

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GEBZE BÖLGESİNDE TOPLANAN KIYMA
ÖRNEKLERİNDE SALMONELLA
ARANMASI

Tamer GÖK
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

GEBZE
2003

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GEBZE BÖLGESİNDEN ELDE EDİLEN
KIYMA ÖRNEKLERİNDE SALMONELLA
VARLIĞININ SAPTANMASI

Tamer GÖK
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİMDALİ

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. İ. Yavuz SEZEN

GEBZE
2003

ÖZET

Bu çalışmada Kocaeli ili Gebze ilçesinde muhtelif yerlerden alınan kıyma örneklerinde gıdalarda, halk sağlığı açısından gıdalarda bulunmaması gereken *Salmonella* varlığı araştırılmıştır. Çalışmada numunelerde bulunan diğer **Enterobacteriaceae** familyasına ait bakterilerinde identifikasyonu yapılmıştır.

Çalışmanın laboratuvar çalışması Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapılmıştır.

Araştırma sonuçlarına göre halk tarafından en çok rağbet edilen noktalardan alınan 10 numunede *Salmonella* varlığına rastlanmamıştır. Ancak yapılan identifikasyon çalışmaları sonucunda 3 örnekte *E.coli* (%30), 4 örnekte *Shigella* (%40), 5 örnekte *Hafnia alvei* (%50) tespit edilmiştir. İki örnekte ise üreme olmamıştır.

SUMMARY

Salmonella is a harmful bacteria for people healthy. In this research, salmonella was searched in mince simple. And also, bacteria in Enterobacteriaceae family were identified in samples of this research.

The experimental parts of this research were examined Laboratory of Biology Department in Gebze Enstitute of Technology.

According to the results of this research, in 10 ten samples which were taken from butchers where preferred more by people were searched.

In these samples salmonella wasn't found, in 3 samples E. Coli (%30), in 4 samples Shigella (%40), in 5 samples Hafnia alvei (%50) were identified. In any bacteria wasn't isolated from 2 samples.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iv
SUMMARY	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	4
2.1. Mikrobiyolojik Özellikleri	4
2.2. Bakteriler	7
2.2.1. Salmonella	7
2.2.2. Escherichia coli	9
2.2.3. Shigella	11
2.2.4. Staphlococcus aureus	11
2.2.5. Hafnia alvei	12
2.2.6. Kıymalarda Bulunması Muhtemel Diğer Mikroorganizmalar	12
3. MATERYAL VE METOD	13
3.1. Materyal	13
3.1.1. Kullanılan Kütür Besiyerleri ve Çözeltiler	13
3.1.2. Araçlar	13
3.1.3. Cam Malzemeler	14
3.2. Metod	14
3.2.1. Metodun Kullanım Alanı	14
3.2.2. Metodun Prensibi	14
3.3. Uygulama	15
3.3.1. Özenleştirme	15
3.3.2. Selektif Zenginleştirme	16
3.3.3. Selektif Katı Besiyerine Ekim	17
3.3.4. Biyokimyasal İdentifikasyon	17
3.3.4.1. TSI Agar reaksiyon Testi	18

3.3.4.2. LIA Agar Reaksiyon Testi	18
3.3.4.3. Sitrat Testi	19
3.3.4.4. Metil Red Testi	19
3.3.4.5. Voges Proskauer Testi	20
4. BULGULAR	21
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	26
KAYNAKLAR	33
ÖZGEÇMİŞ	37

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Kıymalarda Bulunan Aminoasit Yüzdeleri	4
2.2. Elzem Aminoasitlerin Çeşitli Proteinlerde Bulunma Oranları	5
2.3. Kıymanın Bileşenleri	6
2.4. Kıyma Örnekleri İçin Patojen Mikrobiyolojik Kriterler	7
2.5. Tipik Salmonella Kolonilerinin Biyokimyasal Test Sonuçları	9
3.1. TSI Agar'daki Reaksiyonlar	18
3.2. LIA Agar'daki Reaksiyonlar	19
3.3. Sitrat, MR ve VP testlerinde Oluşan Reaksiyonlar	20
4.1. TSI Agar Tanı Testleri Sonuçları	21
4.2. LIA Agar Tanı Testleri Sonuçları	23
4.3. Sitrat, MR ve VP Testi Sonuçları	25
5.1. SSA Agar İçeriği	27
5.2. Tipik Kolonilerin Gösterdikleri Biyokimyasal Reaksiyonlar	30
5.3. Tipik Kolonilerin Verdikleri Biyokimyasal Reaksiyonlar	31

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

<u>Fotoğraf</u>	<u>Sayfa</u>
5.1. SSA Üzerindeki Şüpheli Kolonilerden Bazıları	30

1.GİRİŞ

Mikrobiyoloji canlıların incelendiği bir bilim dalıdır. Mikroorganizmalar mikroskobik canlılar olup doğada yaygın olarak bulunurlar. Sterilize edilmedikçe her gıda maddesi belli sayıda mikroorganizma içermekte ve içerdikleri besin elementleri mikrobiyal gelişmeyi teşvik ederek kolaylıkla bozulmalarına neden olmaktadır.

Gıda bozulmalarında en önemli etkenin mikroorganizmalar olduğu belirtilmektedir. Öte yandan mikroorganizmaların çok yararlı rolleri de bulunmaktadır. Çeşitli kompleks organik maddelerin parçalanmasında rol oynayarak toprağa tekrar besin elementi olarak dönüşümlerini sağladıkları gibi ekmek, yoğurt, peynir v.b. çeşitli fermente gıdalar eldesinde kullanılarak gerek gıda muhafazasında gerekse besin değeri yüksek ürünler elde edilmesinde mikroorganizmalardan yararlanılmaktadır (Gaman and Sherrington, 1981).

Et ve et ürünlerinde mikroflora; gıda bozulmaları, gıda kaynaklı hastalık ve zehirlenmeler ile çeşitli gıda maddelerinin (sucuk, pastırma v.b.) üretimi olmak üzere üç yönden önem taşır. Gıda kaynaklı enfeksiyon ve entoksikasyonlarda et ve süt ürünlerinin ilk sırayı aldıkları belirlenmiştir.

Eğer yeterli kontroller yapılmassa pasif hastalıklar da dahil pek çok hastalığın et ve kıyma ile insanlara geçmesi mümkündür. Antraks, sığır tüberkülozu, salmonellozis, shigellozis, C. perfringens zehirlenmesi, leptospozis, pastörellozis, Q humması, trişinoz, ekinokokkozis, tenyazis v.b. bunlardan bazılarıdır (Karapınar, 1990).

Normal koşullarda, sağlıklı bir etin iç dokularında pek az veya hiç mikroorganizma bulunmamalıdır. Ancak etler kesim, yüzme, parçalama, taşıma ve depolama sırasında önemli ölçüde dış kaynaklı mikrobiyal kontaminasyona maruz kalırlar. İşleme, paketlenme, nakliye, depolama ve satış kontrolleri gıda güvenliğinde önemli rol oynar. Özetle mikrobiyolojik kontroller; sağlık, kalite ve ekonomik yararlar bakımından bir sigorta güvencesi taşır (Alperden, 1993).

Toplum beslenmesinde büyük bir yeri olan sığır kıyması, yapısal özellikleri ve hazırlama teknolojisi bakımından, çeşitli bakterilerin bulaşmasına ve bunların çoğalmasına uygun ortam oluşturan taze et ürünlerinin en başta gelenidir. Kıymaların mikrobiyolojik içeriğinin, kıymaların hazırlandığı karkasların mikroorganizma yükü yanında, üretim sırasında uygulanan teknolojik ve hijyenik yöntemlere de sıkıca bağlıdır (Mates, 1983).

Etin oksidatif yolla ve kendi bünyesindeki doğal ve mikrobiyal enzim faaliyetleri sonucu bazı değişmelere uğramasına karşılık, ette meydana gelen esas bozulma, yani arzu edilen duyuşal özelliklerin kaybolması, mikroorganizmaların özellikle de bakterilerin faaliyetleri sonucu olmaktadır. Dolayısıyla kıymaların uygun olmayan koşullarda hazırlanması, saklanması ve pazarlanması telafisi mümkün olmayan bakteriyolojik bozulmalar ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Winslow, 1982).

Bu bozulmalar ekonomik kayıplara ilaveten kıymalara bulaşan patojen mikroorganizmalar uygun olmayan muhafaza ve pazarlama koşullarında çoğalarak halk sağlığını tehdit edebilmektedir. Kıymalardan kaynaklanan gıda zehirlenmeleri vakaları mevcut gıda zehirlenmeleri içinde oldukça yüksek bir yüzdeye sahiptir (Youssef at al, 1984).

Bugün gıda mikrobiyoloji alanında en çok tartışılan konulardan birisi de, büyük çoğunluğu son 10 – 12 yıl içinde ortaya konmuş yeni yöntemlerdir. Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerde farklı yöntemlerin uygulanması ve farklı kurumlar tarafından (T. S. E., Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'na bağlı İl Kontrol Laboratuvarları, üniversite ve belediyelere bağlı laboratuvarlar) farklı analiz yöntemleri kullanılması sonucunda önemli sorunlar çıkmaktadır (Halkun ve ark., 1994).

