

Ankara Piyasasında Satışa Sunulan Tavuk Etlerinde *Yersinia enterocolitica* ve *Escherichia coli* O157 Varlığının Araştırılması

Birce Mercanoğlu, Sait Aykut Aytaç*

Hacettepe Üniversitesi, Müh. Fakültesi, Gıda Müh. Bölümü, Beytepe, Ankara
* aytac@hacettepe.edu.tr

Özet

İşletmelerde kesim esnasında yeterli hijyenik koşulların sağlanamadığı ve personel hijyenine dikkat edilmediği şartlarda tavuk etleri, mikroorganizmaların ve özellikle patojen bakterilerin gelişmesi açısından uygun bir ortam oluşturmaktadır. Tüketim aşamasında ise yetersiz ısı işlem uygulamaları sonucu ölümlerle sonuçlanabilecek gıda kaynaklı hastalıklar meydana gelmektedir. Bu nedenle yapılan çalışmada, Ankara'da satışa sunulan tavuk etlerinde gıda kaynaklı hastalık oluşturan iki patojen bakteri aranmıştır. Bu amaçla farklı marketlerden 8 aylık bir süreçte alınan toplam 57 adet tavuk eti örneği, klasik kültürel yöntem kullanılarak *Yersinia enterocolitica* ve klasik kültürel yöntem ile birlikte immunomanyetik ayırma (İMA) yöntemi kullanılarak *Escherichia coli* O157 (VTEC) varlığı açısından değerlendirmeye alınmıştır. Analize alınan 57 adet tavuk eti örneğinin 2 tanesi (% 3.5), *Y. enterocolitica* açısından pozitif olarak belirlenmiştir. Aynı örneklerle yapılan *E. coli* O157 analiz sonuçlarına göre ise; klasik kültürel yöntem kullanıldığında 1 adet (% 1.8), İMA yöntemi kullanıldığında ise 2 adet (% 3.5) ömekte *E. coli* O157 saptanmıştır. Sonuç olarak; tavuk etlerinde *Y. enterocolitica* ve *E. coli* O157 varlığına rastlanması, üretim ve satış aşamalarında gerekli hijyenik önlemlerin alınmadığını göstermekte ve bu noktalarda hijyenik kalitenin yükseltilmesi ve dolayısıyla tavuk etlerinin insan sağlığı açısından risk oluşturmasının önüne geçileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* O157, klasik kültürel yöntem, immunomanyetik ayırma (İMA).

Giriş

Yersinia enterocolitica insanlarda gastroenteritidis şeklinde seyreden yersiniozis (1), *Escherichia coli* O157 (VTEC) ise kanamalı kolit, hemolitik üremik sendrom (HUS) ve trombotik trombotoponik purpura (TTP) gibi ölümlerle sonuçlanabilecek çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasında önemli etken olmaktadır. Bu patojenler açısından risk taşıyan gıda gruplarının başında hazır yemekler, et ve et ürünleri, süt ve süt ürünleri, marul gibi çeşitli sebzeler ve şehir şebeke suları gelmektedir. Bu patojenlerin tavuk etlerini kontamine

Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu

etme sıklığı üzerinde fazla şey bilinmemesinin nedeni, bu konuda çok az enfeksiyon vakasının rapor edilmiş olması olarak gösterilmektedir. Ancak 2002 yılında İspanya'nın Leon kentindeki marketlerden toplanan tavuk eti örneklerinin % 55'inde *Y. enterocolitica* varlığının saptanması (1) ve 1987 yılında Amerika ve Kanada'da tavuk eti tüketimi sonrası gözlenen *E. coli* O157 vakaları sonucu (2, 3), tavuk etleri de bu patojenler açısından risk taşıyan gıda grupları arasında yer almıştır.

