk ve tacuk etlerinde *L. monocytogenes*'in mevcudiyeti üzerine araştırmalar. İ. Ü. Sağ. Bil. Enst. Doktora Tezi, 1992.
27. Çon, H.A., Gökalp, Y.H. (2000). Laktik asit bakterilerinin antimikrobiyel metabolitleri ve etki şekilleri. *Türk Mikro. Cem. Derg.* 30: 180-190.
28. Doyle, M.P.: Effect of environmental and processing conditions on *L. monocytogenes*. *Food Tech.* 469-171. 1988.
29. Doyle, M.E.: Literature survey of the various techniques used in *Listeria* intervention. *Food Res. Ins.* p: 3. 1999.
30. Doyle, M.E.: Use of other preservatives to control *Listeria* in meat. *America Meat Inst.* October. USA. 1999.
31. Doyle, M.E.: Virulence characteristics of *L. monocytogenes*. *Food Res. Inst. Bri.* University of Winsconson. Madison. 2001.
32. Ekici, L.: Telli, R. ve Yetim, H. (2008). Gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyon bakterileri-I. *Gıda Tekno. Elekt. Derg.* (2) 29-42.
33. Erol, İ., Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi, Ankara, 279-284, 2007.
34. EU Report. . (2001). Report on Trends and sources of zoonotic agents in the European Union and in Norway. 217-222.
35. Frat , J.P., Veinstein, A., Wager, M., Burucoa, C., Robert, R.: Reversible acute hydrocephalus complicating *L. monocytogenes*, meningitis. *Euro. J. Clin. Micro. Inf. Dis.* 20(7). 512-513. 2001.
36. Frazer, A.C., Sharratt, M., Hickmann, J.R.: The biological effects of food additives.I. Nisin. *J. Sci. Food Agric.* 13. 32-42. 1962.
37. Gill, A.O. and Holley, R.A. (2000). Inhibition of bacterial growth on ham and Bologna by lysozyme, nisin and EDTA. *Food Res. Int.* 33, 83-90.
38. Gill, A.O., Landers, C. (2003). Microbiology effects of carcass decontaminating treatments at four beef packing plants. *Meat Sci.* 65, 1005-1011.
39. Glass, K., Veesenmeyer, J., Elimerman, P., Preston, D. and McDonnell, L. (2005). Control of *Listeria monocytogenes* in processed meat and poultry by combinations of antimicrobials. *Food Res. Ins.* 1.

40. Gonçalves, A.C., Almeida, R.C.C., Alves, M.A.O, Almeida, P.F. (2005). Quantitative investigation on the effects of chemical treatments in reducing *Listeria monocytogenes* populations on chicken breasts meat. Food Cont. 16, 617-622.
41. Güneş, E.: Bakteriosinler ve Genel zellikleri. Tarım İl Müdürlüğü. Ankara. 2000.
42. Güneş, E., ıbık, R.: Deneysel olarak kontamine edilmiş İnegöl köftelerde antimikrobiyel bir protein olan nisin'in *L.monocytogenes* zerine inhibe edici etkisi. FEMS Symposium on The Versality of *Listeria* spp. October 10-11, İzmir. 2002.
43. Gürbüz, .: Mezbaha Bilgisi ve Pratik Et Muayenesi. Selçuk Üniversitesi Basımevi. Konya. s.2. 2009.
44. Güzel, A.., zcan, N., Kasap, H. (2000). Bakteriyofaj T4 Lizozim geninin (gen e) PCR amplifikasyonu ile *E.coli*' de klonlanması ve ekspresyonu. Turk J. Vet. Anim. Sci. 26. 133-138,
45. Halkman, K.A.: Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Merck. Ankara. 2005.
46. Hampikyan, H.: Fermente sucuklarda nisin kullanımının *L.monocytogenes* zerine etkileri. İ.. Sağ. Bil. Enst. Doktora Tezi, İstanbül, 2006.
47. Hampikyan, H., olak, H. (2007). Nisin ve gıdalardaki antimikrobiyel etkisi. TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni: 6 (2).
48. Hicks, S.J., Lunt, B.N. . (1991). The survival of *L. monocytogenes* in cottage cheese. J. Apl. Bacteriology. 70, 308-314.
49. Hitchins, A.D., *L.monocytogenes*. İn: Tomlinson, L.A. (Ed.), Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual. (8th ed.). Gaithersburg/USA: AOAC International; 10.01-10.13,1995.
50. Huffman, R.D. (2002). Current and Future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. Meat Sci. 62:285-294.
51. Hugas, M., Tsigarida E. (2008). Prosve cons of carcass decontamination: the role of the european food safety authority. Meat Sci., 78, 43-52.
52. Hughey V.L., Wilger P.A. and Johnson E.A. (1989). Antibacterial activity of hen egg white lysozyme against *L.monocytogenes* scott a in foods. App. Env. Micro. Mar. p. 631-638.

