

***Escherichia coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* İle Kontamine Edilmiş Broyler Karkaslarında Laktik Asit, Cetylpyridinium Chloride ve Trisodyum Fosfat'ın Tekil ve Kombine Etkilerinin İncelenmesi** ^{[1][2]}

Halil YALÇIN *  Ali ARSLAN **

[1] Bu çalışma aynı isimli doktora tezinden özetlenmiştir

[2] Bu çalışma FÜBAP tarafından 1314 numaralı proje olarak desteklenmiştir

* Mersin İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, TR-33130 Mersin - TÜRKİYE

** Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, TR-23119 Elazığ - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2011-4413

Özet

Bu çalışma, cetylpyridinium chloride (CPC), trisodyum fosfat (TSF), laktik asit (LA) ve bunların kombinasyonlarının broyler karkasında *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* üzerine etkilerini incelenmek amacıyla yapıldı. Broyler karkasları *E. coli* O157:H7'nin 5 ve *L. monocytogenes*'in 10 suşu ile miks halde deneysel olarak kontamine edildi. Sonra 20°C'de 15 dakika %0.2 ve 0.4 CPC, %8 ve 12 TSF, %2 ve 4 LA, %2 LA + %8 TSF, %0.2 CPC + %2 LA ve %0.2 CPC + %8 TSF ile dekontamine edilerek bu maddelerin patojenlerin yaşamı üzerine olan etkileri belirlendi. Kullanılan tüm solüsyonlarda her iki patojen bakteri sayısı bakımından dekontaminasyon öncesi ve sonrası arasındaki farkın önemli olduğu tespit edildi ($P < 0.05$). Kontrol grubu olarak şebeke suyu kullanıldı. Dekontamine edilen karkasların çalkalama suyundan ekimler yapıldı. *E. coli* O157:H7 üzerine dekontaminasyon uygulamalarından 3.36 \log_{10} kob/ml azalma ile en etkilisinin %0.4 CPC olduğu ve en az etkinin de 1.91 \log_{10} kob/ml ile %2 LA'nın olduğu belirlendi. Dekontaminasyon solüsyonlarının *L. monocytogenes* üzerine en etkili dekontaminasyon solüsyonunun 5.04 \log_{10} kob/ml azalma ile %0.4 CPC ve en az etkili solüsyon olarak 1.84 \log_{10} kob/ml azalma ile %2 LA olduğu belirlendi. Sonuç olarak çalışmada kullanılan dekontaminasyon solüsyonları içerisinde, kullanılan solüsyonlardan CPC'nin *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes*'e karşı en etkili madde olduğu, bunu TSF ve LA'nın takip ettiği tespit edildi.

Anahtar sözcükler: Broyler karkası, Cetylpyridinium chloride, Trisodyum fosfat, Laktik asit, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*

Investigation of Single and Multiple Effects of Lactic Acid, Cetylpyridinium Chloride and Trisodium Phosphate on the Chicken Carcasses Contaminated with *E. coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*

Summary

The study was conducted to investigate the effects of cetylpyridinium chloride (CPC), trisodium phosphate (TSP), lactic acid (LA) and their combinations on survival of *E. coli* O157:H7 and *L. monocytogenes* on broiler carcasses. Broiler carcasses were contaminated with 5-strains of *E. coli* O157:H7 and 10-strains of *L. monocytogenes*. Then, the carcasses were subjected to decontamination treatments with 0.2% or 0.4 CPC, 8% or 12% TSP, 2% or 4 LA, 2% LA + 8% TSP, 0.2% CPC + 2% LA or 0.2% CPC + 8% TSP at 20°C for 15 min. Effects of treatments on survival of the pathogens were determined. The differences in levels of both pathogens between before and after were significant ($P < 0.05$). The most effective decontaminant on *E. coli* O157:H7 was 0.4% CPC with reduction 3.36 \log_{10} cfu/ml and the least effective decontaminant 2% LA with reduction of 1.91 \log_{10} cfu/ml. The most effective decontaminant on *L. monocytogenes* was 0.4% CPC with reduction 5.04 \log_{10} cfu/ml and the least effective decontaminant 2% LA with reduction of 1.84 \log_{10} cfu/ml. As a result, the most effective decontaminant against *E. coli* O157:H7 and *L. monocytogenes* on chicken carcasses was found to be CPC followed by TSP and LA.

Keywords: Broiler carcasses, Cetylpyridinium chloride, Trisodium phosphate, Lactic acid, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*



İletişim (Correspondence)