Standart kavramı, bir otorite tarafından, ağırlık, içerik, değer ve kalite ölçmek için saptanan bir kaide olarak tanımlanabilir. Türkiye'de her türlü madde ve mamülün üzerinde standart hazırlamak üzere görevlendirilmiş bulunan kanuni örgüt Türk Standartları Enstitüsü'dür (Uluöz, 1990).

Kıymalar üzerinde yapılacak bir mikrobiyolojik çalışmada en önemli grup olarak Enterobacteriaceae familyasının üyeleri karşımıza çıkmaktadır. Et ve et ürünlerinde kalite kontrolü yapan mevcut standartlar, bunlardan özellikle E. Coli ve Salmonella'nın gıdalarda bulunmasına izin vermez (Halkun ve ark., 1994).

Bu çalışmada, Gebze bölgesinde satılan kıymalarda, kirliliğin birinci derecede belirteci sayılan ve et ürünlerinde bulunmaması arzu edilen Salmonella bakterileri araştırılmıştır. Diğer Enterobacteriaceae familyasına ait türler de tespit edilmiştir. Çalışmada Türk Standartları Enstitüsü'nün T.S.3446 sayılı standardı referans metod olarak alınmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Mikrobiyolojik Özellikler

Et, organizmada sarf edilen proteinleri % 100'e yakın bir oranda karşılayacak ölçüde proteinlere sahiptir. Sığır eti bütün önemli esansiyel aminoasitleri içerir. Bu aminoasitlerin sığır etinde, dolayısı ile kıymada bulunma oranları *Çizelge 2.1.*' deki gibidir.

Çizelge 2.1. Kıymalarda Bulunan Aminoasit Yüzdeleri

Arginin	%7.87
Histidin	%1.98
Leusin	%9.37
Lizin	%10.0
Metionin	%2.75
Fenil alanin	%4.58
Treonin	%5.80
Valin	%5.85
İzoleusin	%6.50

Gıdalarda fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörlerle meydana gelebilen bozulmalar, üründe kalite ve dolaylı olarak da ekonomik kayıplara yol açabildiği gibi, sağlık açısından çeşitli riskler doğurarak önemli sorunlar yaratabilir (Frazier and Westhoff, 1978).

Yaşam için elzem olan eksojen aminoasitleri esas almak üzere hayvansal proteinleri değerliliklerine göre *Çizelge 2.2.*' deki gibi sıralayabiliriz (İnal, 1992).

Çizelge 2.2. Elzem Aminoasitlerin Çeşitli Proteinlerde Bulunma Oranları

Serum	%76
Globin	%71
Balık Proteini	%63
Laktalbumin	%59
Et Proteini	%58

Fiziksel değişiklikler içinde donma, yanma, kuruma, basınç altında gelebilen olumsuzluklar sayılabilir. Kimyasal değişiklikler ise belirli koşullarda bitkisel ve hayvansal dokulardaki enzimatik değişimlerle oluşan kimyasal olaylar dizisidir. Biyolojik etkilerle gıdalarda meydana gelen değişimler, en önemli grubu oluşturmaktadır ki; böcekler, kemirgenler ve mikroorganizmaların istenmeyen faaliyetleri ile meydana gelmektedir. Mikroorganizmalarla oluşan enzimatik değişimler sonucu gıdaların koku ve aromalarında bozulmalar meydana gelebilir. Çevredeki bakteri, maya ve küflerden oluşan mikroorganizmalar ürettikleri toksin veya diğer metabolitleri ile de etleri sağlık ve kalite açısından riskli hale getirir (Weisser et al., 1971).

Hayvan derisindeki mikroorganizmaların sayısı 10^9 /cm² düzeyindedir. Bu sayı normal deri florasındaki mikroorganizmalar (Stafilokoklar, mikrokoklar, pseudomonaslar, maya ve küfler) yanında toprak orjinli mikroorganizmaları da içerir. Hijyen koşullara uymak şartı ile sığır etlerinde aerobik bakteri sayısı 10^3 – 10^5 adet/cm² , psikrotrof bakteri sayısı 10^2 adet/cm² ve koliform sayısı 10 – 10^2 adet/cm² arasında değişir.

Hijyenik olarak elde edilen etlerde patojen mikroorganizma sayısı çok düşüktür ve mikroflora saprofit mikroorganizmalardan oluşur. Bunlar Pseudomonas, Acinetobacter, Aeromonas, Alcaligenes, Flavobacterium, Moraxella, Micrococcus, Staphylococcus'dur. Fekal streptokoklar, bacillus türleri, laktik asit bakterileri düşük sayılarda bulunur. Maya ve küfler de taze kıymada bulunabilir. Kıymalarda Salmonella, E. coli, Staphylococcus aureus, Yersinia enterocolitica, Clostridium perfringens ve zaman zaman Clostridium botulinum gıda zehirlenmesi yapabilir.

Fekal koliformlar etlerde sık sık rastlanan organizmalar olup dışkı kontaminasyonunu gösterir. Ancak bu organizmalar et ve mezbaha materyalinde hızla çoğaldıklarından bunların etteki miktarı güvenilir fekal kontaminasyonu göstermez.

Etler buzdolabındaki koşullarda muhafaza edildiklerinde mezofilik bakterilerin üremesi yavaşlar ya da tamamen durur. Bu aşamada psikrofil bakteriler üreyerek dominant hale gelir ve bozulmayı yüzeyde kayganlık ve kötü koku şeklinde ortaya çıkarır. Psikrofil bakteriler halk sağlığına zararlı değildirler. Etin raf ömrü ile başlangıçtaki bakteri sayısı arasında direkt ilişki mevcuttur. Kesimi yapılan hayvanların barsakları ve dışkıları bakteriyel kontaminasyonun temel kaynağını teşkil eder. Ayrıca deri kontaminasyonunun önemini unutmamak gerekir. Yine lenf düğümleri hastalık etmeni herhangi bir bakteriyi içerebilir (Karapınar, 1990).

Kıymaların yağ içeriği ve Türk gıda Kodeksi'nin Türkiye'de standart kabul ettiği mikrobiyolojik kriterlerden bazıları *Çizelge 2.3.* ve *Çizelge 2.4'*te verilmiştir.

Çizelge 2.3. Kıymanın Bileşenleri

<i>Kıyma Çeşidi</i>	<i>Yağ Yüzdesi</i>	<i>Kolajen/Et Protein Oranı</i>
Yağsız Kıyma	$\leq \%7$	≤ 12
Orta Yağlı Kıyma	$\leq \%20$	≤ 15
Yağlı Kıyma	$\leq \%25$	≤ 15
Çok Yağlı Kıyma	$\leq \%35$	≤ 18

Çizelge 2.4. Kıyma Örnekleri İçin Patojen Mikrobiyolojik Kriterler

	M	M*
Aerobik mezofil bakteri (ctu/g) n=5 c=2	5×10^5	5×10^6
Escherichia coli O 157 h ₇ (ctu/g) n=5 c=0	Bulunmamalı	
Staphylococcus aureus (ctu/g) n=5 c=2	10^2	5×10^3
Salmonella (ctu/g) n=5 c=0	25 g'da bulunmamalı	

* Tabloda verilen değer katı besiyeri için olup, sıvı besiyerinde bu değer 30M olarak alınır

n: Deney numune sayısı

c: "m" ile "M" arasındaki sayıda mikroorganizma ihtiva eden en fazla deney numune sayısı

m: (n-c) sayıdaki deney numunesinin 1 gramında bulunabilecek kabul edilebilir en fazla mikroorganizma sayısı

M: "c" sayıdaki deney numunesinin 1 gramında bulunabilecek kabul edilebilir en fazla mikroorganizma sayısı (Türk gıda kodeksi, 2000).

2.2. Bakteriler

2.2.1. Salmonella

Salmonella cinsinin içinde yalnız insanlarda, yalnız hayvanlarda ve hem insanlarda hem de hayvanlarda hastalık yapanlar olmak üzere bir çok türü bulunmaktadır. Bunlardan ilk kez Salmonella cholerae suis 1886 yılında Salmon tarafından izole edilmiş, sonraları ise bu cinse Salmonella adı verilmiştir. Bu cins içinde 2000 kadar serotip tanımlanmıştır (Bekar, 1991).

Salmonella, Enterobacteriaceae familyasının üyesi olup genellikle koliform grup bakteriler tarafından yoğun düzeyde kontamine olmuş gıdalarda rastlanır. Klasik bir gıda enfeksiyonu olarak bilinen salmonellozis etmeni olan salmonellaların gıda mikrobiyolojisindeki önemi büyüktür. Tifo, paratifo ve Salmonella'nın birlikte neden olduğu ölümler Clostridium ölümlerinden daha fazladır (Var, 1993).

Salmonellozis'e neden olacak en düşük kontaminasyon dozu 10^5 - 10^6 adet \ gram canlı hücre olarak belirlenmiştir. Salmonellozis'de hastalığın ortaya çıkması için belirli bir sayıda bakterinin mideyi aşarak bağırsaklara ulaşması, pH'sı 1-2 kadar olan mideden salmonellaların geçmesi için ise çok sayıda bakterinin gıda ile

birlikte alınması gerekmektedir. Diğer taraftan Salmonella, gıda maddelerinde çok düşük düzeyde bulunsa bile bunlar riskli gıdalar olarak kabul edilir ve gıda maddelerinde Salmonella bulunmasına izin verilmez (Tunail, 1994).

