

KARS İLİNDE TÜKETİME SUNULAN KIYMALARDA BAZI PATOJEN MİKROORGANİZMALARIN ARAŞTIRILMASI VE KIYMALARIN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİNİN BELİRLENMESİ*

The Investigation of Some Pathogenic Microorganisms and Determination of the Microbiologic Quality of Ground Beef Sold in Kars

Abamüslüm GÜVEN** Murat GÜLMEZ*** Ufuk KAMBER**

ÖZET

Bu araştırma, Kars'ta tüketime sunulan kıymalarda halk sağlığı ve kalitesi açısından önem taşıyan bazı mikroorganizmaların varlığını saptamak, ülkemizde ve diğer ülkelerdeki limitlerle kıyaslayarak, mikrobiyolojik kalitelerini belirlemek amacıyla yapıldı. Kasaplardan alınan 80 adet örnek genel aerob canlı, psikrofilik, koliform, E. coli, stafillokok, koagülaz pozitif S. aureus, sülfiti indirgeyen anaeroblar, C. perfringens, enterobakteri, enterokok mikroorganizmalarının sayıları ve salmonella ile listeria türlerinin varlıkları yönünden incelendi.

Örneklerin içerdiği mikroorganizma sayıları geniş sınırlar içerisinde bir dağılım gösterdi. Genel aerob canlı, E. coli, S. aureus, C. perfringens ve salmonella bakımından örneklerin sırasıyla % 27.5, % 27.5, % 46.25, % 27.5 ve % 1.25' ülkemizdeki kıyma standartlarında belirtilen maksimum limitlerin üzerinde mikroorganizma içermektedir. Örneklerin % 60'nın E. coli, % 53.75'inin S. aureus, % 62.5'inin C. perfringens, % 98.75'inin salmonella ve % 91.25'inin L. monocytogenes içermediği tespit edildi. Bulgular yapılan ilgili bazı araştırmalarla, ayrıca ülkemizde, ABD, Kanada ve İtalya'da uygulanan standartlarla karşılaştırılarak tartışıldı. Kars'ta üretilen kıymaların içerdiği mikroorganizma sayısının gerek ülkemizde ve gerekse diğer ülkelerdeki ilgili bazı araştırmalarda belirtilen mikroorganizma sayılarından daha düşük olmasına rağmen, halk sağlığı bakımından yeterince güvenceye sahip olmadığı kanısına varıldı.

Anahtar Sözcükler : Kıyma, Mikrobiyolojik Kalite.

SUMMARY

This study was undertaken to determine the microbiologic quality of ground beef sold in Kars and to investigate some microorganisms important for public health by comparing with maximum limits in Turkey and in some other countries. Eighty samples collected from butchers were tested for total viable count, counts of coliforms, Escherichia coli, staphylococci, Coagulase positive S. aureus, Sulphite reducing anaerobes, Clostridium perfringens, enterobacteriaceae, enterococci and for presence of salmonella and listeria microorganisms.

The numbers of microorganisms existed in samples varied in a wide scale. A 27.5%, 27.50%, 46.25%, 27.50% and 1.25% percent of total samples was consisted more microorganisms than presented in Turkish Standards with respect to total viable microorganisms, E. coli, S. aureus, C. perfringens and salmonella respectively. It has also been understood that 60%, 53.75%, 62.5%, 98.75% and 91.25% of total samples were free of E. coli, S. aureus, C. perfringens, salmonella and L. monocytogenes, respectively.

Findings were discussed in comparison with similar investigations and standards in Turkey, U.S.A., Canada and Italy. According to the results of this survey it has been claimed that microbial quality of ground beef sold in Kars was better than that of demonstrated in some recent investigations carried out both in Turkey and in some other countries. As a result, it was concluded that ground beef sold in Kars didn't safe enough for public health.

Key Words : Ground Beef, Microbiologic Quality.

GİRİŞ

Kıyma haline getirilmiş etler, işlenmemiş etlere göre bakteriyel bozulmaya daha duyarlıdır. Kıymanın bakteriyel kalitesi işlenmemiş etlerin bakteriyel kalitesine, üretim sırasında alınan hijyenik önlemlere, paketlenme tipine ve saklama koşullarına göre değişir. Kıyılmış etlerde hücre suyunun dışarı çıkması, etin yüzeyindeki mikroorganizmaların ürünün her tarafına dağılması, kıymanın dayanıklılık süresinin kısa olmasına ve tüketici sağlığı açısından tehlike arzmesine neden olabilir (1-5).

İyi dinlendirilmiş sağlıklı hayvanlardan elde edilen etlerin iç kısımlarında genellikle mikroorganizma bulunmadığı kabul edilmektedir (6,7). Ancak etlerin kıyma haline getirilmesi sırasında alınan hijyenik önlemlere göre az ya da çok kontaminasyon şekillenmektedir.

Ülkemizde ve dünyada çok miktarda tüketilen ve önemli bir besin kaynağı olan kıymanın mikrobiyolojik kalite standartlarını belirlemek amacıyla çok sayıda çalışma

* Bu çalışma KAÜ Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

** Yrd.Doç.Dr., KAÜ Vet. Fak. Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kars-TÜRKİYE

*** Arş.Gör., KAÜ Vet. Fak. Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Kars-TÜRKİYE

yapılmıştır. Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Kanada, Federal Almanya ve İtalya gibi ülkelerde yapılan çalışmalar sonucunda kıymaların mikrobiyal kalite ölçüsü olarak, total aerob bakteri, koliform, E. coli, stafilocok, S. aureus ve salmonella'lar için önerilen maksimum sayısal değerler sırasıyla 1.0×10^7 kob/gr., 1.0×10^3 kob/gr., 1.0×10^2 kob/gr., 5.0×10^2 kob/gr., 1.0×10^2 kob/gr. ve 0/25 gr. dir (4,5,8,9). Maksimum limitlerin verildiği bu değerler, ülkeden ülkeye hatta ABD'de eyaletler arasında farklılık göstermektedir. Türk Standartları Enstitüsü (TSE), tarafından taze paketlenmiş kıymalar için önerilen maksimum sayısal değerler ise genel aerob canlı, E. coli, S. aureus, C. perfringens ve salmonellalar için sırasıyla 5.0×10^6 kob/gr., 5.0×10^2 kob/gr., 1.0×10^2 kob/gr., 1.0×10^2 kob/gr. ve 0/25 gr.dir (10).