+90 5056382387



halilyalcin@yahoo.com

GİRİŞ

Kanatlıların bağırsak içeriği, derileri ve tüylerinde mikro-organizmalar yoğun olarak bulunur. Kanatlı karkaslarında, kesim sırasında sindirim sistemi içeriğinden kaynaklanan kontaminasyonlar önemli bir sorundur. Broyleler kesim hattına alındıktan itibaren doğrudan ve dolaylı olarak kontamine olabilmektedir. Broyleler karkası kesim, tüy ıslatma, tüy yolma, iç açma, iç organların çıkarılması, soğutma, parçalama ve ambalajlama işlemleri sırasında ve personel, su, alet-ekipman ile kontamine olabilmektedir¹. Kanatlılar farklı gıda kaynaklı patojenleri taşıyabilmektedirler. İnsanlarda görülen *Salmonella* ve *Campylobacter* enfeksiyonlarının önemli kaynaklarından birinin kanatlı eti olduğu vurgulanmaktadır². Kanatlı etlerinin *E. coli* O157:H7 salgınlarında etkili olduğu belirtilmiştir³. Yine *Clostridium perfringens* ve *L. monocytogenes* gibi diğer birçok mikro-organizma, bulaşık kanatlı karkaslarıyla insan gıda zinciri içerisine girebilmektedir⁴. ABD'de tüketime hazır kırmızı et ve kanatlı eti ürünleri *Listeria monocytogenes* açısından en riskli grubu oluşturduğu vurgulanmış ve bu nedenle satış noktalarından alınan hindilerin %7'sinde, broylelerin de %12'sinde *E. coli* O157:H7 saptanmış ve broyleler karkaslarının %24'ünün, ön pişirme işlemine tabi tutulmuş ürünlerin %12'sininin *L. monocytogenes* yönünden pozitif olduğu saptanmıştır⁵. Türkiye'de tüketime hazır ürünlerde (kanatlı karkası, çiğ kanatlı eti gibi) *L. monocytogenes* için sıfır tolerans istenmektedir⁶.

Kanatlılarda karkas dekontaminasyonu için biyolojik ve kimyasal maddeler ile fiziksel yöntemler kullanılmaktadır. Bu amaç için birçok madde denenmiş olmasına rağmen bunlardan sadece bazıları (laktik asit, asetik asit, trisodyum fosfat, asidifiye sodyum klorid, ozon vs.) endüstride uygulama alanı bulmuştur. TSP solüsyonunun pH'sının yüksek olması, hücre duvarına bağlanma, iyonik etkisi ve lipit tabakasını incelterek bakterisit etki yaptığı vurgulanmıştır⁷⁻⁹.

Cetylpridinium chlorid; stabil, pH'sı nötre yakın, uçucu olmayan, suda çözünebilir bir maddedir. CPC kanatlı, balık, kırmızı et sektörü, hazır gıdalar, sebze, meyve ve meyve suyu sanayiinde bakteriyel kontrol için kullanılan bir maddedir^{10,11}. CPC; *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 ve *Campylobacter* gibi bir çok patojene karşı etkilidir⁹.

LA'nın ayrışmama (andissosiyasyon) yeteneğinden dolayı bakteri hücre membranındaki proton pompasını etkisiz hale getirerek bakterisit etki sağladığı ifade edilmiştir^{12,13}. Kanatlı karkasının kesim hattının sonunda hemen %1-2 laktik asit solüsyonuna daldırılması ile renk ve koku gibi duyu özelliklerinde herhangi bir değişiklik olmaksızın bakteri sayısının azaltılabileceği belirtilmiştir^{14,15}. Bu amaçla Kanellos ve Burriel¹⁶ %1.5, Zeitz¹³ %2.5 LA kullanmışlardır.

Bu çalışma, CPC, TSP ve LA'nın değişik konsantrasyonları

ve bunların kombinasyonlarının kanatlı karkasında *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* üzerine etkisini incelemek amacıyla yapıldı.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Kullanılan Broyleler Karkasları ve Suşlar

Elazığ'da bulunan bir kanatlı kesimhanesinde yeni kesilmiş, ancak ön soğutma tankına girmemiş yaklaşık 1.0-1.2 kg ağırlığındaki sıcak broyleler karkasları materyal olarak kullanıldı. Çalışmada biri kontrol olmak üzere toplam 10 grup oluşturuldu. Her grupta bulunan 13 karkasın 3'ü kontaminasyon seviyesini tespit amacı ile geriye kalan 10'u da dekontaminasyon seviyesini belirlemek için kullanıldı. Çalışmada kullanılan; *L. monocytogenes* (RSKK 472, RSKK 475, RSKK 476, RSKK 474 ve RSKK 02028) suşları Refik Saydam Hıfzı Sıhha Enstitüsü kültür koleksiyonundan (Ankara, Türkiye), *L. monocytogenes* (N-7155, N-7144, N-7144 Rif (+), NCTC 2167, N-7143), *E. coli* O157:H7 (ATCC 43895, ATCC 43895 Rif (+), ATCC 51657 Rif (+), ATCC 43894 ve ATCC E0139) Colorado Eyalet Üniversitesi Hayvan Bilimleri Bölümü kültür koleksiyonundan (Colorado, Amerika Birleşik Devletleri) temin edildi.

Metot

Kontaminasyon Solüsyonunun Hazırlanması

L. monocytogenes suşları 10 ml'lik Triptik Soy sıvı besi yerinde (TSB) 30°C'de, *E. coli* O157:H7 ise yine aynı besi yerinde 35°C'de 24 saat çoğaltıldı, bu işlem 3 kez yapıldı. Sonra 5.000 g'de santrifüj edildi ve supernatant uzaklaştırılıp peletler steril fizyolojik serum ile yıkanarak tekrar santrifüj edildi. Sonra suşların bulunduğu tüm peletler %0.1'lik peptonlu suda süspansiyon haline getirilerek birleştirildi. Daha sonra kontaminasyon tankındaki bakteri sayısı yaklaşık 10⁷-10⁸ kob/ml olacak şekilde steril %0.1'lik peptonlu su ile toplam 300 ml'ye tamamlandı.

