

## Aydın İlinde Satışa Sunulan Köy Peynirlerinde *Listeria* Varlığının Araştırılması

Sadık BÜYÜKYÖRÜK<sup>1</sup>

Ergün Ömer GÖKSOY<sup>1</sup>

Geliş Tarihi: 18.03.2011

Kabul Tarihi: 27.04.2011

**Özet:** Bu çalışma, Aydın ili ve çevresinde, starter kültür kullanılmadan geleneksel usullere göre üretilmiş köy peynirlerinden *Listeria* cinsi bakterilerin, özellikle de *Listeria monocytogenes* varlığının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, 58 adet peynir örneği Aydın ilindeki pazarlardan toplandı ve mikrobiyolojik analize tabii tutuldu. Yapılan mikrobiyolojik ekimler sonucunda Oxford agarda üreyen şüpheli koloniler, katalaz ve oksidaz testler ile Gram boyamanın ardından, katalaz pozitif, oksidaz negatif ve Gram pozitif küçük basiller olarak izlenen 7 izolat şeker fermantasyonlarının ve hemoliz özelliklerinin belirlenmesi amacıyla Microbact 12L ile biyokimyasal identifikasyon testine tabii tutuldu. Sonuç olarak 7 izolattın hiçbirinde *L. monocytogenes* (%0) izole edilmezken, 1 adedi *L. grayi* (%14.2), 1 adedi ise *L. ivanovii* (%14.2) olarak tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Köy peyniri, *Listeria* spp., *Listeria monocytogenes*, identifikasyon.

### Investigation the Presence of *Listeria* spp. from Village Cheese in Aydın Province

**Abstract:** This study was carried out to investigate strains of *Listeria* genus, especially *Listeria monocytogenes*, from village cheese manufactured according to traditional techniques without using starter bacteria in Aydın province. For this purposes, 58 cheese samples were collected from open markets (bazaars) and subjected to microbiological analyses. The presumptive strains, grewed on to oxford agar, were exercised Gram staining, catalase and oxidase tests. In order to differentiate the isolates, sugar fermentation and rapid haemolysis test "called microbact" were used. Consequently, none of 7 isolates was not isolated as *L. monocytogenes* (0%), While 1 of them were determinated as *L. grayii* (14.2%) and *L. ivanovii* (14.2%).

**Key Words:** Village cheese, *Listeria* spp., *Listeria monocytogenes*, identification.

### Giriş

*Listeria* cinsi, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Listeria ivanovii*, *Listeria welshimeri*, *Listeria seeligeri* ve *Listeria grayi* olmak üzere 6 türden oluşmakla birlikte<sup>26</sup>, Graves ve ark, *Listeria marthii* isminde yeni bir tür bildirmişlerdir<sup>12</sup>. *Listeria monocytogenes*, Gram -pozitif, fakültatif anaerob, hareketli, basil şeklinde küçük bir mikroorganizmadır<sup>26</sup>. Bazı durumlarda bu organizma hatalı olarak Gram -negatif ya da kok, diplokok veya difteroid şek-

linde yorumlanabilmektedir. Bu mikroorganizma, düşük sıcaklığı, yüksek pH ve tuz konsantrasyonlarını tolere edebilmesi açısından gıda teknolojisinde önem taşımaktadır. Birçok listeriosis vakası gıda kaynaklı olmakla birlikte çiğ süt, balık, kanatlı ürünleri, işlenmiş kanatlı ürünleri ve sığır eti *L. monocytogenes* açısından risk arz etmektedir<sup>20</sup>. Bununla birlikte *L. monocytogenes* ile ilgili gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde birçok sporadik ve salgın vakaların, birincil olarak pastörize süt, pastörize edilmiş süttten yapılan peynirler ve diğer süt

<sup>1</sup> Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Işıklı, 09016, Aydın, Türkiye, sbuyukyoruk@adu.edu.tr

kökenli ürünlerden kaynaklandığı bildirilmektedir<sup>16-18</sup>. Doğada oldukça yaygın olarak bulunan ve fırsatçı patojen olan bu etken, özellikle bağırsıklık sistemi baskılanmış insanlarda ensefalit, menenjit ve septisemi; hayvanlarda ise mastitis, diyare ve gastroenteritis yapabilmektedir<sup>15,24,28</sup>.