Çeşitli türde mikroorganizmaların üreyip gelişmeleri için elverişli bir ortama sahip olan kıyma, kolaylıkla bozulup kokuşmasının yanısıra halk sağlığı içinde büyük sorunlar oluşturur (4,7). Bu yüzden mikrobiyolojik kalitesini belirlemeye yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır.

Westhoft ve ark. (5), perakende satış yerlerinden temin edilen kıymaların et işleme yerlerinden alınanlara göre daha düşük kalitede olduğunu, incelenen örneklerde genel aerob canlı sayısının ortalama 2.0×10^6 kob/gr., koliform sayısının da 2.0×10^2 kob/gr. bulunduğunu belirtmişlerdir.

İtalya'da yapılan bir çalışmada (9), incelenen kıymalarda genel aerob canlı sayısının ortalama 10^3 kob/gr. dan fazla olduğu ve fekal streptokok, koliform, fekal koli S. aureus sayılarının ortalama olarak sırasıyla 3.7×10^4 kob/gr., 7.0×10^5 kob/gr., 5.2×10^2 kob/gr. ve 1.0×10^2 kob/gr düzeyinde bulunduğu belirtilmiş, ayrıca örneklerin % 33.3'ünde salmonella tespit edilmiştir. 52 örneğin incelendiği bir diğer çalışmada (11), örneklerin yaklaşık % 50'sinde total mikroorganizma sayısı 10^6 kob/gr.'dan fazla bulunmuş, %44.2'sinde fekal streptokok % 11.5'inde E. coli, % 3.8'inde salmonella, % 7.7'sinde C. perfringens, % 5.7 sinde maya, % 13.5'nde küf ve bütün örneklerde S. aureus tespit edilmiştir. Ayrıca araştırmacılar örneklerin sadece % 7'sinin iyi kalitede olduğunu bildirmişlerdir.

Poeta ve ark. (12), kıymaların % 6.2' sinde salmonella, %8.75'de de Listeria monocytogenes'i izole etmişlerdir.

El-Leithy ve ark. (13), taze kıyma örneklerinde psikrotrof sayısının mezofillerden daha fazla olduğunu, örneklerin % 11'inde salmonella, %60'ında S. aureus ve tamamına yakın bir kısmında da klostridiumların bulunduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca psikrotrofların, enterobakterilerin, enterokokların ve klostridiumların örneklerdeki ortalama sayılarının sırasıyla 1.1×10^7 kob/gr., 2.5×10^2 kob/gr., 2.2×10^4 kob/gr. ve 2.0×10^3 kob/gr. olarak bulunduğunu belirtmişlerdir.

Bir diğer araştırmada (14), incelenen kıyma örneklerindeki ortalama genel aerob canlı sayısının 10^3 kob/gr. düzeyinde olduğu, enterobakteri ve E. coli sayısının ise sırasıyla 10^7 kob/gr. ve 10^5 kob/gr. olduğu bildirilmiştir. Hırn ve ark. (15), inceledikleri kıymalarda genel aerob sayısının 4.0×10^6 kob/gr., koliform, enterobakteri ve fekal koliform sayılarının ise sırasıyla 1.6×10^3 kob/gr., 5.7×10^3 kob/gr. ve 3.2×10^1 kob/gr. olarak tespit etmişlerdir.

Chanbers ve ark. (16), dana kıymalarının % 90'ında 1.5×10^7 kob/gr.'dan az genel aerob canlı ve 2.0×10^3 kob/gr.'dan az koliform bulunduğunu bildirmiştir. Ladiges ve ark. (17) ise, inceledikleri örneklerin % 47.4'ünde C. perfringens saptamışlardır.

Yukarıda belirtilen genel ve özel mikroorganizmalara yönelik çalışmaların dışında son yıllarda bazı ülkelerde gıdalardan kaynaklanan ve ölümlü sonuçlanan çok sayıda enfeksiyon vakasının ortaya çıkmasının sorumlusu tutulan L. monocytogenes dünya gıda endüstrisini yakından ilgilendiren önemli bir sorun haline gelmiş ve bu konuda yoğun çalışmalar başlatılmıştır.

Leistner ve ark. (18), inceledikleri kıymaların % 63'ünde; Schönberg ve ark. (19), % 38'inde; Buncic (20), % 69'unda; Breuer ve Prandl (21), ise % 37'sinde L.monocytogenes'i tespit etmişlerdir.

Ülkemizde de konuyla ilgili çeşitli çalışmalar (22-28) yapılmıştır. Sarıgöl (22) incelediği kıymaların % 5'inde salmonella, %5'inde de C. perfringens saptamıştır.

Tekinşen ve ark. (23), inceledikleri örneklerin % 35'inde C. perfringens bulunduğunu bildirmektedirler. Araştırmacılar örneklerin hiç birinde salmonellaya rastlayamadıklarını genel aerob canlı sayısının ($25^\circ\text{C}/72$ saat) örneklerin % 95'inde 10^7 kob/gr. dan fazla, örneklerin tamamında koliformların

10⁴ kob/gr. dan ve stafilokokların 10³ kob/gr dan fazla olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca Ankara'da satışa sunulan kıymaların bakteriyolojik kalitelerinin saprofit mikroorganizmalar yönünden oldukça kötü olduğunu ve buna dayanarak hazırlanacak standartların ekonomik kayıpları önleyeceğini ancak halk sağlığını yeterince koruyamacağını bildirmişlerdir.