Hastalığın inkübasyon süresi 12 – 36 saat arasında değişmekte karın ağrısı, diyare, kusma, baş ağrısı ve ateş gibi belirtiler göstermektedir. Hastalık 8 gün (bazen 14 gün) sürebilmektedir. İki tip taşıyıcısı vardır. Sağlıklı taşıyıcılar herhangi bir hastalık belirtisi göstermezler. Hastalığı geçirmiş taşıyıcılar ise aylar, hatta yıllarca bakteriyi taşıyabilirler (Gaman and Sherrington, 1996).

Salmonella'nın en çok bulunduğu gıdaların başında kümes hayvanları etleri, kıyma, sosler, dondurma, krema v.b. gelir (Göktan, 1990).

Salmonella bakterileri, peritrik flagellaları ile hareketli çubuk şeklinde bakterilerdir. Hareketsiz mutantları olabilir. Salmonella gallinarum ve S. pullorum dışındakiler hareketlidir. Kolonileri genellikle 2 – 4 mm çapındadır. Birçok suş özel gelişme faktörleri olmaksızın tanımlanan ortamda gelişir ve sitratı karbon kaynağı olarak kullanabilirler. Birçok suş aerojeniktir. Fakat S. typhi, gaz oluşturmayan önemli bir istisnadır (Anonymous, 1986; Bekar, 1991).

Salmonella bakterileri aerob ve fakültatif anaerobtur. Spor oluşturmazlar. Basit besiyerlerinde ürerler. Optimal üreme sıcaklıkları 37°C'dir. En uygun gelişme pH'sı 7.4'tür. Sıvı besiyerlerinde homojen bulanıklık yaparak ürerler ve birkaç günlük kültürlerinde mikroorganizmaların dibe çökmesinden dolayı tortu teşkil eder. Besiyerinin üst kısmı ise berrak kalır.

Bütün Salmonella'lar glikozu fermente eder ve bazıları istisna olmak üzere gaz oluşturmazlar. Salmonellalar indol oluşturmazlar. Üreaz negatiftir. β -galaktozidaz enzimine sahip değildirler. Metil red pozitif, Voges – proskauer reaksiyonu negatiftir. Fenilalanin deaminaz ve triptofan deaminaz enzimine sahip değildirler. H₂S reaksiyonu pozitif. Bazı istisnalar dışında nitratı nitrite redükte ederler. Salmonella bakterilerinin büyük çoğunluğu jelatini eritmez (Bekar, 1991).

Çizelge 2.5. Tipik Salmonella Kolonilerinin Biyokimyasal Test Sonuçları

TEST	KULLANILAN BESİ YERİ	BESİYERİNDEKİ DEĞİŞİMLER	SONUÇ
TSI Agar Reaksiyon Testleri	BesiYeri		
Laktoz'dan Asit Oluşumu	TSI Agar	Yüzey Kırmızı	Negatif
Sakkaroz'dan Asit Oluşumu	TSI Agar	Yüzey Kırmızı	Negatif
Glikoz'dan Gaz Oluşumu	TSI Agar	Besiyerinde gaz yarıkları	Pozitif
H ₂ S Oluşumu	TSI Agar	Dipte kararma	Pozitif
Sitrat Kullanımı	Simon's Sitrat Agar	Besiyeri mavi	Pozitif
Glikoz'dan Asetoin Kullanımı	Violet Red Bile Agar	Değişme yok	Negatif

Et ve et ürünlerinde en çok ve öncelikli araştırılacak olan bakteri Salmonella'dır (Köse, 1993). Salmonellanın klasik yöntemle tayininde önzenginleştirme, selektif zenginleştirme, selektif katı besiyerine sürme, biyokimyasal testler ve teyit aşamaları vardır. Bu tayin 7 gün sürmektedir (Hughes ve ark., 1987). Gıdalarda düşük sayılarda bulunabilecek Salmonella'ların ciddi sağlık problemleri yaratacağı günümüzde iyi bilinmektedir. Doğal olarak bulaşmış gıdalarda, Salmonella klinik materyale göre çok düşük sayıda, genellikle 25 gram'da 1'den az bulunmaktadır. Ayrıca bu bakteri çoğu zaman dondurma ve ısıtma gibi işlemlerle strese uğramış diğer bir deyişle zayıflamış ve yaralanmıştır (Gökten ve Tuncel, 1987).

2.2.2. Escherichia coli

E. coli, bütün dünyada üzerinde en çok çalışılan canlı türlerinden biridir. İlk kez 1885 yılında Theodor Escherich tarafından izole edilmiştir. Önemi, sadece gıda mikrobiyolojisinde lokal kirliliğin belirlenmesinden kaynaklanmamaktadır. Bunun yanında genetik yapısı en iyi bilinen canlı türü olmasından dolayı genetik araştırmalarda kullanılır (Hofstra ve Veld, 1988).

Enterobacter familyasında bulunan bu tür 2 – 6 µm boyunda olup, hafif hareketli, genelde hareketsiz, gram negatif çomakçıklar biçiminde bakterilerdir. Endospor oluşturmazlar, fakültatif anaerobtur. Genel kullanım besiyerinde kolaylıkla üreyebilirler. Fermantasyon metabolizmasına sahip olup glikozu parçalayarak asit ve gaz oluştururlar. Oksidaz olumlu ve katalaz olumsuzdurlar.

Genellikle etraflarında bulunan kirpikleri aracılığı ile hareket yeteneğine sahip olup hareketleri yavaştır. Hatta hareketsiz görünebilirler. Bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar. Buyyon ve jeloz besi yerlerinde kolayca ürerler. Optimal üreme ısı 37°C 'dir. 15°C – 45°C derecelerde üreyebilirler. Özellikle 44°C de üreyebilmeleri benzer bazı bakterilerden ayırt edici bir özelliktir. Ortalama pH 7,2'de ürerler. Buyyonda homojen bulanıklık yaparlar. Jelozlar hafif kabarık, düzgün, 1-2 mm çapında parlak S tipi koloniler oluştururlar (Cingilli, 1997).

E. coli oldukça dirençli bir bakteridir. 60°C ısıda 3 dakika, oda sıcaklığında uygun ortamda olmak koşulu ile uzun süre canlı kalabilir. Soğuğa karşı dirençlidir. Dezenfektanlara karşı dirençsizdir (Beka, 1991).

Enterotoksijenik E. coli gelişmekte olan ülkelerde, infant ve turistik ishallerin başlıca nedenleri arasında sayılmaktadır. Klinik tablo; basit rahatsızlık şeklinde olabileceği gibi, bol sulu, kolera benzeri bir ishal ile de seyredebilir. Bu takdirde, özellikle çocuklarda ciddi dehidratasyona neden olabilmektedir. Enfektif dozun 10^8 bakteri olduğu gösterilmiştir. Bakteri önce kolonize olur, sonra toksinleri salgılar. Her iki olayda da plazmid kontrolündedir (Gedikoğlu, 1994).

E. coli'nin bazı suşları laktozu 24 saatten daha fazla bir sürede fermente ederler. Bazı nadir mutantlar hariç çok aktif bir β-galaktozidaz'a sahiptirler. Mannitol, indol ve metil red testleri (+), adonitol, inositol, VP, sitrat, H₂S, üreaz, jelatin testleri (-)'dir (Bekar, 1991).

Enterobacteriaceae familyasının koliform grubu içinde yer alır. Bir yerde E. coli'ye rastlanması orada doğrudan veya dolaylı olarak dışkı bulunduğunun

göstergesidir. Bu nedenle gıdalarda, içme ve kullanma sularında, deniz ve göllerde *E. coli* bulunmasına izin verilmez (Baumgart, 1990).

2.2.3. *Shigella*

Shigella gram (-) bir basildir. Fakültatif anaerobtur. Fakat aerob şartlarda daha iyi ürer. Bütün shigellalar glikozu fermente eder. Laktozu fermente etmezler. *Shigella* oldukça bulaşıcıdır. Enfeksiyon için 10^3 organizmadan daha azı yeterlidir (Şimşek, 1993).

Shigella normal florada bulunmaz ve kesin patojen etki gösterir. Hareketsiz olmaları ile *Salmonella* ve diğer enterik bakterilerden ayrılırlar. Besiyerlerinde şeffaf koloniler yaparlar. *Shigella* yine diğer enterik bakterilerden farklı olarak şekeri fermente ederek gaz oluşturmaz. Yalnızca asit oluşturur. Temiz sularda uzun süre yaşayabilirler. Kirli sularda ise fajların etkisi ile kısa sürede yok olurlar.

2.2.4. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus fakültatif aerobik, spor oluşturmayan, gram pozitif, mikroskop altında üzüm salkımı gibi görülen bakteridir. Isıya dayanıklı toksin oluştururlar. Bakteri ısıtma işlemleriyle kolaylıkla tahrip edilirken, toksin 100°C 'de 30 dak. aktivitesini koruyabilmektedir. Kusma, mide krampları, ishal ve karın ağrısı şeklindeki zehirlenme belirtileri 2-6 saat arasında ortaya çıkmakta, 6-24 saat sürmektedir. İnsanların %70'inin boğaz ve burunlarında *Staphylococcus* bulunduğu, buradan kolaylıkla eller olmak üzere cilde bulaştığı bilinmektedir. Gıda zehirlenmesine neden olan gıdalar arasında soğuk etler ve diğer et yemekleri, sütlu tatlılar kekler ilk sıralarda yer almaktadır (Sherrington, 1996).