53. İnal T., Besin Hijyeni. Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü. Final Ofset. İstanbul. 1992.
54. Inoue, S., Nakama, A., Arai, Y., Kokubo, Y., Maruyama, T., Saito, A., Yoshida, T., Terao, M., Yamamoto, S., Kumagai, S., Prevalence and contamination levels of *L. monocytogenes* in retail foods in Japan. Int. J. Food Micro., 59, 73-77, 2000.
55. James, C., Göksoy, E.O. and James, S.J., Past, present and future methods of meat decontamination. 1997.
56. Johnson, J.L., Doyle, M.P., Cassens, R.G. (1990). *L. monocytogenes* and other *Listeria* spp. in meat and meat products. J. Food Pro. 53(1), 81-9.
57. Jones, D., Foodborne Listeriosis. In: W.M. Waites, J.P. Arbuthnott, E. Arnold (ed), Foodborne Illness, Great Britain; 69-75, 1991.
58. Kışla, D., Ünlütürk, A. (2003). Nisinin antimikrobiyel etkisi, taze ve işlenmiş balıklarda kullanımı, J. Fish.& Aqua. Sci. 20(3-4):534-550.
59. Kurt, Ş., Zorba, Ö. (2005). Bakteriyosinler ve gıdalarda kullanım olanakları. Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg. 16 (1). 77-83.
60. Koutsoumanis, K.P., Ashton, L.V., Geomaras, I., Belk, K.E., Scanga, J.A., Kendall, P.A., Smith, G.C., Sofos, J.N. (2004). Effects of single or sequential hot water and lactic acid decontamination treatments on the survival and growth of *Listeria monocytogenes* and spoilage microflora during aerobic storage of fresh beef at 4, 10 and 25 degrees C, J. Food Prot. 67 (12)2703-2711.
61. Lecompte, J.Y., Kondjoyan, A., Sarter, S., Portanguen, S. and Collignan, A. (2008). Effects of steam and laktik acid treatments on inactivation of *Listeria innocua* surface-inoculated on chicken skins. Int. J. Food Mic. 127, 155-161.
62. Luke, F., Laborde, P.H.D., Control of *Listeria monocytogenes* in mushroom growing and packing environments. 2010.
63. Lückl, E., Jager, M., Antimicrobial Food Additives: Nisin. Springer- Verlag. 1995.
64. Ma, L., Zhang, G. and Doyle, M.P., Development of a DNA microarray chip for identification of *listeria* species, partial serotyping and assessment of the virulence potential of *Listeria monocytogenes* isolates. 2003.