Sancak ve ark. (24), kıyma örneklerinin % 74.'nde genel aerob canlı sayısının 10⁷ kob/gr dan, % 82'nde stafilokok sayısının, % 94'nde ise koliform sayısının 10³ kob/gr. dan fazla olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, örneklerin % 64'nde koagülaz pozitif stafilokok, % 84' ünde sülfid indirgeyen anaerob, % 42'sinde C. perfringens'in bulunmasına karşın salmonellaların bulunmadığını bildirmektedirler.

Sumner (25), perakende satış mağazalarında siparişe göre hazırlanan sığır eti kıymalarının sadece % 13'nde genel aerob canlı sayısının 10⁷ kob/gr.'ı aştığını, koliform ve stafilokok sayılarının Kanada ve ABD'ne benzer bulunduğunu, ancak süpermarketlerden alınan kıymaların bakteriyel kalitesinin oldukça düşük olduğunu belirtmiştir.

Bir diğer araştırmada (26), örneklerin % 91.4'nde 10⁷ kob/gr. dan fazla genel aerob canlı, tamamında 10⁵ kob/gr. dan fazla koliform, %78.57'nde sülfid indirgeyen anaerob bulunmuş, hiç bir örnekte salmonellaya rastlanmamıştır.

Çiftçioğlu (27), incelediği kıymaların %11 'nde, Güven (28), ise %13'nde L. monocytogenes tespit etmiştir.

Bu araştırma, Kars'ta tüketime sunulan kıymalarda halk sağlığı bakımından önemli olan bazı patojenleri saptamak, kıymaların mikrobiyolojik kalitesini belirlemek ve ülke ile diğer bazı ülkelerdeki standartlarla karşılaştırmak amacıyla ele alınmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

a-Materyalin Temini: Bu çalışmada Kars ilindeki muhtelif et satış yerlerinden temin edilen 80 adet hazır kıyma örneği kullanıldı. Örnekler aseptik koşullarda steril bir kavanoza alınarak laboratuvara getirildi ve en kısa sürede gerekli işlemlere başlandı.

b-Materyalin Deneye Hazırlanması: Laboratuvara getirilen 150-200 gr'lık örnekler

steril bir spatula ile iyice karıştırıldı. Her örnekten 25'er gr'lık 4 adet ve 10 gr'lık bir adet alınarak özel sulandırıcılarla (Tampolanmış peptonlu su, listeria zenginleştirme broth, %0.1'lik peptonlu su) sulandırıldı ve homojenize edildi.

Metot

Genel ve Özel Mikroorganizma Sayılarının Saptanması:

Genel ve psikrofilik mikroorganizma sayılarının saptanması: Bu mikroorganizmaların sayımı için Plate Count Agar (PCA-Oxoid) besiyerine damla plak yöntemi ile ekimler yapıldı. Plaklar genel aerob canlı sayımı için 37°C'de 48 saat, 25°C'de 72 saat ve psikrofilikler için 5±2°C'de 10 gün inkübe edildikten sonra değerlendirildi (29,30).

Koliform Grubu Mikroorganizmaların ve E. coli Sayılarının Saptanması: Bu mikroorganizmaların sayımı için Violet Red Bile Agar (VRBA-Oxoid) kullanıldı. Damla plak yöntemi ile ekilen plaklar 37 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra koyu kırmızı koloniler koliform grubu olarak değerlendirildi. Fekal kaynaklı E. coli'nin sayımı için koliform sayımı yapılan plaklardan rastgele seçilen tipik 5 koloni EC buyyona inoküle edildi. Tüpler 44±0.2 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra üreme ve gaz oluşumu yönünden değerlendirildi. E. coli sayısı, pozitif tüp sayısının koliform mikroorganizmaların sayıları ile çarpımının tüp sayısına bölünmesiyle elde edildi (29-32).

Stafilokok ve Koagülaz Pozitif Stafilokokların Sayımı: Stafilokokların sayımı için Baird-Parker Agar (BPA-Oxoid) kullanıldı ve uygun sulandırmalardan damla plak yöntemiyle ekimler yapıldı. 37 °C'de 30-48 saat inkübasyondan sonra etrafı dar beyaz haleli ve daha sonra opak bölge ile çevrilmiş parlak siyah, 1-2 mm çaplı tipik koloniler sayıldı ve bu kolonilerden 5 tipik koloni alınarak koagülaz testine tabi tutuldu (29-32).

Koagülaz Test: İnsan plazmasından (1/10) temiz bir tüpe 1 ml kondu ve üzerine 0.1 ml 18-24 saatlik stafilokok kültüründen ilave edildi. Tüpler 37 °C'de 1-3-6 saat tutularak plazmanın koagülasyonu yönünden incelendi. Negatif tüpler 1 gece oda sıcaklığında bekletildikten sonra değerlendirildi. Koagülaz pozitif S. aureus sayısı pozitif tüp sayısının şüpheli stafilokok sayısı ile çarpımının 5'e bölünmesiyle elde edildi (32, 33).

Enterobakterilerin sayımı: Bu grup mikroorganizmaların sayımı için Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA-Oxoid) besiyeri kullanıldı. Uygun dilüsyonlardan damla plak yöntemiyle ekimler yapılarak plaklar anaerob olarak 37 °C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Inkübasyondan sonra petrillerdeki kırmızı-pembe koloniler sayılarak değerlendirildi (29,30,32).

Enterokokların sayımı: Enterokokların sayımı için Slanetz ve Bartley Agar (SBA-Oxoid) kullanıldı. Besiyerine uygun dilüsyonlardan damla plak yöntemiyle ekimler yapılarak 37 °C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda 1-2 mm çapındaki kırmızı koloniler sayılarak değerlendirildi (29,30).

Maya-Küf sayımı: Rose-Bengal Chloramphenicol Agar ve chloramphenicol selective supplement (Oxoid), kullanılarak uygun dilüsyonlardan damla plak yöntemi ile ekimler yapıldı. Plaklar 22±2 °C'de 5 gün inkübe edildikten sonra petriyelerdeki kolonilerin tamamı sayıldı (29,30).