Dekontaminasyon Solüsyonlarının Hazırlanması

Dekontaminasyon solüsyonu hazırlamada şebeke suyu kullanıldı. Her tekrarda şebeke suyundaki serbest klor miktarı lovibond komparatörü ile incelendi. Serbest klor seviyesi 0.3 ppm'in altında olan sular kullanıldı. Her çalışma öncesinde suyun pH'sı ölçüldü. Tarım Bakanlığı kanatlı eti yönetmeliğinde önerilen soğutma suyu miktarı gözönüne alınarak dekontaminasyon solüsyonu hazırlandı¹⁷. Bu solüsyonun pH'sı ölçüldü ve sıcaklığı 20°C'ye ayarlandı.

Dekontaminasyonda Kullanılan Solüsyonlar ve Bekletme Süreleri

Her patojen için ayrı ayrı olmak üzere aşağıdaki gruplar oluşturuldu;

1- Şebeke suyu (kontrol) (15 dak), 2- %8 TSP (w/v) (15 dak), 3- %12 TSP (w/v) (15 dak), 4- %0.2 CPC (w/v) (15 dak), 5- %0.4 CPC (w/v) (15 dak), 6- %2 LA (v/v) (15 dak), 7- %4 LA (v/v) (15 dak), 8- %2 LA (v/v) (7 dak) + su (1 dak) + %8 TSP (w/v) (7 dak), 9- %0.2 CPC (w/v) (7 dak) + su (1 dak) %2 LA (v/v) (7 dak), 10- %0.2 CPC (w/v) (7 dak) + su (1 dak) + %8 TSP (w/v) (7 dak).

Karkas Kontaminasyonu

Yaklaşık 10^7 - 10^8 log₁₀ kob/ml içeren *Listeria monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 ile kontamine solüsyonlar ayrı ayrı steril fırça ile karkasın bütün yüzeyine sürüldü ve etkenlerin karkasa yapışmasını sağlamak için 4 dak. laboratuvarında askıda bekletildi. Sonra bu karkaslardan 3 adedi kullanılarak kontaminasyon seviyesi belirlendi. Diğer karkaslar sıcaklığı 20°C'ye ayarlanmış yukarıda belirtilen dekontaminasyon solüsyonlarında 15 dak. el ile yavaşça hareket ettirilerek bekletildi. Dekontaminasyon tankından çıkarılan karkaslar 1 dak. askıda bekletilerek suları süzdürüldü.

Örneklerin Alınması ve Mikrobiyolojik Analizler

Dekontaminasyon tankından çıkarılıp 1 dak. askıda bekletilerek suyu süzdürülen karkas, steril stomacher torbasına kondu ve üzerine 400 ml %0.1'lik peptonlu su eklenerek 2 dak. elle çalkalandı. Çalkalama suyundan hemen 1 ml alınarak, 10^{-8} 'e kadar seyreltildi ve her seyreltiden 0.1 ml alınarak çift seri halinde yüzey yayma yöntemi ile ekimleri yapıldı. Böylece çalkalama suyunun 1 ml'sindeki bakteri sayısı saptandı.

E. coli O157:H7 sayımı için Sorbitol MacConkey Agar (SMAC) besi yerine, ekim yapılıp, 35°C'de 24 saat inkübe edildi. *Listeria monocytogenes* sayımında ise PALCAM agara ekim yapılıp, 35°C'de 24 saat inkübe edildi.

Doğrulama İşlemi

Bu amaçla, petriyelerdeki tipik kolonilerden 2'şer adet alınıp steril distile suda karıştırıldı ve doğrulama işlemi için kullanıldı. *Listeria monocytogenes*'in doğrulanması PCR yöntemi ile yapıldı. Bunun için listeriyolizin genini kodlayan; LM1 (5'- CCT AAG ACG CCA ATC GAA - 3') ve LM2 (5'- AAG CGC TTG CAA CTG CTC - 3') baz dizilimine sahip primerler (IDT, Integrated DNA Tech. Inc., Coralville,

ABD) kullanıldı¹⁸.

E. coli O157:H7'nin doğrulanması ise; *E. coli* O157 latex agglutinasyon test kiti (Microscreen *E. coli* O157, Microgen Bioproducts, Camberley, İngiltere) ile yapıldı¹⁹.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler Statistical Analysis System (SAS) paket programı (Version 8, 1999, SAS Institute Inc., Cary, NC, ABD) kullanılarak yapıldı. Veriler varyans analizine (ANOVA) tabi tutuldu. Ortalamalar Fisher'in en küçük kareler farkı (Fisher's Least Significant Difference-LSD) metoduna göre ayrıştırıldı. İstatistiksel önem derecesi 0.05 olarak belirlendi.