Gramdaki  $10^4$ - $10^6$  adet organizma sayısının enfeksiyon oluşturabilmek için yeterli olduğu ileri sürülmekle birlikte, bağırsıklık sistemi baskılanmış kişilerde, mide asitliği azalmış ya da ülser ameliyatı olmuş kişilerde bu sayı azalabilmektedir<sup>23</sup>. Bu sebeplerden dolayı *L. monocytogenes*'in gıdalardan izolasyonu ve identifikasyonu, gıda güvenliğinin sağlanması ve salgın hastalıkların önüne geçilmesi bakımından önem arz etmektedir.

Microbact™ 12L, tüm *Listeria* türlerinin identifiye edilebildiği biyokimyasal bir test kitidir. Bu sistem, 12 adet dehidre besi yerlerinin bulunduğu kuyucuktan oluşmaktadır. Kuyucuklardan birinde eskulin hidrolizi ve hemoliz özelliği ile diğer kuyucuklarda karbonhidrat kullanımları test edilebilmekte ve 4–24 saat içerisinde sonuç vermektedir<sup>19</sup>.

Bu çalışma, starter kültür kullanılmadan üretilmiş köy peynirlerinden *Listeria* cinsinin özellikle de *L. monocytogenes* varlığının kısa bir sürede belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

## Materyal ve Metot

Starter kültür kullanılmadan üretilmiş 58 adet köy peyniri, Aydın ilindeki pazarlardan 2009 Mart-Haziran aylarında toplandı, +4°C'de soğuk zincir altında hızlı bir şekilde laboratuara getirildi.

Laboratuara getirilmiş olan bu peynirlerden 25'er g tartıldıktan sonra 225 ml Half Fraser Brothda homojenize edildi ve 30°C'de 24 saat inkübe edildi. Daha sonra, 10 ml Fraser Broth içeren tüplere örnekten 0.1 ml aktarıldı ve 35°C'de 48 saat ikinci zenginleştirmesi gerçekleştirildi. Daha sonra birinci zenginleştirmeden ve ikinci zenginleştirmeden Oxford Agara inoklasyon yapıldı ve 30°C'de ve 35°C'de 24–48 saat inkübasyona tabii tutuldu. Yirmi dört saatlik inkübasyondaki küçük, grimsi ve siyah zonlu koloniler, 48 saatlik inkübasyondan sonra ise yaklaşık 2 mm çapındaki ortası çökmüş, siyah zonlu parlak yeşil koloniler, *L. monocytogenes* açısından şüpheli olarak kabul edildi<sup>4</sup>. Bu şüpheli koloniler, *Listeria* türlerinin identifikasyonu amacıyla, Murtiningsih ve Cox'a göre<sup>19</sup> Microbact™ 12L (MB1128A, Oxoid, Haemakim/İzmir) test sistemi kullanılarak

37°C'de 4–24 saat inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon periyodu boyunca dehidre besi yerlerinde oluşan renk değişimi kontrol edildi. Pozitif kontrol olarak *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 kullanıldı (Hemakim/İzmir).

## Bulgular

Yapılan laboratuvar muayeneleri sonucunda 58 adet numunenin 7 tanesinde katalaz pozitif, oksidaz negatif, Gram pozitif şüpheli koloni tespit edilmiş olup bu koloniler Microbact™ 12L kit ile teste tabii tutuldu. Her bir kuyucuğa şüpheli koloniden geçilip 37°C'de 4–24 saat inkübasyona bırakılmasından sonra bilgisayar destekli identifikasyon programında Microbact test puanları değerlendirildi. Sonuç olarak bu 7 izolat içerisinde 2 adedi *L. grayii* (6641) ve *L. ivanovii* (6635 puan) olarak identifiye edilmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan *L. monocytogenes* ATCC 19118 ise, Microbact testte 4547 puan almış olup bu puan %99,92 olasılıkla *L. monocytogenes* olduğu karşılığına gelmekte ve bu suş eskulin (+), mannitol (-), ksiloz (-), (4puan) arabitol (+), riboz (-), ramnoz (+), (5 puan) trehaloz (+), tagatoz (-), Glikoz-1-Fosfat (-), (4 puan) Metil-D-Glikoz (+), Metil-D-Mannoz (+) ve hemoliz (+) (7 puan) olup 4547 puan almıştır. Diğer suşların da değerlendirilmesi bu şekilde yapılmıştır.