İmmunomanyetik ayırma (İMA) yöntemi ise, karışık ve yoğun mikroflora içeren bir gıda örneğinden hedeflenen mikroorganizmayı yakalayabilen ve daha ileriki testlerde kullanılmak üzere küçük hacimlere yoğunlaştırabilen, homojen mikroküreciklerin hedef mikroorganizma hücrelerini tutabilmeleri ilkesine dayanmaktadır. Bu mikrokürecikler kendilerini süperparamanyetik hale getiren, demir oksit taneciklerinden oluşmaktadır. Bu özellik, bir dış manyetik alan olmadığında, mikroküreciklerin birbirlerini çekmeyerek başlangıçta homojen bir karışım içinde bulunmalarını ancak manyetik ayırıcı ile bu karışımdan tuttukları hedef mikroorganizma ile ayrılabilmelerini sağlamaktadır (4).

Bu çalışmada klasik kültürel yöntemler ile birlikte kimi zaman İMA yöntemi kullanılarak, Ankara piyasasında satışa sunulan tavuk etlerinde *Y. enterocolitica* ve *E. coli* O157 varlığı araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Gıda Örnekleri: Çalışmada kullanılan 57 adet tavuk eti örneği, Kasım 2001-Temmuz 2002 döneminde Ankara'daki farklı marketlerden 8 aylık bir süreçte toplanmıştır.

İmmunomanyetik Ayırma (İMA) Yöntemi Deney Düzenegi: Çalışmada Dynal® (Oslo, Norveç) firmasından sağlanan İMA yöntemi deney düzenegi kullanılmıştır. Bu düzenek; örnek karıştırıcı (Dynal® MX3 sample mixer), manyetik tutucu ve bu tutucunun manyetik çubuğundan (Dynal MPC®-M rack) oluşmaktadır. Ayrıca yüzeyleri *E. coli* O157 yakalayabilecek özellikte saflaştırılmış antikolar ile kaplanmış Dynabeads® anti-E. coli O157 partikülleri kullanılmıştır.

Klasik Kültürel Yöntemler: *Y. enterocolitica* analizi için 57 adet tavuk eti örneğinin herbirinden 10 g alınarak, 90 mL *Yersinia* Selective Enrichment Broth (Oxoid) içeren filtreli steril Stomacher torbalarına aktararak Stomacher aygıtında (Stomacher Seeward 400, İngiltere) homojenize hale getirilmiştir. Örnekler, seçici zenginleştirme amacı ile, 30 °C'de 24 saat inkübasyonun ardından CIN (Cefsulodin Irganan Novobiocin) Agar (Merck) besiyerine ekilmiş ve 30 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

E. coli O157 analizi için aynı örneklerden 25 g alınarak 225 mL mTS (modified Tryptic Soy)+novobiocin Broth (Merck) içeren Stomacher torbalarına aktarılarak yukarıda belirtilen şekilde homojenize edilmiştir. Örnekler, seçici zenginleştirme amacı ile, 37 °C'de 18-24 saat inkübe edilmiş ve sonrasında CT-SMAC (Cefixime Telurite-Sorbitol MacConkey) Agar (Merck) besiyerine ekilerek 37 °C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İMA Yöntemi: İMA yöntemine göre, mTS+novobiocin Broth (Merck) kültürlerinden 1'er mL alınarak, steril Eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Üzerlerine 20'şer µL Dynabeads® anti-*E. coli* O157 süspansiyonu eklenerek oda sıcaklığında 10 dakika süre ile örnek karıştırıcısında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda manyetik çubuk, Eppendorf tüplerini taşıyan manyetik tutucuya yerleştirilerek, tüpler 3 dakika da elde karıştırılmışlardır. Ardından tüplerdeki süpernatantlar uzaklaştırılmış ve 1 mL İMA yıkama çözeltisi eklenerek bu işlem iki kez tekrarlanmıştır. Son yıkamanın ardından *E. coli* O157+anti-*E. coli* O157 komplekslerinin üzerine, 0.1 mL İMA yıkama çözeltisi eklenerek karıştırılmış ve bu süspansiyon CT-SMAC Agar seçici katı besiyerine inoküle edilerek 37 °C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmışlardır.