Sülfite İndirgeyen Anaerobların sayımı: Sulphite Polymyxine Sulphadiazine Agar (SPS-Difco) kullanılarak "roll tüp" tekniği uygulandı. Her dilüsyon için 2 ayrı tüpe 1'er ml'lik ekimler yapıldı. Ekim yapıldıktan sonra katılaştıran besiyerlerinin üzeri 1'er ml SPS ile örtülerek anaerobiyozis sağlandı. 37 °C'de 24 saat inkübasyondan sonra siyah renkli koloniler değerlendirmeye alındı. C. perfringens sayımı için bu kolonilerden rastgele seçilen 5 koloni alınıp nitrat motiliti medium ve laktöz jelatin besiyerlerine ekildikten sonra 37 °C'de 24 saat inkübe edilerek değerlendirildi. C perfringens sayısı, hareketsiz ve nitratı indirgeyen koloni sayısının sülfite indirgeyen koloni sayısı ile çarpılarak sonucun 5'e bölünmesiyle elde edildi (32, 34,35).

Listeria İzolasyonu: Listeria türlerinin araştırılmasında Food and Drug Administration (FDA) tarafından bildirilen zenginleştirme, izolasyon ve identifikasyon prosedürleri izlendi. Zenginleştirme besiyerleri FDA tarafından önerilen formüle göre hazırlandı (36). İzolasyonda Curtis ve ark. (37) tarafından önerilen Listeria Selective Agar Base (LSA-Oxoid) ve Listeria Selective Supplement kullanıldı.

25 gr örnek 225 ml ana zenginleştirme (listeria enrichment broth) besiyerinde homojenize edildikten sonra 30 °C'de 24 saat inkübe edildi. Bu sürenin sonunda ana zenginleştirme besiyerinden alınan 0.1 ml homojenizat tüpte hazırlanan 10 ml alt zenginleştirme besiyerine aktarıldı. Alt zenginleştirme besiyerinde 30 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra %0.5 KOH solüsyonu kullanılarak örneklerin 10⁻⁵'e kadar diğer seyreltileri yapıldı. Hazırlanan seri dilüsyonlardan 0.1ml alınarak önceden hazırlanan LSA'ya ekim yapıldı. Ekimi yapılan plak-

ları 37 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra 1 mm çapında, hafif kronik, pürüzsüz merkezleri parlak gri siyah renkte, etrafında siyah hale görülen koloniler listeria şüpheli olarak değerlendirildi ve izolasyonları yapıldı. İzolasyonda her petriden şüpheli 5 koloni alınarak Tryptone Soya Broth+ %0.6 Yeast Extract (TSB+YE)'a geçildi ve 30 °C'de 24 saat inkübasyona alındı. İnkübasyondan sonra kültürler Henry ilüminasyon testi, Gram boyama, hareket muayenesi, katalaz testi, Semisolid İndol Motility Medium (SIM) 'da üreme ve oksidaz test gibi temel izolasyon testleri uygulandı (38-41).

Yapılan bu testler sonucunda listeria tür özelliği taşıyan suşlar araştırma materyalimizde bulunan listeria suşları olarak kabul edildi ve identifikasyona geçildi. İdentifikasyondan önce hemoliz testleri (Camp testi ve nokta hemoliz testi) daha sonra karbonhidrat testleri (Ksiloz, ramnoz, salisin, manitol), nitrat redüksiyon testi, metil-red (MR) vögez proskauer (VP), üre hidroliz testi gibi yardımcı testler uygulandı. Bu testler sonucunda listeria türleri isimlendirilerek identifiye edildi (32,33,36,38).

Salmonella İzolasyonu: Salmonellaların aranması için I.C.M.S.F. (28), Deutsches Institut für Norman-DIN-(42) ve Baumgart (43), tarafından önerilen metotlar kullanıldı. Bu amaçla laboratuvara getirilen her kıymadan 25'er gr.'lık 3'er adet örnek alındı. Üzerlerine 225'er ml tamponlanmış peptonlu su (TPS-Merck) ilave edilerek homojenize edildi 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra Rappaport Vasiliadis (rapVM-Oxoid) besiyerine 0.1'er ml, Tetrathionate Broth (TTB-Oxoid) ve Selenite Cystine Broth (ScB-Difco) besiyerlerine 1'er ml ekimler yapıldı. Rap VM besiyeri 30 °C'de 18-24 saat, TTB ve ScB besiyerleri de 43 °C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Sürenin sonunda her bir besiyerinden Hectoen Enteric Agar (HEA-Oxoid), Brilliant Green Agar (BGA-Oxoid), XLD agar besiyerlerine ekimler yapılarak plaklar 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı ve şüpheli kolonilerden tüpte yatık olarak hazırlanan Triple Sugar Iron Agar (TSIA-Oxoid) ve Lysin Iron Agar (LIA-Oxoid) besiyerlerine ekildi. Tüpler 35 °C'de 24-48 saat inkübe edilerek tahmini pozitif suşlara Gram boyama, KCN, jelatin hidroliz testi ve karbonhidrat

fermantasyon testleri uygulandı (32,44,45). Bu testler sonucunda salmonella tür özelliği gösteren suşlar Etlik Veteriner Bakterioloji Enstitüsü'ne (Ankara) gönderilerek serolojik testler yapıldı ve sonuçlar değerlendirildi.