65. Mangalassary, S., Han, I., Rieck, J., Acton, J., Dawson, P. (2008). Effect of combining nisin and/or lysozyme with in-package pasteurization for control of *L. monocytogenes* in ready-to-eat turkey bologna during refrigerated storage, *Food Mic.*, 25, 866-870.
66. Marth, E.H., Disease characteristics of *L. monocytogenes*. *Food Thec.*, 165-168,1998.
67. Mascola, L., Lieb, L., Chiu, J., Fanin, S.L., Linnan, M.J. (1988). Listeriosis: an uncommon opportunistic infection in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *The American J. Med.*, 84, 162-164.
68. McLauchlin, J. (1990). Distribution of serovars of *L. monocytogenes* isolated from different categories at patients with Listeriosis. *Eur. J. Clin. Micro. Inf. Dis.*, 9, 210-212.
69. Mena, C., Almeida, G., Carneiro, L., Teixeira, P., Hogg, T., Gibbs, P. A. (2004). Incidence of *L. monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal. *Food Micro.*, 21, 213-216.
70. Midgley, J. and Alison, S. (2006). Review of new and emerging technologies for red meat. *Food Sci., Australia Pages:1-73*.
71. Min, J.S., Lee, S.O., Jang, A., Jo, C., Lee, M., Irradiation and organic acid treatment for microbial control and the production of biogenic amines in beef and pork, *Food Chem.*, 104, 791-799, 2007.
72. Müller, H.E. (1988). Listeriosis in animals. (*Turkish J. of Infection*). 2(4): 505-519.
73. Nakimbugwe, D., Masschalck, B., Anim, G., Michiels, C.W. (2006). Inactivation of gram-negative bacteria in milk and banana juice by hen egg white and lambda lysozyme under high hydrostatic pressure, *Int. J. Food Mic.*, 112, 19-25.
74. Nattress, F.M., Yost, C.K., Baker, L.P. (2001). Evaluation of the ability of lysozyme and nisin to control meat spoilage bacteria, *Int. J. Food Mic.*, 70, 111-119.
75. Nattress, M. F., Baker, L.P. (2003). Effects of treatment with lysozyme and nisin on the microflora and sensory properties of commercial pork, *Int. J. Food Micro.* 85, 259-267.

76. Navratilova, P., Sclegelova, J., Sustackova, A., Napravnikova, E., Lukasova, J., Klimova, E. (2004). Prevalance of *L. monocytogenes* in milk, meat and foodstuffs of animal origin and the phenotype of antibiotic resistance of isolated strains. *Veterinary, Med. Czech.*, 49(7), 243-252.
77. Nicolas, J.A., Espaze, E.P., Catimel, B., Vidaud, N., Rocourt, J., Courtieu, A.L.(1989). Isolation of *Listeria* from French meat products. *Zbl. Bakt.*, 272, 242-247.
78. Ova, G., Koruyucular. İçinde Altug, T. (Ed.), *Gıda Katkı Maddeleri*. İzmir: Meta Basım; 107-142, 2001.
79. Özdemir H., Yıldırım Y., Küplülü Ö., Koluman A., Göncüoğlu M., İnat G. (2006). Effects of lactic acid and hot water treatments on *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* on beef. *Food Cont.*, 17:299-303.
80. Parente, E., Riciardi, A., Production, recovery and purification of bacteriocins from lactic acid bacteria. *Appl. Micro. Biotech.*, 52, 628-638, 1999.
81. Pipek, P., Fila, P., Jeleni-Kova, J., Brychta, J. and Mıyahara, M. (2004). Technological aspects of acid decontamination of carcasses, *Chem. Listy.*, 98,865-869.
82. Pipek, P., Houska, M., Jelenikova, J., Kyhos, K., Hoke, K., Sikulova, M. (2005). Microbial decontamination of beef carcasses by combination of steaming and lactic acid spray, *J. Food Eng.*, 67, 309-315.
83. Pipek, P., Sikulova, M., Jelenikova, J., Izumimoto, M. (2005). Colour changes after carcasses decontamination by steam and lactic acid, *Meat Sci.*, 69, 673-680.
84. Rio, D.E., Caso, B.G., Prieto, M., Alonso-Calleja, C., Capita, R. (2008). Effect of poultry decontaminants concentration on growth kinetics for pathogenic and spoilage bacteria, *Food Mic.*, 25, 888-894.
85. Rose, S.E., K.E. Belk, J.N. Sofos, J.A. Scanga, J.D. Tatum, K.L. and G.C. Smith, An evaluation of Lactic Acid treatment of fresh beef trimmings on microbiological, *Chem. and Sens. Pro.*, 2001.
86. Ryser, E.T., Donnelly, C.W. *Listeria*. In: F.P. Downes, K.A. Ito (Ed.), *Microbiological Examination of Foods* (4th ed.). Washington: Sheridan Boks Inc.; 343-356, 2001.