Biyokimyasal Testler: İnkübasyonlar sonunda şüpheli *Y. enterocolitica* ve *E. coli* O157 kolonilerinin tanımlanması ve doğrulanması amacı ile bazı biyokimyasal testler [indol, metil kırmızısı, Voges-Proskauer sitrat ve üre testleri, TSI (Triple Sugar Iron) Agar'da (Merck) asit, gaz ve H₂S oluşumunun incelenmesi, lateks aglütinasyon testi, Fluorocult Lauryl Sulphate Tryptose Broth (Merck) besiyerinde floresans oluşumunun incelenmesi ve API 10S (bioMérieux) yapılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Çalışmada, 57 adet tavuk eti örneğinin 2 tanesi (% 3.5), klasik kültürel yöntem kullanılarak, *Y. enterocolitica* açısından pozitif olarak belirlenmiştir. Aynı örneklerle yapılan *E. coli* O157 analiz sonuçlarına göre ise; klasik kültürel yöntem kullanıldığında 1 adet (% 1.8), İMA yöntemi kullanıldığında ise 2 adet (% 3.5) ömekte *E. coli* O157 saptanmıştır. Çalışmamızda tavuk eti örneklerinde bu patojenlerin saptanmış olması tavuk etlerinin kesim esnasındaki hijyenik yetersizliğine işaret etmektedir. Nitekim diğer çalışmalarımızda da beyaz peynirler, pastörize sütler (12) ve sosislerde (13) *Y. enterocolitica* varlığı belirlenmiştir. 2002 yılında İspanya'nın Leon kentindeki marketlerden rastgele alınan 40 adet tavuk karkasının 22 tanesinin *Y. enterocolitica* ile kontamine olduğu saptanmıştır (1). 1987 yılında yapılan iki farklı çalışmada da, Wisconsin Alberta ve Kanada'daki tavuk etlerinde *E. coli* O157 varlığı saptanmıştır (2, 3). Çalışmamızda, ayrıca, İMA yöntemi ile klasik kültürel yöntemle oranla daha kısa bir zamanda daha hassas bir analiz

Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu

gerçekleştirilebileceği gösterilmiştir. Bu iki patojenin neden olduğu gıda kaynaklı hastalıkları önleyebilme olasılığını arttırmak için, bu patojenin gıdalardan izolasyonunda klasik kültürel yöntemlerle beraber İMA gibi hızlı ve hassas yöntemlerin de kullanılması uygun görülmektedir.

Sonuç

Sonuç olarak; tavuk etlerinde *Y. enterocolitica* ve *E. coli* O157 varlığına rastlanması, üretim ve satış aşamalarında gerekli hijyenik önlemlerin alınmadığını göstermekte ve bu noktalarda hijyenik kalitenin yükseltilmesi, özellikle işletmelerde kesim sonrası kontaminasyonun engellenmesi ve personel hijyenine dikkat edilmesi, tüketicilerin yeterli ısıl işlem uygulaması sonucu bu gıdaları tüketmeleri gerektiği bilincinin yerleştirilmesi dolayısıyla da tavuk etlerinin insan sağlığı açısından risk oluşturmasının önüne geçileceği düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Capita R, Alonso-Calleja C, Prieto M, del Camino Garcia-Fernandez M, Moreno B. 2002. Incidence and pathogenity of *Yersinia* spp. isolates from poultry in Spain. Food Microbiol, 19: 295-301.
2. Doyle MP, Schoeni JL. 1987. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. Appl Environ Microbiol, 53: 2394-2396.
3. Carter AO, Borczyk AA, Carlson JA, Harvey B, Hockin JC, Karmali MA, Krishnan C, Korn DA, Lior H. 1987. A severe outbreak of *Escherichia coli* O157:H7-associated hemorrhagic colitis in a nursing home. N Engl J Med, 317: 1496-1500.
4. Safarik I, Safarikova M. 1999. Review: Use of magnetic techniques for the isolation of cells. J Chroma B. 722: 33-53.
5. Aytac SA, Özbaş ZY. 1992. Beyaz peynirlerden ve pastörize sütlerden *Yersinia enterocolitica* izolasyonu ve tanımlanması üzerine araştırmalar. Gıda. 17:1: 47-52.
6. Aytac SA, Özbaş ZY, Vural H. 1992. Sosislerde *Yersinia enterocolitica* izolasyonu, tanımlanması ve patojenitelerinin belirlenmesi üzerine araştırmalar. Gıda. 19:6: 417-421.