## Tartışma ve Sonuç

*L. monocytogenes*'in doğada oldukça yaygın olarak bulunduğu ve fırsatçı bir patojen olup her ne kadar gıda enfeksiyon görülme sıklığı çok yüksek olmasa da bağırsıklık sistemi baskılanmış kişilerde, hamilelerde, yeni doğanlar ile yaşlılarda yüksek mortalite oranı ile (yaklaşık %75) seyretmekte olduğu bilinmektedir<sup>27</sup>. Starter kültür kullanılmadan üretilmiş bu peynirlerden yapılan mikrobiyolojik muayeneler sonucunda bir numunede %37,99 ihtimalle *L. monocytogenes* olduğu tespit edilmiştir. Bu puan (6063), aynı zamanda %45,12 gibi bir oranla *L. grayii* açısından da bir olasılık arz etmektedir. Aydın ili ve çevresinde satışa sunulan bu peynirlerde düşük bir oranda da olsa *L. monocytogenes* açısından bir risk bulunmaktadır.

Ülkemizde yapılan çalışmalardan Gülmez ve Güven (14), *L. monocytogenes*'i beyaz peynir ve Çeçil peynirlerinden sırasıyla %15 ve %7,5 oranlarında Çetinkaya ve ark.<sup>9</sup> ise taze peynirlerden yaklaşık %2 oranında tespit etmiş-

lerdir. Aslantaş ve Yıldız<sup>6</sup> ise, çiğ süttten izole ettikleri 14 adet *Listeria* suşundan (%0.93), 3 tanesini *L. monocytogenes*, 3 tanesini *L. grayi*, 5 tanesini *L. welshimeri*, 2 tanesini *L. murrayi* ve 1 tanesini de *L. innocua* olarak tanımlamışlardır. Aygün ve Pehlivanlar<sup>7</sup> ise çiğ süttten 1'er adet (%2.12) *L. grayi* ve *L. ivanovii*; beyaz peynir örneklerinden ise 2'şer adet (%2.35) *L. monocytogenes* ve *L. seeligeri* ile 3'er adet (%3.52) *L. ivanovii* ve *L. innocua* tespit etmişlerdir. Sağun ve ark. İse<sup>22</sup> 6 çiğ süt örneğinde (%2.40) *Listeria* spp saptarken bunun 3 tanesini *L. monocytogenes* ve diğerlerini (%1.20) *L. innocua*, *L. ivanovii* ve *L. welshimeri* oluşturmuş, otlı peynirlerden ise %3.93 oranında *L. monocytogenes* ve %0.39 oranında *L. ivanovii*, *L. innocua* ve *L. welshimeri* tespit etmişlerdir. Soyutemiz ve ark ise 100 çiğ süt örneğinin 3'ünde *L. monocytogenes* bulmuşlardır<sup>25</sup>. Erol ve Şireli<sup>11</sup>, Ankara bölgesinde çiğ ve pastörize süt örneklerinden sırası ile %1 ve %5 oranında *L. monocytogenes* tanımlamışlardır. Arslan ve Özdemir<sup>5</sup>, çeşitli pazarlardan topladıkları ev yapımı beyaz peynirlerin 13'er tanesinde (%9.2) *L. monocytogenes* ve *L. innocua*, %5.6 oranında *L. seeligeri*, %4.9 oranında *L. grayi*, %2.1 oranında *L. ivanovii* ve *L. welshimeri*'yi tanımlamışlardır. Çolak ve ark.<sup>10</sup>, tulum peynirlerinden *L. monocytogenes*'i 12 örnekte (%4.8) tespit etmişlerdir. *L. monocytogenes*'in tanımlanmasında microbact testi kullanan Akkaya ve Alisharlı<sup>1</sup>, Afyonkarahisar'da satışı sunulan beyaz peynir örneklerinden 6 tanesinde (%6) bu organizmayı tespit etmişlerdir. Gönülalan ve Gönülalan ise, Kayseri ilinde tüketilen sade dondurma örneklerin 3'ünde (%12) sadece *L. monocytogenes*, 1 tanesinde (%4) *L. monocytogenes* ve *L. ivanovii*, 1 tanesinde de (%4) *L. ivanovii* ve *L. grayi* tespit ederken meyveli dondurma örneklerinin 1 tanesinde (%4) sadece *L. monocytogenes*, 1 tanesinde (%4) *L. monocytogenes* ve *L. seeligeri* ve 1 tanesinde *L. monocytogenes* ile *L. grayi* belirlerken tanımlama aşamasında microbact testi kullanmışlardır<sup>13</sup>. Bunun dışında *L. monocytogenes*'in tanımlanmasında microbact testi kullanan çalışmalar bulunmaktadır<sup>2,3,8,21</sup>.