BULGULAR

Tablo 1'de kıyma örneklerinin içerdiği genel ve özel mikroorganizma sayıları görülmektedir. Verilerden de anlaşılacağı

üzere 37 °C'de 48 saatlik inkübasyondan sonra genel aerob canlı sayısı ortalama olarak 4.4×10^6 /gr, 25 °C de 72 saatlik inkübasyondan sonra ise 1.7×10^7 kob/gr olarak saptanmıştır. Ayrıca örneklerde ortalama olarak 1.2×10^7 kob/gr psikrofil mikroorganizmanın bulunduğu görülmektedir. Koliform, E. coli Koagülaz pozitif S. aureus ve C. perfringens'in ortalamaları da sırasıyla 1.3×10^5 kob/gr, 3.6×10^4 kob/gr, 1.8×10^4 kob/gr, 4.2×10^3 kob/gr olarak tespit edildi.

Tablo 1. Kıyma örneklerinin içerdiği genel ve özel mikroorganizma sayıları Kob/gr.

Mikroorganizma	X	Sx	En az	En çok
Genel,37°C/48 saat	4.4×10^6	1.8×10^6	2.0×10^3	1.4×10^8
25°C/48 saat	1.7×10^7	5.8×10^6	3.2×10^4	3.6×10^8
Psychrophilic	1.2×10^7	2.9×10^6	2.4×10^3	1.1×10^8
Coliform (Total)	1.3×10^5	4.8×10^4	0	2.8×10^6
E. Coli	3.6×10^4	2.0×10^4	0	1.3×10^6
Staph.(total)	7.3×10^4	3.0×10^4	0	2.0×10^6
S. aureus	1.8×10^4	7.8×10^3	0	4.8×10^5
Sülfid indirgeyen anaeroblar (total)	5.9×10^3	4.2×10^3	0	3.2×10^5
C. perfringens	4.2×10^3	2.8×10^3	0	1.9×10^5
Enterobacteriaceae	1.7×10^5	6.8×10^4	0	2.0×10^6
Enterococci	4.7×10^4	1.7×10^4	0	1.2×10^6
Maya-Küf	2.5×10^5	1.6×10^5	0	1.3×10^7

Tablo 2'de verilen genel ve psikrofilik mikroorganizmaların kıymalardaki sıklık dağılımı incelendiğinde 37 °C'deki inkübasyonlarda örneklerin % 81.25'nin, 25 °C'deki inkübasyonlarda ise % 71.25'inin 1.0×10^5 - 1.0×10^7 kob/gr mikroorganizma içerdiği görülmektedir. 37 °C'deki inkübasyonlarda

sadece 6 örnekte (% 7.5), 25 °C'deki inkübasyonlarda ise 20 örnekte (% 25.0) 1.0×10^7 kob/gr dan fazla mikroorganizma bulunmuştur. Yine psikrofilik mikroorganizmalar örneklerin % 58.75'inde 1.0×10^5 - 1.0×10^7 kob/gr, %21.25'inde de 1.0×10^7 kob/gr dan fazla bulunmuştur.

Tablo 2. Genel ve Psikrofilik mikroorganizma sayılarının kob/gr kıyma örneklerinde sıklık dağılımı.

Mikroorganizma	10^3 - 10^4		10^4 - 10^5		10^5 - 10^6		10^6 - 10^7		10^7 - 10^8		$>10^8$	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Genel 37°C/48 sa.	1	1.25	8	10.0	35	43.75	30	37.50	5	6.25	1	1.25
25°C/72 sa.	-	-	3	3.75	20	25.0	37	46.25	18	22.5	2	2.50
Psikrofilik	3	3.75	13	16.25	28	35.0	19	23.75	16	20.0	1	1.25

Tablo 3'deki veriler incelendiğinde örneklerin % 20'sinin koliform, % 60'nın E. coli, % 46.25'nin stafilokok, % 53.75'nin S. aureus, % 51.25'nin sülfid indirgeyen anaerob ve % 62.5'nin de C. perfringens içermediği görülmektedir. S. aureus, sülfid indirgeyen anaeroblar ve C. perfringens

hiç bir örnekte 1.0×10^6 kob/gr dan fazla tespit edilmemiştir. Örneklerin % 36.25'nde E. coli, % 45.0'inde S. aureus, % 27.5'inde C. perfringens 1.0×10^2 kob/gr dan, % 56.25'inde koliform, % 47.5'nde de stafilokoklar 1.0×10^3 kob/gr dan fazla bulunmuştur.

Tablo 3. Koliform, E. coli, Stafilokok, S. aureus, Sülfid indirgeyen anaeroblar ve C. perfringens kob/gr kıyma örneklerindeki sıklık dağılımı.

Mikroorganizma	0-10 ²		10 ² -10 ³		10 ³ -10 ⁴		10 ⁴ -10 ⁵		10 ⁵ -10 ⁶		>10 ⁶	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Coliform (total)	-	---	19	23.75	17	21.25	14	17.5	11	17.5	3	3.75
E. coli	3	3.75	12	15.0	10	12.5	3	3.75	3	3.75	1	1.25
Sph.(total)	-	---	5	6.25	12	15.0	15	18.75	8	10.0	3	3.75
S. aureus	-	---	13	16.25	16	20.0	3	3.75	5	6.25	-	---
Sülfid indir. anae. (total)	8	10.0	18	22.5	11	13.75	-	---	2	2.5	-	---
C. perfringens	8	10.0	13	16.25	7	8.75	-	---	2	2.5	-	---

Tablo 4'deki bulgulardan örneklerin % 5'inde enterobakterilerin, % 8.75'inde enterokokların ve % 1.25'inde de maya-küflerin bulunmadığı görülmektedir.

Ayrıca örneklerin % 67.5'inde enterobakteriler, % 73.75'inde enterokoklar, % 82.5'inde de maya-küflerin 1.0×10^3 - 1.0×10^5 kob/gr arasında olduğu görülmektedir

Tablo 4. Kıymaların içerdiği Enterobakter, Enterokok ve Maya-Küf mikroorganizma sayılarının kob/gr kıyma örneklerindeki sıklık dağılımı.