Staphylococcus aureus bakterilerinin yaklaşık %50'sinin toksin üretme özelliği vardır (Forsythe and Hayes, 1998). Gıdalarda 10^5 adet/gram'ın üzerindeki sayıları toksin riski oluşturmaktadır (Jabloski and Bohach, 1997).

2.2.5. *Hafnia alvei*

Enterobacteriaceae familyasının genel özelliklerini taşırlar. İnsan, kuş ve hayvan bağırsak florasından başka dış çevrede de bulunurlar. İnsanlarda direnci kırılmış kişilerde fırsatçı patojen olarak çeşitli enfeksiyonlara neden olabilirler. Salmonella'ya benzer koloniler oluştururlar. Yaklaşık 1.0 µm en ve 2.0 – 5.0 µm boyunda, peritrih kirpikleri ile hareketli sporsuz, kapsülsüz çomakçıklardır. Gram (-)'dirler. Oksidaz olumsuz, katalaz olumlu olup tek karbon kaynağı olarak sitratı ve malonatı kullanırlar. H₂S oluşturmazlar. Jelatinazları yoktur. Glikozdan asit ve gaz oluştururlar. Sükroz ve laktoza etki etmezler. İndol olumsuz, metil kırmızısı olumlu, Voges – Prokauer 22°C de olumlu, 35°C de değişkendir. Sitrat 35°C de olumlu, 22°C de değişkendir

2.2.6. Kıymalarda Bulunması Muhtemel Diğer Mikroorganizmalar

Kıymalarda bulunması muhtemel bir diğer bakteri grubu koliform bakterileridir. Enterobacteriaceae içinde yer alan bu bakteriler aerob ve fakültatif anaerob, gram (-), spor oluşturmeyen ve 35°C de 48 saat içinde laktozdan gaz ve asit oluşturan tüm çubuk bakteriler anlaşılır. Bu tanım içinde E. coli Tip I ve Tip II, Enterobacter cloaceae, Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumonia ve Citrobacter freundii bakterileri koliform grubu oluşturur. Koliform grup içinde sadece E. coli doğrudan bağırsak kökenlidir. Grubun diğer üyeleri doğal olarak toprakta bulunabilir (Baumgart, 1990).

Fekal koliformlar, 44.5°C'de Escherichia Coli Broth ortamında laktozdan asit ve gaz oluşturan bakteriler olarak tanımlanır. Gıdalarda fekal koliformun indikatörü olarak E. coli bakterisi aranır (Harrigan, 1998).

Kıymalarda bulunan bir diğer bakteri ise sülfid indirgeyen, gram pozitif, endospor oluşturan, anaerobik çubuk şeklindeki Clostridium perfringens ve Clostridium botulinum'dur. Bu bakteriler gıdalarda hijyenik kalite değerlendirilmesinde kontaminasyon indikatörleri olarak kullanılır. Sayımlarında kullanılan kültür ortamları ve inkübasyon sıcaklıkları daha ziyade Clostridium perfringens üzerinde yoğunlaşmıştır (Poumeyrol and Billon, 1995).

3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Materyal

Bu çalışmada Kocaeli ili Gebze ilçesinde halk tarafından en çok rağbet gören marketlerden alınan kıyma örneklerinde Salmonella arandı. Çalışmada tespit edilen diğer mikroorganizmalar da tür bazında tanımlandı. Alınan numuneler Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda steril koşullarda incelendi.

3.1.1. Kullanılan Kültür Besiyerleri ve Çözeltiler

- a) Tamponlanmış Peptonlu Su
- b) Rappaport – Vassiliadis Broth (RVB)
- c) Selenite Cystine Broth (SCB)
- d) Salmonella Shigella Agar (SSA)
- e) Triple Sugar / Iron Agar (TSI)
- f) Lysine İron Agar (LIA)
- g) Nutrient Agar
- h) MR-VP Broth
- i) Simmons Citrate Agar
- j) Kovac's İndole Reagent
- k) Etanik Naftol Çözeltisi
- l) KOH çözeltisi
- m) Kreatin Çözeltisi
- n) Metil Red İndikatörü
- o) % 0,2 'lik Bromo Timol Mavisi

3.1.2. Araçlar

- a) **Steril Blender:** 15000 – 20000 devir / dakika hızla çalışan ve steril edilebilen özellikte blender.
- b) **Sterilizasyon Aleti (otoklav):** Cam malzemelerin sterilizasyonu için kullanılır.

- c) **İnkübatör:** Aşılannmış besi yerlerini inkübe etmek için kullanılır.
- d) **Su Banyosu:** Kimyasalları ve çözeltileri belirli sıcaklıkta tutmak için kullanılır.
- e) **Hassas terazi:** Et numunelerinin tartımında kullanılır.

3.1.3. Cam Malzemeler

- a) **Steril Kavanozlar:** Numunenin et marketlerinden alınıp laboratuara getirilmesinde ve peptonlu su ile önzenginleştirme işleminde kullanılır. 400 ml'lik kapaklı, otoklavda steril edilmiş cam kavanozlar kullanıldı.
- b) **Pipetler ve Ölçü Silindirleri:** Besiyerleri ve kimyasalların hazırlanmasında kullanılır.
- c) **Kültür Tüpleri ve Erlenler:** Besiyerlerinin sterilizasyonu ve saklanması için kullanılır.
- d) **İğne ve Halka Öze:** Bakteri kültürleri ekiminde kullanılır.
- e) **Petri Kutuları:** Besiyeri hazırlanmasında kullanılır.

3.2. Metod

Metod olarak Türk Standatları Enstitüsü'nün 3446 nolu standardı seçilmiştir. Kullanılan materyal ve tekniklerde standartlar dışına çıkılmamaya özen gösterilmiştir.

3.2.1. Metodun Kullanım Alanı

Bu metod bütün et ve et mamüllerinde kullanılabilir.

3.2.2. Metodun Prensibi

Salmonella bakterileri genellikle sayıca az, bazen tahrip edilmiş durumda ve çoğunlukla Enterobacteriaceae familyasının diğer üyelerinin çok sayıda olduğu yerlerde bulunduğundan tespiti için birbirini izleyen dört basamak gereklidir (TS 3446).

- a) Seçici Olmayan Sıvı Besiyerinde Ekim (Önzenginleştirme):** Numuneler selektif olmayan bir besiyeri içinde (Peptonlu Su) 37°C’de inkübe edilerek mikroorganizmaların önzenginleştirilmesi yapılır. Önzenginleştirme işlemi ile zarar görmüş hücrelerin onarılması ve mevcut hücrelerin de sayılarını artırılması amaçlanır (Akçelik ve ark., 2000).
- b) Selektif Sıvı Besiyerine Ekim (Selektif Zenginleştirme):** Önzenginleştirme işleminden sonra selektif zenginleştirme işlemi yapılır. Bunun için en çok kullanılan iki besiyeri SCB ve RVB’dur. İnkübasyon süresi sonunda kavanozlardan 1 ml alınarak 10 ml Rappaport – Vassiliadis Broth besiyeri üzerine ve yine 1 ml alınarak 10 ml Selenite Cystine Broth üzerine eklenerek inkübe edilir.
- c) Selektif Katı besiyerine Ekim (Saf Koloni Eldesi):** Zenginleştirme işleminden sonra Salmonella (ve diğer birkaç bakteri türünü) saf olarak elde edebilmek için selektif zenginleştirme işlemi yapılır. Ancak hiçbir besiyeri tam olarak selektif değildir. 18 – 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda selektif iki sıvı besiyerinden, selektif tanımlayıcı (diagnostik) katı besiyeri olan Salmonella Shigella Agar plaklarına ekim yapılır. Bu besi yerleri 37°C’de inkübasyona bırakılır.
- d) Biyokimyasal İdentifikasyon:** Elde edilen koloniler Nutrient Agar’a alınarak biyokimyasal testlere tabi tutulur.

3.3. Uygulama

3.3.1. Önzenginleştirme

- a)** Önzenginleştirme işlemi için tamponlanmış peptonlu su kullanıldı. Peptonlu su standartlara uygun olarak aseptik koşullarda hazırlandı.
- b)** Daha önceden Kocaeli ili, Gebze İlçesinde belirlenen 10 farklı noktadan Kasım-2002 tarihinde alınan 100 gr. kıyma örnekleri 400 ml’lik steril kavanozlara alındı.

Numuneler 30 dk. içinde Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na getirildi. Kavanozlar etiketlendi.

c) Kıyma numuneleri steril spatül kullanılarak hassas terazi ile 25 gr. olarak tartıldı ve blender kavanozuna koyuldu. Daha önceden hazırlanmış peptonlu sudan 225 ml. eklenerek 250 ml'lik çözelti mesarasyona tabi tutuldu. Mesarasyon işlemi 15000 – 20000 devir \ dakikada 1,5 – 2 dak. yapıldı.

d) İyice homojen hale gelen peptonlu su - kıyma karışımı 37⁰C de 20 saat inkübe edildi.