87. Sağun, E., İşleyici, Ö. (1996). Listeriosis'de et ve et ürünlerinin rolü ve alınabilecek önlemler. Et ve Ürünleri Sempozyumu'96, Bildiri Kitabı. İstanbul: İ.Ü.Vet Fak. Yay.; 81-90.
88. Sağun, E., Sancak, Y.C., İşleyici, Ö., Ekici, K. (2001). Van ve çevresi süt ve otlu peynirlerde *Listeria* türlerinin varlığı ve yaygınlığı üzerine bir araştırma. Turk J. Vet. Ani. Sci., 25, 15-19.
89. Sancak, Y.C., İşleyici, Ö., Elibol, C., Ekici, K. , Van'da tüketime sunulan kremalı pastalarda *Listeria* türlerinin varlığının belirlenmesi. İçinde: N. Akbulut (Ed.), Süt Endüstrisinde Yeni Egilimler Sempozyumu, Bildiriler Kitabı. İzmir: Tibyan Yayıncılık-Matbaacılık; 163-166, 2003.
90. Seeliger, H. P. R. (1998). "Listeriosis-History and Actual Developments", Infection 16, Suppl. 2, 80-84
91. Sharif, A., Tunail, N. Detection of *L. monocytogenes* in foods of animal origin.Tr. J. Vet. Ani. Sci., 19, 329-334, 1995.
92. Sırıken, B., Pamuk, S., Afyon bölgesinde tüketime sunulan kıymalarda *E.coliO157:H7* ve *L.monocytogenes* insidensinin belirlenmesi. I. Ulusal Veteriner Gıda Hijyenistleri Kongresi, Bildiri Kitabı. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi; 101-110, 2004.
93. Sırıken, B., Pamuk, S., Özakın, C., Gedikoğlu, S., Afyon bölgesinde üretilen sucuklarda *Salmonella* spp., *Listeria* spp. ve *E.coli O157:H7* düzeylerinin belirlenmesi. I. Ulusal Veteriner Gıda Hijyenistleri Kongresi, Bildiri Kitabı. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi; 147-156, 2004.
94. Sofos, J.N., Smith, G.C. (2000). Nonacid meat decontamination technologies: model studies and commercial applications, Int. J. Food Micro., 44:171-188.
95. Stopforth, J.D., Samelis, J., Sofos, J.N., Kendall, P.A., Smith, G.C. (2003). Influence of organic acid concentration on survival of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* o157:h7 in beef carcass wash water and on model equipment surfaces, Food Mic., 20, 651-660.

96. Swaminathan B., *L. monocytogenes*. In: M.P. Doyle, L.R. Beuchat, T.J. Montville (Ed.), Food Micro. (2nd Ed.). Washington:ASM Pres; 383-409, 2001.
97. Şireli, U.T., Göncüoğlu, M., Pehlivanlar, S. (2008). Growth of *Listeria monocytogenes* in çiğ köfte (raw meat ball), A.Ü., Vet. Fak. Derg., 55, 83-87.
98. Timoney, J.F., The Genus *Listeria*, In: Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals, (8th Ed.), USA: Cornell Univ. Pres; 241-245, 1992.
99. Työppönen, S., Markkula, A., Petaja, E., Suihko, M.L., Mattila-Sandholm, T. (2003). Survival of *L. monocytogenes* in North European type dry sausages fermented by bioprotective meat starter cultures. Food Cont., 14, 181-185.
100. Uğur, M., Nazlı, B., Bostan, K., Gıda Hijyeni, İstanbul, Teknik yayınları, 1999.
101. USDA/FSIS. Notice of policy change: Achieving the zero tolerance performance standard for beef carcasses knife trimming and vacuuming with hot water or steam; use of acceptable carcass interventions for reducing carcass contamination without prior agency approval. U.S.D.A., Food Safety and Ins. Ser., Federal Register, 61:15024-15027.1996.
102. Wessels, S., Jelle, B., Nes, I.F. (1998). Bacteriocins of lactic acid bacteria: an over looked benefit for food. Danish Toxicology Center, Denmark.
103. Yıldız, E., *Listeria monocytogenes* inoküle edilmiş ve buzdolabı sıcaklığında saklanan etlere gıda kalitelendirici olarak organik asitlerin etkisi, G.Ü. Fen Bil. Enst., Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2005.

9. ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Arpaçay'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Arpaçay'da tamamladım. Lise öğrenimimi Kars Anadolu Lisesi'nde tamamladıktan sonra 2003 yılında Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi' ne birincilikle yerleştirildim ve 2008 yılında mezun oldum. 2008 yılında Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladım. 2009 yılında Ardahan Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi bölümüne Öğretim Görevlisi olarak atandım ve halen aynı birimde görev yapmaktayım. Evli ve bir çocuk annesiyim.