BULGULAR

Dekontaminasyon solüsyonlarının pH değerleri *Tablo 1*'de, dekontaminasyon solüsyonlarının *E. coli* O157:H7 üzerine olan etkisi *Tablo 2*'de, *L. monocytogenes* üzerine olan etkisi *Tablo 3*'te ve dekontaminasyondan sonra solüsyonlardaki bakteri sayısı *Tablo 4*'te verilmiştir. Verilerde log₁₀ kob/ml yerine kısaca log kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan karkaslar 8.72-9.17 log₁₀ kob/ml *E. coli* O157:H7 ve 8.87-9.25 log₁₀ kob/ml *L. monocytogenes* içeren kontaminasyon solüsyonları ile kontamine edildi.

E. coli O157:H7 sayısında, kontrol grubunda 0.93 log azalma sağlandı. Dekontaminasyon grupları içerisinde en fazla azalma 3.36 log ile %0.4 CPC' de görüldü. En az azalma ise 1.91 log ile %2 LA grubunda belirlendi.

Tablo 1. Dekontaminasyon solüsyonlarının pH değerleri

Table 1. pH values of decontamination solutions

Dekontaminasyon Solüsyonu	pH
Şebeke Suyu	7.08
%8 TSP	12.20
%12 TSP	12.43
%0.2 CPC	6.91
%0.4 CPC	7.36
%2 LA	2.24
%4 LA	1.93

Tablo 2. *E. coli* O157:H7 ile kontamine edilmiş broyler karkaslarında LA, CPC ve TSP'nin etkisi (log₁₀kob/ml², N=1, n=10)

Table 2. The effects of LA, CPC and TSP on chicken carcasses contaminated with *E. coli* O157:H7 (log₁₀ cfu/ml², N=1, n=10)

Zaman	Dekontaminasyon Solüsyonları (%)									
	Kontrol (Su)	8 TSP	12 TSP	0.2 CPC	0.4 CPC	2 LA	4 LA	2 LA + 8TSP	0.2 CPC + 2 LA	0.2 CPC + 8 TSP
DÖ ^a	7.25 ^{Az}	7.27 ^{Az}	7.34 ^{Az}	7.47 ^{Az}	7.47 ^{Az}	7.28 ^{Az}	7.17 ^{Az}	7.21 ^{Az}	7.36 ^{Az}	7.28 ^{Az}
DS ^b	6.32 ^{Ay}	4.81 ^{CDy}	4.69 ^{Dy}	4.83 ^{Cy}	4.11 ^{Ey}	5.37 ^{By}	4.73 ^{CDy}	4.71 ^{Dy}	4.39 ^{DEy}	4.59 ^{Dy}

ABCD: Aynı satırda yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır (P<0.05)

zy: Aynı sütunda yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır (P<0.05)

a: Dekontaminasyon öncesi, **b:** Dekontaminasyon sonrası, **c:** Çalkalama suyunun 1 ml'sindeki bakteri sayısı

Tablo 3. *L. monocytogenes* ile kontamine edilmiş broyler karkaslarında LA, CPC ve TSP'nin etkisi (\log_{10} kob/ml^f, N=1, n=10)**Table 3.** The effects of LA, CPC and TSP on chicken carcasses contaminated with *L. monocytogenes* (\log_{10} cfu/ml^f, N=1, n=10)

Zaman	Dekontaminasyon Solüsyonları (%)									
	Kontrol (Su)	8 TSP	12 TSP	0.2 CPC	0.4 CPC	2 LA	4 LA	2 LA + 8 TSP	0.2 CPC+2 LA	0.2 CPC + 8 TSP
DÖ ^a	7.51 ^{Az}	7.51 ^{Az}	7.58 ^{Az}	7.58 ^{Az}	7.41 ^{Az}	7.56 ^{Az}	7.38 ^{Az}	7.38 ^{Az}	7.56 ^{Az}	7.41 ^{Az}
DS ^b	6.84 ^{Ay}	5.42 ^{Cy}	5.20 ^{CDy}	3.69 ^{Fy}	2.37 ^{Gy}	5.72 ^{By}	5.23 ^{CDy}	4.78 ^{Dy}	3.51 ^{Fy}	3.99 ^{Ey}

ABCD: Aynı satırda yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır ($P < 0.05$)

zy: Aynı sütunda yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır ($P < 0.05$)

a: Dekontaminasyon öncesi, **b:** Dekontaminasyon sonrası, **c:** Çalkalama suyunun 1 ml'sindeki bakteri sayısı

Tablo 4. Dekontaminasyondan sonra dekontaminasyon solüsyonlarında belirlenen bakteri sayıları (\log_{10} kob/ml)**Table 4.** The numbers of bacteria in decontamination solutions after decontamination process (\log_{10} cfu/ml)

Grup	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>L. monocytogenes</i>
Su	6.45	6.94
%8 TSP	TE ^a	4.49
%12 TSP	TE	4.40
%0.2 CPC	TE	TE
%0.4 CPC	TE	TE
%2 LA	TE	3.81
%4 LA	TE	3.74
%2 LA + %8 TSP ^b	LA: TE Su: 4.20 TSP: TE	LA: 3.95 Su: 4.69 TSP: 3.47
%0.2 CPC + %2 LA ^b	TE	CPC: TE Su: 3.00 LA: TE
%0.2 CPC + %8 TSP ^b	CPC: TE Su: 3.19 TSP: TE	CPC: TE Su: 3.30 TSP: 2.30

a: Tespit edilemedi ($< 1.0 \log_{10}$ kob/ml)

b: Dekontaminasyon solüsyonlarında 7'şer dakika bekletildi. İki dekontaminasyon uygulamaları arasında 1 dakika su tankında bekletildi

L. monocytogenes denemelerinde kontrol grubunda 0.67 log azalma sağlandı. Dekontaminasyon grupları arasında en fazla azalma 5.04 log ile %0.4 CPC grubunda belirlendi. En az azalma ise 1.84 log ile %2 LA grubunda gözlemlendi.