3.3.2. Selektif Zenginleştirme

a) Selektif zenginleştirme işleminde kontrol ve çalışmanın güvenilirliği açısından iki farklı sıvı besiyeri kullanılmıştır. Bunlar SCB (Selenite Cystine Broth–Acumedia⁷²⁸³) ve RVB (Rappaport–Vassiliadis Broth - Acumedia⁷⁵¹²)'dur. Besiyerleri standartlara uygun olarak laboratuvarda hazırlanmıştır.

b) Önzenginleştirme ile mikroorganizma içeriği artırılan karışımdan inkübasyon süresi sonunda 1 ml alınarak 10 ml Rappaport Vassiliadis Broth besiyerine iğne uçlu öze ile steril ortamda ekim yapıldı.

Yine aynı karışımdan 1 ml alınarak 10 ml Selenite Cystine Broth besiyerine iğne uçlu öze ile ekim yapıldı.

Ekimi yapılmış tüpler etiketlendi ve numune bilgileri yazıldı.

c) Homojenitenin sağlanması için 1 – 1,5 dk vortekslendi.

d) RVB besiyeri 42⁰C de 24 saat , SCB besi yeri ise 37⁰C de 48 saat inkübe edildi.

3.3.3. Selektif Katı Besiyerine Ekim

a) Üçüncü aşamada saf bakteri kolonileri elde etmek amacı ile katı besiyeri plaklarına ekim yapıldı. Selektif besiyeri olarak SSA (Salmonella Shigella Agar – Acumedia⁷¹⁵²) kullanılmıştır. Besiyeri standarda uygun hazır olarak alınmıştır.

b) RVB ve SCB besiyerlerinin inkübasyonundan sonra her bir besiyerinden SSA besiyerine halka uçlu öze ile steril koşullarda sürme işlemi yapıldı.

c) Plaklar ters çevrilerek 37°C’de 2 gün inkübe edildi.

3.3.4. Biyokimyasal İdentifikasyon

a) İki günlük inkübe işlemi sonunda plaklarda bakteri kolonileri elde edildi.

b) Elde edilen şüpheli koloniler (siyah, krem ve pembe renkli koloniler) teyit işlemi için seçildi.

c) Seçilmiş koloniler renksiz katıbesiyeri olan Nutrient Agar’a ekilir. Nutrient Agar (Merck^{1.05450}) laboratuarda standartlara uygun olarak hazırlanmıştır. Aşılınmış plaklar 37°C’de 20-24 saat inkübe edildi. Elde edilen saf ve renksiz koloniler biyokimyasal testler için seçildi.

Bu çalışmada beş farklı biyokimyasal test yapılarak çalışmanın güvenilirliği artırılmıştır. Bu testler;

- 1) TSI Agar Reaksiyon Testi
- 2) LIA Agar Reaksiyon Testi
- 3) Sitrat Testi
- 4) Metil Red (MR) Testi
- 5) Voges Proskaur Testi

Tipik Salmonella kolonilerinin yukarıdaki testlerde verdikleri reaksiyonlar *Çizelge 2.5’* de verilmiştir.

3.3.4.1. TSI Agar Reaksiyon Testi

a) Bu çalışmada TSI (Triple Sugar Iron Agar – Acumedia⁷¹⁶²) besiyeri kullanılmıştır. Daha önceden hazırlanan agarların yatık yüzeyine steril koşullarda öze ile sürme yapıp dip kısmına daldırma yapıldı. Tüpler etiketlenerek 37°C’de 1 ila 2 gün inkübe edildi.

Çizelge 4.1. de elde edilen bulgular aşağıdaki Çizelge 3.1’e göre değerlendirildi.

Çizelge 3.1. TSI Agar’daki Reaksiyonlar

YATIK AGARIN DİP KISMI	Sarı Renk Oluşumu	Glikoz kullanımı pozitif.
	Kırmızı Renk veya Renk Değişimi Yok	Glikoz kullanımı negatif.
	Siyah renk Oluşumu	Hidrojen sülfür oluşumu pozitif.
	Kabarcık ve Çatlaklar	Glikozdan gaz oluşumu var.
YATIK AGARIN YÜZEY KISMI	Sarı Renk Oluşumu	Laktoz ve \ veya sakkoroz kullanımı pozitif.
	Kırmızı Renk veya Renk Değişimi Yok	Laktoz ve sakkorozun her ikisinin de kullanımı negatif.

3.3.4.2. LİA Agar Testi Reaksiyonları

a) Seçilen şüpheli koloniler TSI Agar’a ekimde izlenen yolla LİA Agar’a ekilir. Pedriler 37°C’de 24 saat inkübe edildi.

b) İnkübasyon sonrasında besiyerindeki reaksiyonlar Çizelge 3.2.’ye göre değerlendirildi.

c) Bu çalışma sonucu elde edilen veriler Çizelge 4.1 ‘de verilmiştir.

Çizelge 3.2. LIA Agar'daki Reaksiyonlar

YATIK AGARIN DİP KISMI	Alkali (mor renk)	Bakteri lizini dekarboksile eder.
	Asit (sarı renk)	Bakteri asit oluşturur.
	Siyah renk Oluşumu	Bakteri hidrojen sülfür oluşturur.
	Kabarcık ve Çatlaklar	Bakteri glikozdan gaz oluşturur.
YATIK AGARIN YÜZEY KISMI	Alkali (mor renk)	Bakteri lizini dekarboksile eder.
	Kırmızı Renk	Bakterinin lizin deaminasyonu sonucu kırmızı renk oluşur.

3.3.4.3. Sitrat Testi

a) Bazı bakteriler karbon ve enerji kaynağı olarak sitratı kullanılabirler. Sitrat testinin amacı bir mikroorganizmanın metabolizması ve üremesi için tek karbon kaynağı olarak Sodyum Nitrat'ı kullanma yeteneğini belirlemektir. Tipik Salmonella kolonileri Sodyum Nitrat'ı kullanabilir (Çizelge 3.3.).

b) Sitrat testinde ilk basamak diğer testlerde olduğu gibi şüpheli kolonilerin seçimidir. Sitrat testi için karakteristik Simmon's Sitrat yatık Agar (Simmons Citrate Agar – Acumedia⁷¹⁵⁶) kullanılmıştır.

c) Nutrient Agar'dan seçilen üç şüpheli koloni Simmon's Sitrat Agar besiyerine öze ile sürme yapılarak 37°C'de 3 gün inkübe edildi. Orjinal rengi yeşil olan besiyerine inkübasyon süresi sonunda indikatör olarak % 0,2 Bromo timol mavisi eklendi. Besiyeri renginin maviye dönüşmesi ve ekim hattı boyunca üreme gözlenmesi pozitif sonuç olarak değerlendirildi.

3.3.4.4. Metil Red (MR) Testi

a) Bazı bakteriler ortamda bulunan glikozu kullanarak çeşitli organik asitleri oluştururlar ve sonuçta ortamın pH'sı düşer. Bu özellikten faydalanan bakterilerin glikozdan asit oluşturup oluşturmadığını belirleyebilmek amacı ile metil red testi yapılır.

b) Bu testte besiyeri olarak MR-VP Broth Acumedia⁷²³⁷, indikatör olarak metil red kullanılmıştır. Metil red indikatörü pH 6,2’de sarı, pH 4,2 ve altında ise kırmızı renk oluşturur.

c) Şüpheli koloniler MR-VP besiyeri üzerine öze ile inoküle edildi. Optimum sıcaklıkta 96 saat inkübe edildi. (Bu aşamada Voges Proskauer Testi içinde aynı besiyeri kullanılacağından MR-VP besiyerinden gerektiği kadar ayrılmıştır.) Besiyerinin üzerine birkaç damla metil kırmızısı ilave edilerek karıştırıldı. Belirgin bir kırmızı renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi.

3.3.4.5. Voges Proskauer Testi

a) Bakterilerden bazıları glikozu kullanarak asetoin, 2,3-bütillen glikol gibi çeşitli nötral ürünler oluştururlar. Bunlardan asetoin, ortama alkali bir madde eklendiğinde okside olarak diasetile dönüşür. Bu madde ise peptondaki kreatin, arjinin veya kreatinin ile birleşerek pembe-kırmızı bir renk oluşumuna neden olur. Bu renk pozitif sonucu gösterir.

b) İnoküle edilmiş MR-VP besiyeri üzerine 5ml %40’lık KOH ilave edilip karıştırıldı. Daha sonra 2-3 damla %6’lık α -neftol çözeltisi ve 2 damla %0,5’lik kreatin çözeltisi damlatılıp karıştırıldı. 15 dakika içinde renk oluşumuna bakıldı.

Sitrat, MR ve VP testinde elde edilen bulgular *Çizelge 3.3.’e* göre değerlendirildi.

Çizelge 3.3. Sitrat, MR ve VP Testlerinde Oluşan Reaksiyonlar.