Mikroorganizma	0		10 ² -10 ³		10 ³ -10 ⁴		10 ⁴ -10 ⁵		10 ⁵ -10 ⁶		10 ⁶ -10 ⁷	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Enterobacter	4	5.0	9	11.25	34	42.5	20	25.0	10	12.5	3	3.75
Enterococci	7	8.75	4	5.0	41	51.25	18	22.5	9	11.25	1	1.25
Maya-Küf	1	1.25	1	1.25	22	27.5	44	55.0	11	13.75	1	1.25

Örneklerimizin % 8.75'nde L. monocytogenes, % 15'nde L. innocua, % 2.5'nde L. seeligeri ve L. ivanovii tespit edilirken sadece bir örnekte (%1.25) salmonella saptandı.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Besleyici değeri yüksek pahalı bir ürün olan kıyma her türlü ticari hileyi kolaylıkla gizleyebildiğinden sık sık eleştirilere hedef olmaktadır.

Bu araştırma ile Kars'ta satışa sunulan hazır kıymalarda halk sağlığı bakımın-

dan önemli olan patojenler ile kıymaların mikrobiyolojik kalitesinin ayrıntılı olarak ortaya konulması, sonucun ülkemiz ve diğer ülkelerdeki standartlarla karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Sağlıklı hayvanlardan elde edilen etlerin iç kısımlarında mikroorganizma bulunmamaktadır (6,7). Etlerin kıyma haline getirilmeleri ve satış yerlerindeki bekleme süresine göre az ya da çok kontaminasyon şekillenmektedir. Bu kontaminasyonların önemli bir kısmı da etlerin kıyılması sıra-

sında meydana gelmektedir. Nitekim Khalafalla ve ark. (46), kasap dükkanlarında hazırlanan kıymaların evde hazırlananlara oranla genel aerob canlı, enterobakteri ve stafilokok sayılarının sırasıyla 12.5, 20 ve 2.5 kat arttığını bildirmektedir.

Çeşitli ülkelerde, kıymaların kalite standartlarını belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda (4,5,8,9) sığır kıymalarında genel aerob canlı sayısının 1.0×10^7 kob/gr dan fazla bulunmasının arzu edilmediği belirtilmiş, ayrıca koliform, E. coli, stafilokok ve S. aureus için önerilen maksimum değerler sırasıyla 1.0×10^3 kob/gr, 1.0×10^2 kob/gr, 5.0×10^3 kob ve 1.0×10^2 kob/gr olarak verilmiştir. Yine bu araştırmalarda salmonellaların hiç bulunmaması önerilmiştir.

Bulgularımız ile önerilen değerler karşılaştırıldığında örneklerimizin % 25' nin standartların öngördüğünden daha fazla genel mikroorganizma içerdiği görülmektedir.

Örneklerin içerdiği mikroorganizma sayıları geniş sınırlar içinde bir dağılım göstermektedir. Nitekim genel aerob canlı (25°C ' de 72 saat) sayısı ortalama olarak 1.7×10^7 kob/gr bulunurken, örneklerin sadece % 25'inin 1.0×10^7 kob/gr dan fazla mikroorganizma içerdiği saptanmıştır. Bu durum kıymaların bazılarının hazırlanması ve satışı sırasında yeterince hijyenik önlemlerin alınmadığı izlenimini vermektedir.

Tablo 1'de görüldüğü üzere genel aerob canlı sayısı ortalama olarak 1.7×10^7 kob/gr düzeyinde saptanmıştır. Bu sonuç bir çok araştırmacının (9,13,23,24,26) bildirdiği sonuçlardan düşük, bazı araştırmacıların (5,15) sonuçlarından ise yüksektir. Ayrıca örneklerimizin tamamına yakın bir kısmında maya-küf bulunmuştur. Bu bulgu Depoure ve ark. (11) bulgularına uymamaktadır. Bu durum kıyma yapılan etlerin mikrobiyolojik kalitesi ile muhafaza sırasında koşulların farklı olduğunu göstermektedir.

Örneklerin % 60 koliform, % 36.25'i E. coli, % 48.75'i stafilokok, % 46.25'i koagülaz pozitif S. aureus sayısı ve % 1.25'i salmonella bakımından önerilen standartlardan daha fazla mikroorganizma içermektedir.

Genel mikroorganizma sayısı bakımından örneklerin % 27.5'i, E. coli, S. aureus, C. perfringens ve salmonella bakımından

ise sırasıyla % 27.5, %46.25, %27.5 ve %1.25'i TSE'nin (10), uymamaktadır.

Araştırmamızda 25°C 'deki inkübas-yonlarda genel aerob canlı sayısı 37°C ' lerdekinden daha fazla bulunmuştur. Bu bulgu et ve et ürünleri için $20-22^\circ\text{C}$ 'lik inkübasyon ısısının daha başarılı olacağını bildiren araştırmacıları (13,23) desteklemektedir.

Örneklerin % 37.5'nde C. perfringens tespit edilmiştir. Bu sonuç Tekinşen ve ark. (23), sonuçlarına uyum gösterirken bazı araştırmacıların (11,22) sonuçlarından daha yüksek diğer araştırmacıların (17,24) bildirdikleri sonuçlardan ise düşüktür. Ayrıca E. coli, koagülaz pozitif S. aureus, L. monocytogenes ve salmonella spp. sırasıyla örneklerin % 40, %46.25, %8.75 ve %1.25'nde saptanmıştır. Bu bulgular incelendiğinde örneklerimizin mikrobiyolojik kalitesinin ülkemizde daha önce yapılan çalışmalarda (22-28), bildirilenlerden daha iyi olduğu görülmektedir. Bu durum kıymanın üretimi sırasında alınan hijyenik önlemlere, satış yerlerinde bekleme süresine ve iklim farklılıklarına bağlanabilir.

Örneklerimizin % 8.75'nde L. monocytogenes tespit edilirken, % 15'inde L. innocua bulundu. Bu durum et ve et ürünlerinde L. innocua'nın çoğu kez L. monocytogenesden daha fazla bulunduğunu bildiren araştırmacıların (19,20, 27,28) bulgularıyla uyum göstermektedir.