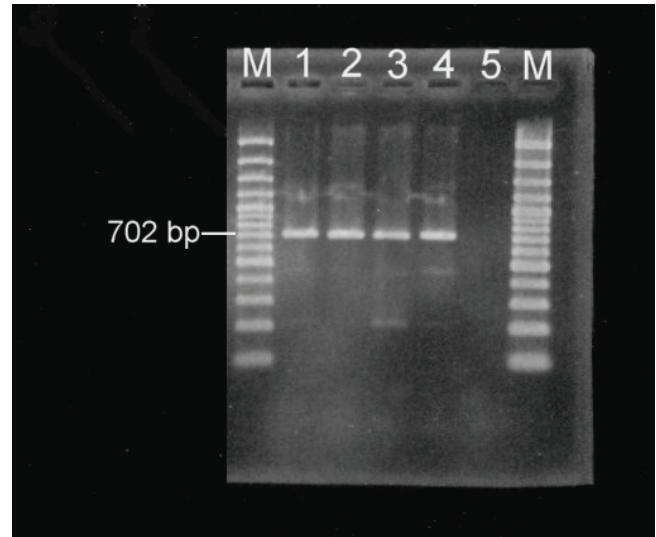
Listeria monocytogenes'in listeriolizin genine spesifik primer ile elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezindeki görünümü Şekil 1'de verilmiştir. PCR tekniği ile *Listeria monocytogenes* yönünden test edilen tüm suşların *Listeria monocytogenes* olduğu tespit edildi.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışma, cetylpyridinium chloride (CPC), trisodyum fosfat (TSP), laktik asit (LA) ve bunların kombinasyonlarının broyler karkasında *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* üzerine etkisini incelemek amacıyla yapıldı. Sakhare ve ark.²⁰, laktik asidin kanatlı kesiminin her aşamasında bakteri sayısını azaltmada suyun tek başına uygulanmasından

daha etkili olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada karkaslar 20°C'de %2 ve %4'lük laktik aside tabi tutularak *E. coli* O157:H7'de sırasıyla 1.91 \log_{10} kob/ml, 2.44 \log_{10} kob/ml ve *Listeria monocytogenes*'te sırasıyla 1.84 \log_{10} kob/ml ve 2.15 \log_{10} kob/ml azalma sağlandı. Sakhare ve ark.²⁰, kanatlı kesiminin değişik aşamalarında (tüy yolmadan ve iç organların çıkarılmasından sonra) %0.5 asetik asit ve %0.25 laktik asidi sprey şeklinde uygulamaları sonucu karkasın mikrobiyolojik kalitesinin önemli ölçüde iyileştiğini bildirmişlerdir.

Goncalves ve ark.²¹, derili broyler göğüs etinde *L. monocytogenes*'i %4 LA (55°C) ve organik asit tuzlarından sodyum laktat'ın %2.5 konsantrasyonu ile yıkımlamışlardır. Bu çalışmada da %4'lük LA *L. monocytogenes*'i yıkılmamada etkili (2.15 \log_{10} kob/ml) bulunmuştur. Çalışmalar arasındaki farklılıklar dekontaminasyon solüsyonunun ısısından, yöntem ve kullanılan broyler kısımlarının farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Göğüs derisinin gergin olmasından dolayı etkenin dekontaminasyon solüsyonuyla daha etkili şekilde temas etmesinden de kaynaklanabilir.

**Şekil 1.** *Listeria monocytogenes*'in listeriolizin genine spesifik primer ile elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezindeki görünümü**Fig 1.** Agarose gel analysis of PCR products from *Listeria monocytogenes* with listeriolysine gene specific primer

M: Marker (100 bp DNA Ladder, SM 0321 Fermentas)
1.2.3.4: *Listeria monocytogenes*
5: Negatif Kontrol (Distile Su)

Ayrıca bu çalışmada, bütün karkas kullanıldığı için kıvrımlı bölgelerde (boyun, kuyruk, kanat altı vs.) dekontaminasyon maddelerinin etkisi az olabilmektedir.

Tosun ve Tamer²², %1 ve %3 LA ile muamele ettikleri (15 dak. oda ısı) ve +4°C'de 4 gün beklettikleri kanatlı karkasında *E. coli* sayısını sırasıyla 2.02 ve 3.82 log₁₀ kob/karkas düşüş sağlamışlardır. Araştırmacıların 4. günün sonunda elde ettikleri sonuçlar bu çalışmada %2 ve %4 LA ile saptanan sonuçlara (sırasıyla 1.91 log₁₀ kob/ml ve 2.44 log₁₀ kob/ml) ve kullanılan solüsyon yoğunluğu dikkate alındığında oldukça yüksektir. Bunun sebebi, bekletme süresinde laktat anyonlarının bakterilerin üremelerini inhibe etmelerine bağlanmaktadır²³.