TESTLER	Kullanılan Besiyeri	Renk Değişimi	Test Sonucu
Sitrat testi	Simmons Citrate Agar	Mavi renk	Pozitif
		Değişme yok	Negatif
MR Testi	MR-VP Besiyeri	Kırmızı	Pozitif
		Değişime yok	Negatif
VP Testi	VR-VP Besiyeri	Pembe-kırmızı	Pozitif
		Değişme yok	Negatif

4.BULGULAR

Çizelge 4.1. TSI Agar Tanı Testleri Sonuçları

KIYMA NUMUNELERİ	Zenginleştirici Besiyeri	Selektif Besi (SSA)Yerinde Üreyen Şüpheli Koloniler	Biyokimyasal Tanı Testleri		
			TSI Agar Reaksiyonları		
			Dip	Yüzey	H ₂ S
NUMUNE 1	RVB	Krem Renkli Koloni	Sarı	Kırmızı	Negatif
		Pembe Renkli Koloni	Sarı ve Gaz Oluşumu	Kırmızı	Negatif
	SCB	Krem Renkli Koloni	Sarı	Kırmızı	Negatif
		Pembe Renkli Koloni	Sarı ve Gaz Oluşumu	Kırmızı	Negatif
NUMUNE 2	RVB	Pembe Renkli Koloni	Sarı ve Gaz Oluşumu	Kırmızı	Negatif
	SCB	Pembe Renkli Koloni	Sarı ve Gaz Oluşumu	Kırmızı	Negatif
NUMUNE 3	RVB	Krem Renkli Koloni	Sarı	Kırmızı	Negatif
	SCB	Krem Renkli Koloni	Sarı	Kırmızı	Negatif
NUMUNE 4	RVB	Pembe Renkli Koloni	Sarı ve Gaz Oluşumu	Kırmızı	Negatif
		Krem Renkli Koloni	Sarı	Kırmızı	Negatif
	SCB	Pembe Renkli Koloni	Sarı ve Gaz Oluşumu	Kırmızı	Negatif
		Krem Renkli Koloni	Sarı	Kırmızı	Negatif
NUMUNE 5	SCB	Üreme olmadı			
	RVB	Üreme olmadı			
NUMUNE 6	RVB	Siyah Renkli Koloni	Sarı ve Gaz Oluşumu	Sarı	Negatif
	SCB	Siyah Renkli Koloni	Sarı ve Gaz Oluşumu	Sarı	Negatif

Çizelge 4.1. TSI Agar Tanı Testleri Sonuçları (Devamı)

NUMUNE 7	<i>RVB</i>	Siyah Renkli Koloni	Sarı ve Gaz Oluşumu	Sarı	Negatif
		Pembe Renkli Koloni	Sarı ve Gaz Oluşumu	Kırmızı	Negatif
		Krem Renkli Koloni	Sarı	Kırmızı	Negatif
	<i>SCB</i>	Siyah Renkli Koloni	Sarı ve Gaz Oluşumu	Sarı	Negatif
		Pembe Renkli Koloni	Sarı ve Gaz Oluşumu	Kırmızı	Negatif
		Krem Renkli Koloni	Sarı	Kırmızı	Negatif
NUMUNE 8	<i>RVB</i>	Siyah Renkli Koloni	Sarı ve Gaz Oluşumu	Sarı	Negatif
		Pembe Renkli Koloni	Sarı ve Gaz Oluşumu	Kırmızı	Negatif
	<i>SCB</i>	Siyah Renkli Koloni	Sarı ve Gaz Oluşumu	Sarı	Negatif
		Pembe Renkli Koloni	Sarı ve Gaz Oluşumu	Kırmızı	Negatif
NUMUNE 9	<i>RVB</i>	Üreme Olmadı			
	<i>SCB</i>	Üreme olmadı			
NUMUNE 10	<i>RVB</i>	Pembe Renkli Koloni	Sarı ve Gaz Oluşumu	Kırmızı	Negatif
	<i>SCB</i>	Pembe Renkli Koloni	Sarı ve Gaz Oluşumu	Kırmızı	Negatif

Çizelge 4.2. LIA Agar Tanı Testleri Sonuçları

KIYMA NUMUNELERİ	Zenginleştirici Besi Yeri	Selektif Besi (SSA)Yerinde Üreyen Şüpheli Koloniler	Biyokimyasal Tanı Testleri		
			LIA Agar Reaksiyonları		
			Dip	Yüzey	H ₂ S
NUMUNE 1	RVB	Krem Renkli Koloni	Sarı	Mor	Negatif
		Pembe Renkli Koloni	Sarı	Sarı	Negatif
	SCB	Krem Renkli Koloni	Sarı	Mor	Negatif
		Pembe Renkli Koloni	Sarı	Sarı	Negatif
NUMUNE 2	RVB	Pembe Renkli Koloni	Sarı	Sarı	Negatif
	SCB	Pembe Renkli Koloni	Sarı	Sarı	Negatif
NUMUNE 3	RVB	Krem Renkli Koloni	Sarı	Mor	Negatif
	SCB	Krem Renkli Koloni	Sarı	Mor	Negatif
NUMUNE 4	RVB	Pembe Renkli Koloni	Sarı	Sarı	Negatif
		Krem Renkli Koloni	Sarı	Mor	Negatif
	SCB	Pembe Renkli Koloni	Sarı	Sarı	Negatif
		Krem Renkli Koloni	Sarı	Mor	Negatif
NUMUNE 5	SCB	Üreme olmadı			
	RVB	Üreme olmadı			
NUMUNE 6	RVB	Siyah Renkli Koloni	Kırmızı	Mor	Negatif
	SCB	Siyah Renkli Koloni	Kırmızı	Mor	Negatif
NUMUNE 7	RVB	Pembe Renkli Koloni	Sarı	Sarı	Negatif
		Siyah Renkli Koloni	Kırmızı	Mor	Negatif
		Krem Renkli Koloni	Sarı	Mor	Negatif
	SCB	Pembe Renkli Koloni	Sarı	Sarı	Negatif
		Siyah Renkli Koloni	Kırmızı	Mor	Negatif

		Krem Renkli Koloni	Sarı	Mor	Negatif
NUMUNE 8	<i>RVB</i>	Siyah Renkli Koloni	Kırmızı	Mor	Negatif
		Pembe Renkli Koloni	Sarı	Sarı	Negatif
	<i>SCB</i>	Siyah Renkli Koloni	Kırmızı	Mor	Negatif
		Pembe Renkli Koloni	Sarı	Sarı	Negatif
NUMUNE 9	<i>RVB</i>	Üreme Olmadı			
	<i>SCB</i>	Üreme olmadı			
NUMUNE 10	<i>RVB</i>	Pembe Renkli Koloni	Sarı	Sarı	Negatif
	<i>SCB</i>	Pembe Renkli Koloni	Sarı	Sarı	Negatif

Çizelge 4.3. Sitrat, MR ve VP Testleri Sonuçları

KIYMA NUMUNELERİ	Zenginleştirici Besi Yeri	Şüpheli Koloniler	Biyokimyasal Test Sonuçları		
			<i>Sitrat Testi</i>	<i>MR Testi</i>	<i>VP Testi</i>
NUMUNE 1	RVB	Krem Renkli Koloni	Negatif	Pozitif	Negatif
		Pembe Renkli Koloni	Pozitif	Pozitif	Pozitif
	SCB	Krem Renkli Koloni	Negatif	Pozitif	Negatif
		Pembe Renkli Koloni	Pozitif	Pozitif	Pozitif
NUMUNE 2	RVB	Pembe Renkli Koloni	Pozitif	Pozitif	Pozitif
	SCB	Pembe Renkli Koloni	Pozitif	Pozitif	Pozitif
NUMUNE 3	RVB	Krem Renkli Koloni	Negatif	Pozitif	Negatif
	SCB	Krem Renkli Koloni	Negatif	Pozitif	Negatif
NUMUNE 4	RVB	Pembe Renkli Koloni	Pozitif	Pozitif	Pozitif
		Krem Renkli Koloni	Negatif	Pozitif	Negatif
	SCB	Pembe Renkli Koloni	Pozitif	Pozitif	Pozitif
		Krem Renkli Koloni	Negatif	Pozitif	Negatif
NUMUNE 5	SCB	Üreme olmadı			
	RVB	Üreme olmadı			
NUMUNE 6	RVB	Siyah Renkli Koloni	Negatif	Pozitif	Negatif
	SCB	Siyah Renkli Koloni	Negatif	Pozitif	Negatif
NUMUNE 7	RVB	Siyah Renkli Koloni	Negatif	Pozitif	Negatif
		Pembe Renkli Koloni	Pozitif	Pozitif	Pozitif
		Krem Renkli Koloni	Negatif	Pozitif	Negatif
	SCB	Siyah Renkli Koloni	Negatif	Pozitif	Negatif
		Pembe Renkli Koloni	Pozitif	Pozitif	Pozitif
		Krem Renkli Koloni	Negatif	Pozitif	Negatif
NUMUNE 8	RVB	Siyah Renkli Koloni	Negatif	Pozitif	Negatif
		Pembe Renkli Koloni	Pozitif	Pozitif	Pozitif
	SCB	Siyah Renkli Koloni	Negatif	Pozitif	Negatif
		Pembe Renkli Koloni	Pozitif	Pozitif	Pozitif
NUMUNE 9	RVB	Üreme Olmadı			

	SCB	Üreme olmadı			
NUMUNE 10	RVB	Pembe Renkli Koloni	Pozitif	Pozitif	Pozitif
	SCB	Pembe Renkli Koloni	Pozitif	Pozitif	Pozitif

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırmada Türk Standartları Enstitüsü'nün T.S 3446 nolu standardı metod olarak uygulanmıştır. Standarda uygun olarak, çalışmanın güvenilirliğini artırmak amacı ile selektif zenginleştirme işleminde RVB ve SCB olmak üzere iki farklı sıvı besiyeri kullanılmıştır. Selektif katı besiyeri olarak SSA kullanılmış ve biyokimyasal testler standartlara uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Literatürde biyokimyasal testlerin Salmonella varlığını ortaya koyacağı, serolojik testlerin ise doğrulama amacı ile kullanılabileceği belirtilmiştir. Bu sebeple öncelikle biyokimyasal teyit işlemleri yapılmıştır. Salmonella varlığı durumunda serolojik testleri uygulanması düşünülmüştür. Biyokimyasal testlerin güvenilirliğinin yeterli olması sebebiyle Salmonella dışındaki mikroorganizmalar için serolojik test yapılmamıştır.