İncelediğimiz örneklerde genel mikroorganizma, psikrofilik ve koliform fazla sayıda bulunmasına karşın S. aureus ve C. perfringens düşük sayıda, salmonella ve L. monocytogenes düşük oranda bulunmuştur. Bu durum S. aureus, C. perfringens, salmonella ve L. monocytogenesin kıymanın doğal mikroflorası ile etkili bir şekilde rekabet edemediğini bildiren araştırmacıların (3,23,47,48) bulgularıyla uyum göstermektedir. Salmonella ve listeria oranının düşük olması laktik asit oluşturan mikroorganizmaların örneklerdeki muhtemel mevcudiyetleriyle açıklanabilir. Nitekim Reddy ve ark. (48), salmonella gelişimini Gram negatif bakterilerin belirgin bir şekilde kısıtladığını, Buncic ve ark. (49), sucuklarda artan laktobasil sayısının L. monocytogenes sayısını azalttığını, Harris ve ark. (50), ise laktik asit bakterileri tarafından oluşturulan bazı bakteriosinlerin L. monocytogenesi inhibe etme kabiliyetinde olduğunu bildirmektedir.

dirler.

Sonuç olarak Kars'ta tüketime sunulan kıymaların mikrobiyolojik kalitesinin ülkemizde yapılan benzer çalışmalarda (22-28), bildirilenlerden iyi olmasına rağmen halk sağlığı bakımından yeterince güvenceye sahip olmadığı görülmektedir. Ortaya çıkan bu durum kıymanın hazırlanmasında bazı önlemlerin (etin hijyenik kurallara uygun olarak modern mezbahalarda kesilen sağlıklı hayvanlardan elde edilmesi kıymanın iyi kalitede taze etten hazırlanması ve bu sırada hijyenik önlemlerin eksiksiz uygulanması, muhafaza süresi ve ısısına dikkat edilmesi vs.) alınmasının çiğ köfte ve çiğ sucuk tüketme alışkanlığının olduğu ülkemizde bir zorunluluk arz etmektedir.

Teşekkür: Salmonella şüpheli suşların serolojik olarak doğrulanmasını sağlayan Etlik Veteriner Araştırma Enstitüsü yetkililerine teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Göktan, D.: Gıdaların mikrobiyel ekolojisi, Et Mikrobiyolojisi, 1. Mühendislik Fakültesi yay. No:12, Ege Üniv. Basımevi, İzmir, 1990.
2. Al-delaimy, K.S. and Stiles, M.E.: Microbial quality and shelf-life of raw ground beef. *Cand. J. Pub. Health.*, 66,313-321, 1975.
3. Goepfert, J. Mand Kim, H.U.: Behavior of selected foodborne pathogenens in raw ground beef. *J. Milk Food Technol.*, 38, 449-452, 1975.
4. Pivnic, H., Erdmann, I.E., Collins Thompson, D., Robert, G., Jhonston, M.A., Conley, D.R., Lochapelle, G., Purvis, U.I., Foster, R., and Milin, M.: Proposed microbiological standards for ground beef based on a Canadian survey. *J. Milk Food Technol.*, 39, 408-409, 1976.
5. Westhaff, D. and Feldstein, F.: Bacteriological analyses of ground beef. *J. Milk Food Technol.*, 39, 401-404, 1976.
6. Brown, H.M.: *Meat Microbiology*. Appl. Sci. Publ. Ltd. London, 1982.
7. Gracey, J.F.: *Meat Hygiene*, 8th. Ed., B. Tindall. London, 1986.
8. Leistner, L., Hechelmann, H. und Bem, Z.: Mikrobiologische rotine untersuchungen von fleischerzeugnissen im herstellerbetrieb. *Fleischschafft*, 58, 1279. .1281, 1978.
9. Patano, C. and Caserio, G.: Bacteriological and chemical studies on minced meat. *Industrie Alimentary*. 19(11):829-832, 1980.
10. Anonim: Türk Standartları Enstitüsü. Kıyma. TSE. 11566, Ankara. Mart-1995.
11. Depoure, G. and Poucke-L, Van: Evaluation of the microbiological quality of minced meat. *Food Policy Trends in Europe*. Nutrition Technology. Analysis and Saffety. P. 200, Food Policy Symposium, 1991.
12. Poeta, A., Possidente, R., Giaccone, V.: Microbial quality of fresh meat and meak products in butchers' shops. *Industrie Alimentary*. 32, 321, 1200-1205, 1993.
13. El-Leithy, M.A. and Rashet. M.F.: Bacteriological studies on ground meat and its products. *Archiv-Fuer Lebensmittelhygiene*. 40(3):58-61, 1989.
14. Teufel, P., Goets, G. and Grossklaw, D.: Effects of factory hygiene and raw material on the microbiological status of minced meat. *Fleischwirtschaft*. 62 (11):1404-1406, 1408, 1454, 1982.
15. Hirn, J., Hatakka, M. and Aho, M.: Bacteriological study of ground meat. *Suomen-Elaeinlaeakaerilehti*. 90, 13, 590-600-602, Abstr., 1984.
16. Chambers, J.V., Brechbill, D.O. and Hill, D.A.: A microbiological survey of ground beef in Ohio. *J. Milk Food Technol.*, 39, 530-535, 1976.
17. Ladiges, W.C., Foster, J.F. and Ganz, W.M.: Incidence and viability of *Clostridium perfringens* in ground beef. *J. Milk Food Technol.*, 37, 622-623, 1974.
18. Leistner, L., Schmidt, U. und Kaya, M.: Listerien bei fleisch und fleischerzeugnissen. *Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Flessehforung Kulmbach*. 28, 193-199, 1989.
19. Schönberg, A., Teufel, P. and Weise, E.: Serovars of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from food. *Acta Microbiol. Hung.*, 36(2-3): 149-153, 1989.
20. Buncic, S.: The incidence of *Listeria monocytogenes* in slaughtered animals in meat and meat products in Yugoslavia. *Int. J. Food Microbiol.*, 12, 173-180, 1991.
21. Breuer, V.J. and Prandl, O.: Nachweis von listerien und deren vorkommen in hackfleisch und Mettwürsten in osterrech. *Archiv fur lebensmittelhygiene*. 39(2):28-30, 1988.
22. Sarıgöl, C.: Elazığ'da tüketilen kıymalarda klostridium ve enterobacteriaceae grubu mikroorganizmaların varlığı üzerinde araştırmalar. *Fırat. Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 7 (1-2):179-186, 1982.