Çalışmamızda Aydın ili pazarlarında açıkta satılan bu peynirlerde halk sağlığını tehdit eden patojen mikroorganizmalardan *Listeria monocytogenes* izole edilmezken birer adet *L. grayii* ve *L. ivanovii* tanımlanmıştır. Bu bulgular ile diğer araştırmacıların bildirdiği değerler arasındaki farklılıklar peynir üretimin-

de kullanılan sütlerdeki farklı kontaminasyon düzeyleri, alışlagelmiş farklı peynir üretim teknikleri, semt pazarlarındaki farklı çevresel şartlar ve hijyenik uygulamalardan ileri gelmiş olabilir. Araştırma bulguları, Aydın ilinde tüketime sunulan starter kültür kullanılmadan geleneksel usullere göre üretilmiş köy peynirlerinin halk sağlığı açısından bir risk oluşturmadığını göstermektedir.

## Kaynaklar

1. Akkaya L., Alisharlı M., 2006. Afyonkarahisar'da tüketime sunulan peynirlerde *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* spp. varlığının belirlenmesi. YYU. Vet. Fak. Derg., 17, 87-91.
2. Akkaya L., Alisarlı M., Cetinkaya Z., Kara R., Telli R., 2008. Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7/O157, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in beef slaughterhouse environments, equipment and workers. J. Muscle foods, 19, 261-274.
3. Akkaya L., Telli R., Sagdic O., 2009. Growth-death kinetics of *Listeria monocytogenes* in strained yogurt. Int. J. Food Prop., 12, 705-712.
4. Anonim, TS EN ISO 11290-1, 1997. Gıda ve yem maddelerinin mikrobiyolojisi- *Listeria monocytogenes*'in aranması ve sayımı metodu bölüm 1: Arama metodu
5. Arslan S., Özdemir F., 2008. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* spp. in homemade white cheese. Food Control, 19, 360-363.
6. Aslantaş Ö., Yıldız P., 2003. Isolation of *Listeria monocytogenes* from raw milk in Kars. Fırat Univ. Vet. Derg., 17, 11-15.
7. Aygün O., Pehlivanlar S., 2006. *Listeria* spp. in the raw milk and dairy products in Antakya, Turkey. Food Control, 17, 676-679.
8. Cornelius A.J., Hudson J.A., Wong T.L., 2008. Enumeration and growth of naturally occurring *Listeria* spp. in unpackaged ham. Food Microbiol, 25, 407-412.
9. Çetinkaya B., Ertaş H.B., Muz A., 1999. Isolation of *Listeria* species in milk products. Fırat Univ. Vet. Derg., 13, 21-25.
10. Çolak H., Hampikyan H., Bingöl E.B., Ulusoy B., 2007. Prevalence of *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. in tulum cheese. Food Control, 18, 576-579.
11. Erol I., Şireli, U.T., 2002. Occurrence and contamination levels of *Listeria* spp. in milk and dairy products in Ankara. FEMS Symposium on the Versatility of *Listeria* Species. 10-11 October, Izmir, Turkey.
12. Graves L.M., Helsel L.O., Steigerwalt A.G., Morey R.E., Daneshvar M.I., Roof S.E., Orsi