Uygulanan biyokimyasal testlerde bakterilerin birçok özellikler esas alınmakla beraber prensip olarak Enterobacteriaceae üyelerine ait şu özellikler temel prensibi oluşturmuştur.

- Glikozu fermantasyon yolu ile metabolize etmeleri,
- Sitokrom Oksidaz aktivitesi göstermemeleri,
- Nitrat'I Nitrit'e indirgemeleri.

Salmonella karbonhidrat substratı üzerine etki ederek besiyerini asidik hale getirir. Kültür yerinde meydana gelen pH değişimi besiyerinde renk değişimine sebep olur. Bunun yanında özellikle bütirik asit gibi karışık asitlerin oluşması pis, sert bir kokuya neden olur. Bu koku Enterobacteriaceae üyelerine ait bakterileri karakterize eder.

Araştırmada kullanılan TSI Agar, glukozu fermente edemeyen bakterileri yüzeyde ve dip kısmında alkali reaksiyon vererek tespit eder. Bu asit üretimi olmadığını ortaya koyar.

Zenginleştirici besiyerine daha fazla inhibitör eklenmesi ile selektif katı besiyeri olan SSA elde edilmiştir. SSA, birçok koliform mikroorganizmanın üremesini inhibe etmek ve numuneden Salmonella ve Shigella türlerinin üremelerini sağlamak amacı ile formüle edilmiş oldukça seçici bir besiyeridir. İçeriğinde bulunan safra tuzlarının yüksek konsantrasyonu ve sodyum sitrat, tüm gram (+) bakterileri ve bazı gram (-) bakterileri inhibe eder. Laktoz tek karbonhidrat kaynağıdır. Nötral kırmızısı asit üretimini belirleyen bir indikatördür. Sodyum tiyosülfat bir sülfür kaynağıdır. SSA'nın yüksek seçicilik özelliği, önzenginleştirme ve zenginleştirme aşamalarında aşırı üremeden kaynaklanan yoğun inokulum kullanımına izin verir. Yukarıda ifade edilen özelliklerden dolayı çalışmaların genelinde SSA tercih edilir. SSA içeriği *Çizelge 5.1.*'de verilmiştir.

Çizelge 5.1. SSA içeriği

Sığır Eksrakı	5 g
Pepton	5 g
Laktoz	10 g
Safra tuzları	8,5 g
Sodyum sitrat	8,5 g
Sodyum tiyosülfat	8,5 g
Ferrik sitrat	1 g
Agar	12,5 g
Nötral kırmızısı	0,025 g
Briliant gren	0,033 g
Distile su	1 lt
Son Ph	7,4

*TS 3446

Önzenginleştirme, zenginleştirme ve selektif katı besiyerine ekim işlemlerinden sonra SSA besiyerinde farklı morfolojide koloniler elde edilmiştir (*Şekil 5.1. ve 5.2.*). Bu koloniler görünümlerine göre adlandırılacak ve biyokimyasal testler sırasında bu isimler kullanılacaktır. Koloniler siyah renkli, pembe renkli ve krem renkli olarak tanımlanmıştır. Bu koloniler renksiz Nutrient Agar'a saf ve tek koloniler şeklinde düşürülmüştür. Biyokimyasal testler yapılarak sonuçlar *Çizelge 4.1., 4.2. ve 4.3'*de toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 4.1., 4.2. ve 4.3'te verilen sonuçlar Çizelge 2.5. (tipik salmonella kolonilerinin biyokimyasal reaksiyonları), Çizelge 3.1. (TSI Agar'daki reaksiyonlar), Çizelge 3.2. (LIA Agar'daki reaksiyonlar), Çizelge 3.3. (Sitrata, MR, VP testi reaksiyonları)'e göre yorumlanmıştır. Tipik Salmonella ve diğer olası bakterilerin aynı besiyerlerinde verdikleri reaksiyonlar Çizelge 5.2. ve 5.3.'te verilmiştir. Teyit işlemlerinde çalışmanın sonuçları (Çizelge 4.1., 4.2. ve 4.3.), bu çizelge ile karşılaştırılacaktır.







Şekil 5.1. SSA Üzerindeki Şüpheli Kolonilerden Bazıları

Çizelge 5.2. Tipik Kolonilerin Gösterdikleri Biyokimyasal Reaksiyonlar
(TSI Agar ve LIA Agar)

Bakteriler	Tipik Kolonilerin Gösterdikleri Biyokimyasal Sonuçlar					
	TSI Agar Reaksiyonları			LIA Agar Reaksiyonları		
	Dip	Yüzey	H ₂ S	Dip	Yüzey	H ₂ S
<i>Salmonella</i>	Sarı ve gaz oluşumu	Kırmızı	Pozitif	Mor	Mor	Pozitif
<i>E. Coli</i>	sarı ve gaz oluşumu	Sarı	Negatif	Kırmızı veya değ. Yok	Mor	Negatif
<i>Shigella</i>	Sarı	Kırmızı veya değ. yok	Negatif	Sarı	Mor	Negatif
<i>Hafnia alvei</i>	Sarı ve gaz oluşumu	Kırmızı veya değ. yok	Negatif	Sarı	Sarı	Negatif

Çizelge 5.3. Tipik Kolonilerin Verdikleri Biyokimyasal Reaksiyonlar
(MR, VP ve Sitrat Testi)

Bakteriler	Sitrat testi	MR Testi	VP Testi
<i>Salmonella</i>	Pozitif	Negatif	Negatif
<i>E. Coli</i>	Negatif	Pozitif	Negatif
<i>Shigella</i>	Negatif	Pozitif	Negatif
<i>Hafnia alvei</i>	Pozitif	Pozitif	Pozitif

Biyokimyasal teyit işlemlerinden sonra şüpheli koloniler arasında *Salmonella*'ya rastlanmamıştır. 10 kıyma örneği üzerinde yapılan bu araştırmada elde edilen bu sonuç, daha önce Türkiye'nin farklı bölgelerinde rapor edilen çalışmalar ile çelişmemektedir.

Örneğin, “Erzurum piyasasında satılan kıyma örneklerinde *Salmonella* aranması” üzerine yapılan çalışmada 44 kıyma örneği içinde yalnızca 1 adet *Salmonella* izole edilmiştir. Yine yaz aylarında yapılan diğer bir çalışmada 10 kıyma örneğinde bir adet *Salmonella* izole edilmiştir (Halkman, A.K.; Doğan, B.H., 1990). Aynı kaynaklarda mevsimsel ısı farklılıklarının kıyma örneklerindeki *Salmonella* varlığı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Çalışmanın Kasım-Aralık aylarına tekamül etmesi etlerdeki *Salmonella* bulunmaması ile ilişkilendirilebilir.

Çizelge 3.2., 3.3. ve 3.4. ile Çizelge 4.1., 4.2. ve 4.3.'te verilen çizelgeler karşılaştırılarak siyah renkli kolonilerin *E.coli*, pembe renkli kolonilerin *Hafnia alvei* ve şeffaf krem renkli kolonilerinde *Shigella* olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak Gebze bölgesinde on farklı kasaptan alınan et örneklerinde hiç *Salmonella* tespit edilmemiş, üç numunede *E.coli* (Numune 6, 7, 8), dört numunede (Numune 1, 3, 4, 7) *Shigella* ve altı numunede (Numune 1, 2, 4, 7, 8, 10) *Hafnia alvei* tespit edilmiştir. İki numunede ise (Numune 5 ve 9) bakteriye rastlanmamıştır.

Et ve kıyma üretiminde ilk koşul yüksek kaliteli ve sağlıklı ham maddelerin kullanılmasıdır. Bu ham maddeler fiziksel, kimyasal ve özellikle mikrobiyolojik etkenlerin oluşturdukları bir seri biyokimyasal reaksiyonların sonucunda çabucak bozulup kokuşurlar. Et ve yağda ilk kontaminasyon daha hayvan kesilir kesilmez başlar. Şöyle ki; kesim hayvan temizlenmeden ve steril olmayan bıçakla yapıldığında, kesimden sonra bir süre daha çalışmasını sürdüren dolaşım sistemi aracılığı ile mikroorganizmalar hayvanın tüm vücuduna kolaylıkla yayılabilir.

Daha sonraki kontaminasyonlar sırasıyla yüzme, iç organların çıkarılması, parçalama, muhafaza, depolama, bizzat ürünlerine işlenirken ete uygulanan parçalama, kıyma ve ayrıca ürünün paketlenmesi, muhafazası, dağıtımı ve pazarlanması sırasında kullanılan sulardan kaynaklanabilir. Yine görevlilerin, usta ve işçilerin el ve giysilerinden ve hatta üretim yerinin atmosferi kontaminasyona sebep olabilir (Dinçer, 1985).