Bu çalışmada, %8 ve %12 TSP uygulamalarıyla sırasıyla *E. coli* O157:H7'de 2.46 log₁₀ kob/ml ve 2.65 log₁₀ kob/ml, *Listeria monocytogenes*'te ise 2.09 log₁₀ kob/ml ve 2.38 log₁₀ kob/ml azalma sağlandı. Goncalves ve ark.²¹, broyler göğüs etinde yaptıkları çalışmada, TSP'nin %12'lik solüsyonu ile *L. monocytogenes* sayısının önemli düzeyde (P<0.05) azaldığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada da paralel sonuçlar sağlanmıştır. *L. monocytogenes*'in yüksek pH'lara dayanıklılığından dolayı TSP'ye karşı oldukça dirençli olduğu bildirilmiştir⁷. Capita ve ark.²⁴, soğutucularda muhafaza edilen kanatlı derilerinde yaptıkları çalışmalarda %8 TSP uygulayarak *L. monocytogenes* sayısında 2.10 log azalma sağlamışlardır. Bu çalışmada da benzer sonuç sağlandı.

Del Rio ve ark.²⁵, kanatlı budunda %12 TSP ile (20°C, 15 dak.) *L. monocytogenes* sayısının azaldığını belirtmişlerdir. TSP'nin antimikrobiyel etkinliğinin değişik karkas kısımlarında farklı olabileceği kanaatine varılmıştır. Whyte ve ark.²⁶, broyler boyun derisini kullanarak yaptıkları çalışmada %10 TSP'nin (20°C, 15 saniye) *E. coli* sayısını düşürmede etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan %8 TSP ile 2.46 log₁₀ kob/ml ve %12 TSP ile 2.65 log₁₀ kob/ml'lik azalma sağlanmıştır. Kullanılan maddenin etkinliği değerlendirildiğinde TSP'nin belirli dozlarının kanatlı karkasındaki *E. coli* O157:H7'yi yıkımlamada etkili olduğu söylenebilir. Rodriguez de Ledesma ve ark.⁸, kanat derisinde %10 TSP (15 saniye 10°C) ve sıcak su uygulamasının (95°C) *L. monocytogenes* üzerine etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Bu araştırmada, %0.2 ve 0.4 CPC ile *E. coli* O157:H7 de sırasıyla 2.64 log₁₀ kob/ml ve 3.36 log₁₀ kob/ml azalma sağlanmasına rağmen *L. monocytogenes*'de sırasıyla 3.89 log₁₀ kob/ml ve 5.04 log₁₀ kob/ml azalma sağlandı. *L. monocytogenes*'in CPC'ye daha duyarlı olduğu saptandı. Her iki bakteri üzerine %0.4 CPC'nin tek başına etkisinin, diğer maddelerle kombinasyonu ile elde edilen etkiden daha fazla olduğu tespit edildi. Lim ve Mustapha CPC'nin %0.5'lik konsantrasyonunun patojen mikroorganizmaların yıkımlanmasında önemli olduğunu vurgulamıştır²⁷.

Her iki bakteri üzerinde en yüksek inhibitör etki %0.4 CPC içeren solüsyonda tespit edildi. %0.4 CPC ile *L.*

monocytogenes'de 5.04 log₁₀ kob/ml, *E. coli* O157:H7'de ise 3.36 log₁₀ kob/ml azalma sağlanmıştır. En az yıkımlama ise %2 LA'da sağlandı.

E. coli O157:H7 üzerinde, LA'nın kullanıldığı kombine gruplarla %2 LA arasında istatistiksel farklılık gözlenmesine rağmen (P<0.05), %4 LA arasında önemli bir farklılık bulunmadı (P>0.05). *E. coli* O157:H7 üzerinde TSP'nin kombine kullanımları ile tekil kullanımları (%8 ve 12) arasındaki fark önemli bulunmamıştır (P>0.05). CPC'nin kombine kullanımları ile %0.2 CPC arasındaki fark önemlidir (P<0.05). *E. coli* O157:H7'ye CPC'nin kombine (%0.2 CPC + %8 TSP, %0.2 CPC + %2 LA) kullanımları, %0.2 CPC'ye göre daha fazla, %0.4 CPC'ye göre daha düşük düzeyde etki etmiştir.