- R.H., Fortes E.D., Milillo S.R., den Bakker H.C., Wiedmann M., Swaminathan B., Sauders B.D., 2010. *Listeria marthii* sp nov., isolated from the natural environment, Finger Lakes National Forest. *Int. J. Syst. Evol. Micr.*, 60, 1280–1288.
13. Gönülalan S., Gönülalan Z., 2010. Kayseri ilinde satışa sunulan dondurmaların *Listeria monocytogenes* varlığı yönünden incelenmesi. *Erciyes Univ. Sağ. Bil. Derg.*, 19, 191–195.
  14. Gülmez M., Güven A., 2001. Investigation of *Campylobacter*, *Salmonella* and *Listeria* spp. from Turkish white and Çeçil cheese. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 7, 155–161.
  15. Herman L., De Block J., Moermans R., 1995. Direct detection of *Listeria monocytogenes* in 25 milliliters of raw milk by a two-step PCR with nested primers. *Appl. Environ. Microb.*, 61, 817–819.
  16. Kells J., Gilmour A., 2004. Incidence of *Listeria monocytogenes* in two milk processing environments and assessment of *Listeria monocytogenes* blood agar for isolation. *Int. J. Food Microbiol.*, 91, 167–174.
  17. Makino S.I., Kawamoto K., Takeshi K., Okada Y., Yamasaki M., Yamamoto S., Yamamoto S., Igimi S., 2005. An outbreak of food-borne listeriosis due to cheese in Japan, during 2001. *Int. J. Food Microbiol.*, 104, 189–196.
  18. Manfreda G., De Cesare A., Stella S., Cozzi M., Cantoni C., 2005. Occurrence and ribotypes of *Listeria monocytogenes* in Gorgonzolla cheese. *Int. J. Food Microbiol.*, 102, 287–293.
  19. Murtiningsih, Cox J.M., 1997. Evaluation of the Serobact™ and Microbact™ systems for the detection and identification of *Listeria* spp. *Food Control*, 8 (4), 205–210.
  20. Pinner R.W., Schuchat A., Swaminathan B., Hayes P.S., Deaver K.A., Weaver R.E., Plikaytis B.D., Reeves M., Broome C.V., Wenger J.D., 1992. Role of foods in sporadic listeriosis. II. Microbiologic and epidemiologic investigation. The *Listeria* Study Group. *J. Am. Med. Assoc.*, 267, 2046–2050.
  21. Osaili T.M., Alaboudi A.R., Nesiari E.A., 2011. Prevalence of *Listeria* spp. and antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from raw chicken and ready-to-eat chicken products in Jordan. *Food Control*, 22, 586–590.
  22. Sagun E., Sancak Y.C., Isleyici O., Ekici K., 2001. The presence and prevalence of *Listeria* species in milk and herby cheese in and around Van. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 25, 15–19.
  23. Schlech W.F., 1997. *Listeria* gastroenteritis – old syndrome, new pathogen. *New Engl. J. Med.*, 336, 130–132.
  24. Siegman I.Y., Levin R., Weinberger M., Golan Y., Schwartz D., Samra Z., Konigsberger H., Yinnon A., Rahav G., Keller N., Bisharat N., Karpuch J., Finkelstein R., Alkan M., Landau Z., Novikov J., Hassin D., Rudnicki C., Kitzes R., Ovadia S., Shimoni Z., Lang R., Shohat T., 2002. *Listeria monocytogenes* infection in Israel and review of cases worldwide. *Emerg. Infect. Dis.*, 8, 305–310.
  25. Soyutemiz E., Cetinkaya F., Ozakın C., Gedikoglu, S., 2001. Presence of *Listeria monocytogenes* in raw milk samples from West Anatolia. *Turk. J. Infect.*, 15, 5–9.
  26. Swaminathan B., Hayes P.S., Przybyszewski V.A., Plikaytis B.D., 1988. Evaluation of enrichment and plating media for isolating *Listeria monocytogenes*. *J. Assoc. Of Anal. Chem.*, 71, 664–668.
  27. Vazquez B.J.A., Kuhn M., Berche P., Chakraborty T., Dominguez B.G., Goebel W., Gonzalez Z.B., Wehlan J., Kreft J., 2001. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clin. Microbiol. Rev.*, 14, 584–640.
  28. Vela A., Fernandez G.J., Latre M., Rodriguez A., Dominguez L., Moreno M., 2001. Antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from meningoencephalitis in sheep. *Int. J. Antimicrob. Ag.*, 17, 215–22.