Numunelerde elde edilen sonuçlarda yukarıda sayılan kontaminasyon sebeplerinin rolünün olduğu düşünülmüştür.

Et ve et ürünlerinin ihtiva ettiği mikroorganizma sayısının azaltılması, kalitenin korunması ve ekonomik kayıpların önlenmesi için kesimhaneden başlamak üzere işletme prosesinin her safhasında hijyenik koşulların sağlanması ile mümkün olabilmektedir. Aksi taktirde hastalık etmeni patojen mikroorganizmaların bulaşması ile tüketici sağlığı açısından son derece tehlikeli sonuçlar ortaya çıkabilmektedir (Gökalp, 1994).

KAYNAKLAR

- 1) AKÇELİK, M., “Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları.” Ankara Üniv. Ziraat Fak. Ankara, 2000.
- 2) AKILLI, A., “Ankara’da Süper Marketlerde Satılan Hazır Kıymanın Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kaliteleri ile Tek Tırnaklı Hayvan Etleri Yönünden İncelenmesi Üzerine Araştırmalar.” Etlik Vet. Mik. Enst. Der. 5 p.125-128. Ankara, 1983
- 3) ALKIŞ, N. Gıda Mikrobiyolojisi. Yeni İnci Matbaacılık Sanayi, s: 174 Ankara, 1982
- 4) ALPERDEN, İ., “Et ve Süt Ürünleri Mikrobiyolojisi” Gıda Sanayinde Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Yay. No: 124. Tübitak – Marmara Araştırma Merkezi. Gebze, 1993
- 5) ANDREWS,, W.H., C.R. WILSON, P.L.POELMA. Glucuronidase Assay in a Rapid MPN Determination for Recovery of E. coli from Selected Foods. J. Assoc Off Anal Chem, 1987.
- 6) ANONYMOUS. “Mikrobiyoloji-Salmonella Aranmasında Genel Kurallar.” Türk Standartları Enstitüsü TS 7438 Ankara, 1989.
- 7) BAUMGART, J. Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. Behr’s Verlag Hamburg, 1990.
- 8) BEKA, H., “Antibiyotiklerin Subminal İnhibitör Konsantrasyonlarının Bakterilerin İnce Yapı, Morfoloji ve Konakçı Savunma Mekanizmalarına Duyarlılık Üzerine etkisi.” Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji A.B.D. İstanbul. 1991.
- 9) BEKAR, M. Salmonella. “ Genel Karakterleri ve Tanı Yöntemleri.” Salmonella Semineri Notları. Etlik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü. s: 27 Ankara, 1990
- 10) BİLGEHAN, H., Klinik Mikrobiyoloji Ankara, 1992
- 11) CİNGİLİ, H., “İzmit Körfezindeki Deniz Kirlenmesine Sebep Olan E. coli Varlığı ve Körfezden İzole Edilen E. Coli’lerde R Plazmidine Bağlı Bulaşıcı Tipte Antibiyotik Direnç Özelliğinin Aranması.” Yüksek Lisans Tezi, Gebze, 1997.

- 12) DİNÇER, B., Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Gıda Bilim ve Teknoloji Anabilim Dalı, Kükem Dergisi, Journal of Kükem. Cilt: 8, sayı:2, s:134-135, eylül, Ankara, 1985.
- 13) FRAZİER, S.J., HAYES, P.R., "Food Microbiology, 3rd Ed. McGraw Hill Book Comp .Inc. p: 77-100, New York, 1978.
- 14) FORSYTHE, S.j., HAYES, P.r., "Food Hygiene, Microbiology and HACCP." Aspen Publishers, Gaithersburg. 1998.
- 15) FRİCKER,R. Isolation of Salmonellae and Campylobacters. J App Bact 63(3)99-116 1987.
- 16) GAMAN, P.M., SHERRİNGTON, K.B., Food Poisoning and Its Prevention. "The Science of Food." S: 199-246. Pergaman Press, 1981-1996
- 17) GEDİKOĞLU, S:, "Klinik Mikrobiyoloji." Nobel Tıp Kitabevleri. S: 91-93. Bursa, 1994
- 18) GÖKTAN, D. "Gıdaların Mikrobiyel Ekolojisi." Cilt:1 Etr Mikrobiyolojisi. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları no: 21 . Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 1990.
- 19) GÖKTAN,D., G. TUNCEL. "Gıdalarda Salmonella İzolasyonunda Son Çalışmalar." Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Seri B Gıda Mühendisliği 5(1)115-123 İzmir, 1989
- 20) HALKUN, A.K., DOĞAN, H.B., "Salmonella ile E.Coli Aranması ve Sayılması Yöntemlerinin Karşılaştırılması." Ankara Üniv. Araştırma Fonu Projesi no: 92-11-12-01. Gıda Teknolojileri Derneği Yay. No: 21. Ankara, 1994.
- 21) HARRİGAN, W.F., "Laboratory Methods in Food Microbiology." Acedemic Pess, San Diego, 1998.
- 22) HOFSTRA, H., J. H.J.HUISINN'T VELD.Methods for the Detection and Isolation of E. coli Including Pathogenic Strains. J Appl Bact Sym Suppl 197-212 , 1988.
- 23) HUGHES, D., P. S. SUTHERLAND, G.KELLEY, G.R. DAWEY. Comparison of the TECRATM Salmonella Visual Immunology and Standart Cultural Methods for the Detection of Salmonellae in Foods. Food Tech in Australia 39(9)446-454 1987.
- 24) İNAL, T., "Besin Hijyeni ve Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü." İstanbul, 1992.

- 25) JABLONSKI, L.M., BOHACH, G.A., Staphylococcus aureus. "Food Microbiology, Fundamentals and Frontiers" s: 353-375. ASM Prss, Washington, 1997.
- 26) KARAKUŞ, M., "Gıdalarda Mikrobiyal Gelişmeyi Etkileyen Faktörler. Gıda Sanayinde Mikrobiyoloji ve Uygulamaları" Yay. No: 124. Tübitak-Marmara Araştırma Merkezi, Gebze, 1993.
- 27) KARAPINAR, M., "Gıdaların Mikrobiyolojik Kontrolü" Ege Üniversitesi Meslek Yüksek Okulu Yayınları. Yay. No: 6 Bornova, İzmir, 1990.
- 28) KÖSE, S. "Investigation into Toxins and Pathogens İmplacetad in Fish Meal Production." Doktora Tezi. Lughboroygh University of Technology, Loughborough, UK,1993
- 29) MATES, A., "Microbiological survey of frozen ground meat and a proposed standart." J.Food. Prot: 42:712 – 714. 1983
- 30) MCCLANE, B:A:, Calstridium perfingens, "Food Microbiology Fundamentals and Frontiers" s: 305-326 ASM Press, Washington, 1997.
- 31) ÖNEN, M., 1. Gıda Teknolojileri Seminer Sunuları. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. Yay. No: 389 İzmir, 1990.
- 32) POUMEYROL, M.,BİLLON, J., TheGenus Clastridium and Sulfitereducing Anaerobes. "Microbiological Control for Foods and Africultural Products." S: 347-360 VHC Publishers, New York, 1995.
- 33) SARIGÖL, C., "Elazığ'da Tüketilen Kıymalarda Clastridium ve Enterobacteriaceae Grubu Mikroorganizmaların Varlığı Üzerine Araştırmalar." Fırat Üniversitesi Vet. Fak. Der. 7 (1-2): 179-186. Elazığ, 1982.
- 34) ŞİMŞEK, E., "Klinik Mikrobiyolji ve İmmunoloji." Metay Medikal Yay. Ltd. Şti. İzmir, 1993
- 35) TUNAİL, N., Gıda mikrobiyolojisi II Ders Notları. A.Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü.Ankara, 1994.
- 36) Türk Gıda kodeksi, Taze Et, Hazırlanmış Et Karışımları Tebliği. Tebliğ No: 2000\5, 10.02.2000\23960. Madde 18.
- 37) TÜRK STANDARTLARI ENSTİTÜSÜ, Et ve Et Ürünlerinde Salmonella Aranması, T.S. 3446 \ Kasım 1979.
- 38) VAR, I. "Yumurtalarda Salmonella Enfeksiyonu ve Isıl İşlemin Salmonella Üzerine Etkisi." Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. Adana, 1993

- 39)** WINSLOW, R.L., "Microbial Control of Meat Retailers Approach." J. Food Prot: 45: 1169-1172. 1982
- 40)** WEISER, H.H., MOUNTNEY, G.J., GOULD, W.W.A., Practical Food Microbiology and Technology 2nd. Ed. The Avi. Pub. Comp. N^oinc. P: 224-242 Westport, Conncticut, 1971
- 41)** YOUSSEF, H., HEFNAWY, Y., AHMET, S.H., "Bacteriologische Bewertung Von Rohem Hackfleisch in der Stadt Assuit." 64: 620-621. Fleischwirtschaft, 1984

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Sinop ili Boyabat ilçesinde doğdu. İlk,orta ve lise öğrenimini aynı ilçede tamamladı. 1995 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne girdi. 1999 yılında Biyolog olarak mezun oldu. 2000 yılında Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Şu anda eğitim sektöründe çalışmaktadır.