23. Tekinşen, O.C., Yurtyer, A., Mutluer, B.: Ankara'da satılan hazır kıymaların bakteriyolojik kalitesi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 27(1-2):45-63, 1980.
24. Sancak, Y.C., Boynukara, B., Aġaoġlu, S.: Van'da tüketime sunulan kıymaların mikrobiyolojik kalitesi. Y.Y. Ü. Vet. Fak. Derg., 4(1-2):73-86, 1993.
25. Sumner, J.L.: Microbiological evaluation of retail ground beef in İzmir, Turkey. J. Food Prot., 41, 104-106, 1978.
26. Akıllı, A.: Ankara'da süpermarketlerde satılan hazır kıymaların mikrobiyolojik ve kimyasal kaliteleri ile tek tırnaklı hayvan etleri yönünden incelenmesi üzerine araştırmalar. Etlik Vet. Mikrobiyol. Enst. Derg. 5(4-5):125-158, 1982-1983.
27. Çiftçioġlu, G.: İstanbul piyasasındaki kıyma, sucuk ve tavuk eti örneklerinde listeria türlerinin mevcudiyetinin araştırılması. İstanbul Üniv. Saġlık Bil. Enst. Doktora Tezi., İstanbul, 1992.
28. Güven, A.: Elazığ ilinde tüketime sunulan et ve bazı et ürünlerinde listeria türlerinin araştırılması., Doġa Türk Vet. ve Hay. Derg. (Baskıda).
29. I.C.M.S.F.: Microorganism in foods 1. Their significance and methods of enumeration. 2nd. Ed. Univ of Toronto Press. Toronto, Buffalo, London, 1978.
30. Oxoid: The oxoid manual of culture media. Oxoid Ltd. 7th Ed. Hampshire, 1995.
31. American Public Health Association: Standard Methods for the examination of water and waste water, including bottom sediments and sludges. 13th Ed. American Public Health Association. New York, 1971.
32. Harrigan, W.F. and McCance, M.E.: Laboratory methods in food and dairy microbiology. Academic Press. London, 1976.
33. Arda, M.: Genel bakteriyoloji. AÜ Vet. Fak. Yay. 369. Ankara Üniv. Basımevi. Ankara, 1985.
34. Angellotti, R., Hall, H.E., Foster, M.J. and Lewis, K.M.: Quantitation of Clostridium perfringens in foods. Appl. Microbiol., 10, 193, 1962.
35. İnal, T.: Clostridium perfringens'in gıda hijyeni yönünden önemi ve modern bakteriyolojik metotlarla çabuk teşhisi. Bornova Vet. Arş. Enst. Derg., 23, 59-84, 1972.
36. Lovett, J. and Hitchins, A.D.: Listeria isolation FDA bacteriological analytical manual. Federal Register. 53, 211, 44148-44153, 1988.
37. Curtis, G.D.W., Mitchell, R.G., King, A. F. and Griffin, E.J.: A selective diferential medium for the isolation of listeria monocytogenes. Lett. Appl. Microbiol., 8,95-98, 1989.
38. Kerr, K.G. and Lacey, R.W.: Isolation and identification of Listeria monocytogenes. J. Clin. Pathol., 44, 624-627, 1991.
39. Erdle, E.: Zum vorkommen von listerien in kaese fleisch und fleuchwaren. Diss. Vet. Med., Ludwig Maximillans Universität, Munchen, 1988.
40. Lovett, J.: Isolation and enumeration of listeria monocytogenes. Food Technol., 42, 172-175, 1988.
41. Lachica, R.V.: Simplified Henry Technique for initial recognition of listeria colonies. Appl. Environ. Microbiol., 56(4): 1164-1165, 1990.
42. Deutsche Normen: Untersuchung von fleisch und fleischer zungnissen nachweis von salmonellen referen-zuerfahren. D.N. 10160, 1977.
43. Baumgart, J.: Mikrobiologische untersuchung von lebensmitteln. Behr's Verlag. Hamburg, 1986.
44. Vassiliadis, P., Kalapothoki, V., Trichopoulos, D.: Isolation of salmonella from fluide milk with the use of Rappaport-Vassiliadis medium. J. Food Prot., 54(6): 421-423, 1991.
45. Anonim: Türk Standartları Enstitüsü Mikrobiyoloji. Salmonella aranmasında genel kurallar. TS 7438, Ankara, 1989.
46. Khalafalla, F., Gergis, A.F., El-Sherif, A.: Effect of freezing and mincing technique on microbial load of minced meat. Die Nahrung. 37(5): 422-427, 1993.
47. Field, R.A., Smith, F.C., Deane, D.D., Thomas, G.M. and Kotule, A.W.: Sources variation at the retail level in bacteriological condition of ground beef. J. Food Prot., 40, 385-388, 1977.
48. Reddy, S.G., Henrickson, R.L. and Olson, H.C.: The influence of cultures on ground beef quality. J. Food Sci., 781-787, 1970.
49. Buncic, S., Paunovic, L and Radisic, D.: The fate of listeria monocytogenes in fermented sausages and in vaccum packaged frankfurters. J. Food Prot., 54(6): 413-417, 1991.
50. Harris, L.J., Daeschel, M.A., Stiles, M.E. and Klaenhammer, T.R.: Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against listeria monocytogenes. J. Food Prot., 52(6): 3784-3787, 1989.