Listeria monocytogenes üzerinde, TSP'nin kombine kullanıldığı gruplarla bu maddenin tek başına kullanıldığı gruplar arasında önemli bir fark olduğu (P<0.05) ve kombine kullanımların daha etkili olduğu saptandı. Bu durum TSP ile diğer iki maddenin (CPC ve LA) sinerjistik veya ilave etki göstermesine bağlanabilir²⁸. CPC içeren kombine uygulamaların LA ve TSP'nin tek başına kullanıldığı gruplara göre daha etkili olduğu saptandı. Bu durum CPC'nin antibakteriyel etkinliğinin daha yüksek olmasına bağlanabilir. Yıkımlayıcı etkilerine göre sırasıyla; %0.4 CPC, %0.2 CPC + %2 LA, %0.2 CPC ve %0.2 CPC + %8 TSP gelmektedir. Huffman²⁹, karkasa birden fazla dekontaminasyon maddesi veya yönteminin uygulanmasının daha etkili olduğunu vurgulamıştır. Elder ve ark.³⁰, kesimhanelerde kombine dekontaminasyon teknolojilerinin uygulanmasının etkinliğini ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar sığır kesimhanesinde yaptıkları kombine çalışma sonucunda, *E. coli* O157:H7 pozitif karkas oranının %43.4'ten %1.9'a düştüğünü bildirmişlerdir.

Çalışmada kullanılan dekontaminasyon maddelerinin kombine kullanımlarının *L. monocytogenes* üzerine *E. coli* O157:H7'den daha etkili olduğu tespit edildi. Her iki bakteri üzerinde LA + TSP kombinasyonunun bu maddelerin CPC ile kombinasyonlarından daha az etkili olduğu saptandı. Hem nötre yakın pH'da hem de kullanılan diğer maddelerden daha düşük konsantrasyonlarda etkili olması CPC'nin önemini ortaya koymaktadır.

Çalışmada kullanılan üç dekontaminasyon maddesi karşılaştırıldığında her iki bakteriye karşı en etkili maddenin CPC olduğu belirlendi. Bunu TSP ve LA takip etti. TSP'ye karşı Gram (+) bakterilerin Gram (-) bakterilerden daha dayanıklı olduğu Del Rio ve ark.²⁵ tarafından belirtilmiştir. Bu çalışmada TSP'nin Gram (-) bakteri olan *E. coli* O157:H7'yi daha fazla yıkımladığı görüldü. Bulgularımız araştırmacıların belirttiği sonuçlar ile uyum göstermektedir.

Genel olarak, ilgili araştırmalar ile bu çalışma arasındaki farklılıklar, dekontaminasyon maddesinin konsantrasyonu, sıcaklık, materyal (parça, bütün, derili-derisiz, yağlılık durumu, kirlilik derecesi v.b.) uygulama süresi, uygulama şekli ve bireysel özenden kaynaklanabilir.

Karkaslar dekontamine edildikten sonra kalan sıvılarından yapılan ekimlerde *L. monocytogenes*'e CPC'li gruplar hariç diğer gruplarda değişik sayılarda rastlanırken, *E. coli* O157:H7'ye kontrol grubu hariç diğer dekontaminasyon solüsyonlarında rastlanmamıştır. CPC içeren solüsyonların *L. monocytogenes*'in çapraz bulaşma ile yayılmasına engel olduğu sonucuna varılmıştır. Kontrol grubunda (su); *E. coli* O157:H7'de 0.93 log ve *L. monocytogenes*'de 0.67 log azalma sağlandı. Bu azalma suyun seyreltici ve mekanik etkisiyle bakterileri uzaklaştırmasına bağlanabilir.

Elde edilen bulgulara göre CPC, TSP ve LA'nın değişik dozlarının ve bunların kombine uygulamalarının çalışmada kullanılan *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* suşlarına karşı etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu dekontaminasyon solüsyonlarının etkinliği, karkasların bütün olarak solüsyonlara daldırılması ve uygulama sonrasında karkaslarda renk ve koku değişikliğinin olmaması gibi kriterler ele alındığında bu solüsyonlar kanatlı kesimhanelerinde, tüyler yolunduktan sonra birkaç aşamada (örneğin; iç organlar çıkarıldıktan sonra, yıkama, ön soğutma, paketlemeden önce) uygulanarak karkasın mikrobiyel kalitesi daha da iyileştirilebilir. Yine bu solüsyonlar ile ilgili patojenlerle birlikte diğer mikroorganizmalar da (kesimhane şartlarına adapte olup biyofilm tabakasında çoğalabilen bakteriler, saprofitler, *Sallmonella* spp, koliformlar, *Campylobacter*, *Pseudomonas* spp. vb.) yıkımlanarak karkasın mikrobiyolojik kalitesi iyileştirilebilir.

KAYNAKLAR

- Arslan A:** Et Muayenesi ve Et Ürünleri Teknolojisi. Medipres Matbaacılık, Malatya, Türkiye, 2002.
- Aymerich T, Picouet PA, Monfort JM:** Decontamination technologies for meat products. *Meat Sci*, 78, 114-129, 2008.
- Kanatlı Ar-Ge Yayınları:** Kanatlı etleri ve gıda güvenliği. Bey Ofset, Ankara, Türkiye, 2001.
- Waldroup AL:** Contamination of raw poultry with pathogens. *World's Poult Sci J*, 52, 7-25, 1996.
- Mead GC:** Microbiological quality of poultry meat: A review. *Br J Poult Sci*, 6 (3): 135-142, 2004.
- Resmi Gazete:** Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ. Tebliğ No: 2009/6. Tebliğ No: 2009/6. *Resmi Gazete*, 06.02.2009-27133, 2009.
- Hwang CA, Beuchat LR:** Efficacy of selected chemicals for killing pathogenic and spoilage microorganisms on chicken skin. *J Food Protect*, 58, 19-23, 1995.
- Rodriguez de Ledesma AM, Rienman MR, Farver TV:** Short time treatment with alkali and/or hot water to remove common pathogenic and spoilage bacteria from chicken wing skin. *J Food Protect*, 59, 746-750, 1996.
- Loretz M, Stephan R, Zweifel C:** Antimicrobial activity of decontamination treatments for poultry carcasses: A literature survey. *Food Contr*, 21, 791-804, 2010.
- Anonim:** New pathogen-controlling ingredients emerge. 2011. (<http://www.organicconsumers.org/irrad/newcontrols.cfm>), Accessed: 24.01.2011.
- Özdemir H, Gücükoglu A, Pamuk Ş:** Effects of cetylpyridinium chloride, lactic acid and sodium benzoate on populations of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* on beef. *J Food Safety*, 26, 41-48, 2006.
- Goncalves AC, Almeida RCC, Alves MAO, Almeida PF:** Quantitative investigation on the effects of chemical treatments in reducing *Listeria monocytogenes* populations on chicken breast meat. *Food Contr*, 16 (7): 617-622, 2005.
- Zeitz D:** Application of novel hurdle technologies to meat carcass trimmings for reduction of pathogens. A Final Report to USDA, FSIS, OPPD. USDA-FSIS Non-Assistance Cooperative Agreement, FSIS-C-14, 2004.
- Sakhare PZ, Sachindra NM, Yashoda KP, Narasimha Rao D:** Efficacy of intermittent decontamination treatment during processing in reducing the microbial load on broiler chicken carcass. *Food Contr*, 10, 189-194, 1999.
- Terra, NN:** Organic acids in the conservation of refrigerated poultry carcasses. In, *Proceeding of the 39th Int Con. on Meat Science and Technology Calgary, Canada*, 1-6 August 1993.
- Kanellos TS, Burriel AR:** The invitro bacterial effects of the food decontaminants lactic acid and trisodium phosphate. *Int J Food Microbiol*, 22, 591-594, 2005.
- Anonim, T.C. Tarım Bakanlığı:** Kanatlı Hayvan Eti ve Et Ürünleri Üretim Tesislerinin Çalışma ve Denetleme Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik. www.tarim.gov.tr, Erişim Tarihi: 22.09.2010.
- Border P, Howard J, Plastow G, Siggers K:** Detection of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* using polymerase chain reaction. *Lett Appl Microbiol*, 11, 158-162, 1990.
- Calicioglu M, Sofos JN, Kendall PA:** Fate of acid-adapted and non-adapted *Escherichia coli* O157:H7 inoculated post-drying on beef jerky treated with marinades before drying. *Int J Food Microbiol*, 20 (2): 139-265, 2003.
- Sakhare PZ, Sachindra NM, Yashoda KP, Narasimha Rao D:** Efficacy of intermittent decontamination treatment during processing in reducing the microbial load on broiler chicken carcass. *Food Contr*, 10, 189-194, 1999.
- Goncalves AC, Almeida RCC, Alves MAO, Almeida PF:** Quantitative investigation on the effects of chemical treatments in reducing *Listeria monocytogenes* populations on chicken breast meat. *Food Contr*, 16 (7): 617-622, 2005.
- Tosun H, Tamer AÜ:** A Study on the effects of chilling on the microbiological quality of poultry carcasses and surface decontamination with lactic acid. *Turk J Vet Anim Sci*, 24, 517-521, 2000.
- Siragusa GR:** The effectiveness of carcass decontamination systems for controlling the presence of pathogens on the surfaces of meat animal carcasses. *Food Safety*, 15 (3): 229-238, 1995.
- Capita R, Alonso-Calleja C, Garcia-Fernandez C, Moreno B:** Efficacy of trisodium phosphate solutions in reducing *Listeria monocytogenes* populations on chicken skin during refrigerated storage. *J Food Protect*, 64, 1627-1630, 2001.
- Del Rio E, Capita R, Prieto M, Alonso-Calleja C:** Comparison of pathogenic and spoilage bacterial levels on refrigerated poultry parts following treatment with trisodium phosphate. *Int J Food Microbiol*, 23 (2): 195-198, 2006.
- Whyte P, Collins JD, McGill K, Monahan C, O'Mahony H:** Quantitative investigation of the effects of chemical decontamination procedures on the microbiological status of broiler carcasses during processing. *J Food Protect*, 64 (2): 179-183, 2001.
- Lim K, Mustapha A:** Effects of cetylpyridinium chloride, acidified sodium chlorite, and potassium sorbate on populations of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus* on fresh beef. *J Food Protect*, 67 (2): 310-315, 2004.
- Anonim:** Dekontaminasyon Teknolojileri. <http://www.beefresearch.org>, Erişim Tarihi: 10.01.2009.
- Huffman RD:** Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. *Meat Sci*, 62, 285-294, 2002.
- Elder RO, Keen JE, Siragusa GR, Barkocy-Gallegger GA, Koohmarie M, Laegreid WW:** Correlation of *Enterohemorrhagic E. coli* O157:H7 prevalence in feces, hides and carcasses of beef cattle during processing. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97, 2999-3003, 2000.